

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

“PRESENCIA DE *Sarcocystis* spp. EN OVINOS (*Ovis aries*) DE URUGUAY”

“por”

**Br. GOYEN LAGUNA, Angelina Salomé
Br. MORENO MARTINEZ, Eliana María*
Br. SANTANA MONTERO, María Paula**

**TESIS DE GRADO presentada como
uno de los requisitos para obtener el
título de Doctor en Ciencias Veterinarias**

Orientación:

- **Higiene, Inspección y Tecnología
de los Alimentos de Origen Animal**
- *** Orientado Medicina Veterinaria**

MODALIDAD: ENSAYO EXPERIMENTAL

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2018**

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de Grado aprobado por:

Presidente de Mesa:

Segundo Miembro:

Tercer Miembro:

Fecha: 4 de Mayo de 2018

Autores:

GOYEN LAGUNA, Angelina Salomé

MORENO MARTINEZ, Eliana María

SANTANA MONTERO, María Paula

AGRADECIMIENTOS:

A nuestra tutora Dra. María Soledad Valledor que incondicionalmente estuvo siempre apoyándonos e impulsándonos a crecer académicamente, por su actitud positiva, por ayudarnos a nunca bajar los brazos para que esto saliera de la mejor manera.

A la Facultad de Veterinaria, Universidad de la República y a todos los docentes, funcionarios que hicieron posible nuestra formación profesional.

A las funcionarias de Biblioteca por la disposición, colaboración, y tiempo en la búsqueda de materiales y corrección de la bibliografía.

Al frigorífico NIREA por habernos permitido ingresar a dicho establecimiento siempre que se le solicito, la amabilidad y la buena disposición.

A la Dra. y amiga Laureana de Brun por brindarnos ayuda con los materiales de laboratorio.

A la Dra. Laura Decia por su tiempo, amabilidad y el apoyo que nos brindó cada vez que lo necesitamos.

A la Dra. Virginia Araoz y a INIA- La Estanzuela, Colonia por habernos ayudado en la tinción de hematoxilina- Eosina.

Al Lic. Oscar Castro por su colaboración y su buena disposición, así como su fundamental aporte académico.

A Amparo Rigali por su colaboración en las traducciones.

A nuestras familias que fueron el pilar fundamental a lo largo de toda la carrera y que sin ellos esto no hubiera sido posible.

A nuestros amigos que nos acompañaron y apoyaron en todo momento.

A nuestros compañeros de facultad con los que compartimos conocimientos y experiencias únicas.

| TABLA DE CONTENIDO | Página |
|---|---------------|
| PÁGINA DE APROBACIÓN | 2 |
| AGRADECIMIENTOS | 3 |
| LISTA DE FIGURAS Y CUADROS | 5 |
| ABREVIATURAS | 6 |
| RESUMEN | 7 |
| SUMMARY | 8 |
| INTRODUCCIÓN | 9 |
| a) Características generales de Uruguay | 9 |
| REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA | 12 |
| a) Producción ovina | 15 |
| b) Sarcocistosis y sus generalidades | 16 |
| c) Importancia de la sarcocistosis en los ovinos | 17 |
| d) Epidemiología y patogenia | 18 |
| e) Antecedentes de <i>Sarcocystis</i> spp. en la región y en el mundo | 20 |
| f) Técnicas de diagnóstico | 21 |
| g) Respuesta inmune para <i>Sarcocystis</i> spp. | 22 |
| h) Control | 23 |
| HIPÓTESIS | 23 |
| OBJETIVOS | 23 |
| MATERIALES Y MÉTODOS | 23 |
| a) Localización | 24 |
| b) Toma de muestras | 24 |
| c) Procesamiento en el laboratorio | 25 |
| d) Coloración de contraste Azul de metileno | 27 |
| e) Tinción hematoxilina- eosina | 27 |
| f) Tinción Giemsa | 28 |
| g) Registros de datos | 28 |
| h) Análisis estadístico | 29 |
| RESULTADOS | 34 |
| DISCUSIÓN | 36 |
| CONCLUSIONES | 37 |
| BIBLIOGRAFÍA | 41 |
| ANEXOS. | 41 |

| LISTA DE FIGURAS Y CUADROS | Página |
|--|---------------|
| FIGURAS: | |
| Figura I: Distribución de ovinos. | 10 |
| Figura II: Distribución de ovinos en regiones agropecuarias en los años 1990, 2000 y 2011. | 13 |
| Figura III: Distribución de ovinos en los distintos Departamentos. | 13 |
| Figura IV: Distribución de razas ovinas en Uruguay. | 14 |
| Figura V: Distribución anual de faena ovina. | 15 |
| Figura VI: Ciclo Biológico de <i>Sarcocystis</i> spp. | 18 |
| Figura VII: Esófagos ovinos con presencia de lesiones macroscópicas, muestras en planta frigorífica. | 24 |
| Figura VIII: Disecciones de macroquistes con coloración de Azul de Metileno. | 25 |
| Figura IX: Quistes con coloración de Azul de Metileno. | 26 |
| Figura X: Tinción con Hematoxilina y Eosina de macroquistes. | 27 |
| Figura XI: Categorías de los animales de los esófagos examinados | 29 |
| Figura XII: Prevalencia de esófagos con lesiones compatibles con <i>Sarcocystis</i> spp. en playa de faena. | 30 |
| Figura XIII: Longitud de los esófagos positivos a <i>Sarcocystis</i> spp. | 31 |
| Figura XIV: Número de lesiones quísticas encontradas por esófagos. | 32 |
| Figura XV: Presencia de macroquistes según su ubicación en cada tercio de esófago. | 32 |
| Figura XVI: Tamaño de los quistes en μ . | 33 |
| Figura XVII: Tinción con Hematoxilina y Eosina de macroquistes y observación de bradizoitos. | 34 |

ABREVIATURAS:

°C: grados Celsius

HD: Huésped definitivo

HI: Huésped intermediario

kg: Kilogramos

há: Hectárea

μ: micras

mm: Milímetros

cm: Centímetros

Acs: Anticuerpos

Th1: T helper 1

NK: Natural Killer

PRRs: Receptores con patrones de reconocimiento

PAMPs: Patrones Moleculares Asociados a Patógenos

RESUMEN

La Sarcocistosis es causada por *Sarcocystis* spp. Este género está representado por más de 130 especies y en rumiantes afecta el músculo estriado. En la Sarcocistosis se forman quistes en los músculos de varios huéspedes intermediarios (hombres, caballos, bovinos, ovejas, cabras, cerdos, aves, roedores, camélidos, animales de vida silvestre y reptiles). El tamaño de los quistes puede ir desde pocos micrómetros a varios centímetros, encontrándose con mayor frecuencia en esófago, diafragma y músculo cardíaco. En ovinos han sido diagnosticadas cuatro especies de *Sarcocystis*: *S. gigantea*, *S. medusiformis*, *S. tenella* y *S. arieticanis*. El objetivo del presente estudio fue comprobar la presencia de *Sarcocystis* spp. en lesiones quísticas esofágicas observadas en ovinos faenados, revisando un total de 3907 muestras. Los cuales fueron identificados, estudiados y registrados individualmente, detallando el número, ubicación y tamaño en cada muestra. Las muestras fueron trasladadas refrigeradas y luego procesadas en el Laboratorio de Parasitología de Facultad de Veterinaria, UdelaR. Se midió la longitud de cada esófago, se dividieron en tercios y se contaron la cantidad de quistes que presentaba cada tercio, registrando los datos en una planilla. La totalidad de los esófagos con presencia de macroquistes (151) fueron congelados de forma individual a una temperatura de -20 grados Celsius (°C), a 25 muestras se les extrajo unos 10 quistes antes de ser congelados y se fijaron en formol al 10%. Se descongelaron y se les extrajo por medio de disección los macroquistes de los diferentes tercios, los que fueron puestos entre dos portaobjetos y coloreados con azul de metileno para favorecer el contraste y examinados al microscopio óptico a efectos de poder medirlos de manera individual. Los quistes conservados en formol fueron procesados histológicamente mediante la tinción con Hematoxilina y Eosina a fin de poner de manifiesto las estructuras internas de los mismos para llegar a su diagnóstico definitivo. Como resultado 151 de los esófagos estudiados fueron positivos a *Sarcocystis* spp (3,86%), en los que se observaron quistes de gran tamaño (1,1cm x0,4mm) y otros más pequeños (0,2mm x 0,1mm). Se concluye que, de acuerdo a la ubicación y las características morfológicas, la especie involucrada podría ser *Sarcocystis gigantea*. Los macroquistes de mayores tamaños fueron encontrados en categorías de animales adultos a diferencia de ser los corderos que los esófagos no presentaban lesiones

SUMMARY

Sarcocystosis caused by *Sarcocystis* spp shows more than 130 species, it affects the striated muscle of ruminants. *Sarcocystis* spp creates cysts in the muscles of several intermediary hosts (men, horses, cattle, sheep, goats, pigs, birds, rodents, camelids, wild animals and reptiles). The size of the cysts range from a few micrometers to several centimeters, and they are found more frequently in esophagus, diaphragm, and cardiac muscle. Four species of *Sarcocystis* spp., (*S. gigantea*, *S. medusiformis*, *S. tenella* y *S. arietcanis*) have been diagnosed in sheep. The present experimental trial was developed at Veterinary School, Parasitology department. The objective of this experiment was to prove the presence of *Sarcocystis* spp. in esophageal cyst lesions that were observed in slaughtered sheep, reviewing a total of 3907 samples, which were identified, studied and individually registered, detailing the number, location and size in each sample. The samples were refrigerated, transferred and then processed in the Parasitology Laboratory. The sizes of the esophagi were measured, they were divided into thirds and the amount of cysts that each third presented was counted and registered the data in a spreadsheet. The totality of esophagi with presence of macrocysts (151) were frozen individually with a temperature of -20°C, about 10 cysts were removed from 26 samples before being frozen and they were fixed in 10% formalin. They were individually thawed and the cysts were extracted from the different thirds by means of dissection, which were placed between two slides and colored with blue methylene to favor the contrast and they were examined under the optical microscope in order to measure them individually. The cysts preserved in formaldehyde were processed histologically by staining with Hematoxylin and Eosin in order to reveal the internal structures to reach an assertive diagnosis. The results obtained were 151 (3.86%) were positive to *Sarcocystis* spp., cysts of a large size (1,1cm x 0,4mm), and other smaller ones (0,2mm x 0,1mm). It is concluded that according to the location and the morphologic features, the presence of *S. gigantea* would be suspected. The largest cysts were found in categories of adult animals, unlike lambs, with no esophagus injuries.

INTRODUCCIÓN

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE URUGUAY

Uruguay se encuentra ubicado en América del Sur, limitando al Norte con la República Federativa de Brasil, al Oeste con la República Argentina, al Sur con el Río de la Plata y al Este con el Océano Atlántico, ubicada entre el paralelo 30° y 35° de latitud sur y los meridianos 53° y 58° de longitud oeste. Su posición privilegiada en el Cono Sur del continente es muy estratégica pues le permite una política de integración regional (Valledor, 2011).

El país tiene una temperatura media de 17.5 °C y una humedad relativa que alcanza al 70 a 75%, con promedios mensuales máximos para el mes de julio de 80 % y mínimos de 65% en el mes de enero (INUMET., 2018). La precipitación anual acumulada es de 1400 milímetros (mm) en el norte del país y 1100 mm en el sur (Castells y col., 2013), promedialmente se ubican en el orden de los 1200 mm (INUMET., 2018), con distribución mensual, aunque en verano presenta mayor evapotranspiración con respecto a la precipitación dando así un déficit hídrico. A pesar de los datos estadísticos antes mencionados, lo más relevante del clima Uruguayo, es la gran variabilidad interanual que existe (Castells y col., 2013).

El relieve Uruguayo presenta llanuras moderadas, con una altitud promedio de 200 metros sobre el nivel del mar siendo el Cerro Cathedral el pico más alto con 514 metros, geológicamente tiene seis regiones bien diferenciadas, basalto en el norte, cristalino en el centro-sur, sierras y llanuras del este, areniscas del noreste y suelos profundos del oeste y sur; siendo basalto y cristalino las más importantes en extensión y uso ganadero (Castells y col., 2013).

Sus recursos naturales, la topografía, las pasturas y su clima templado, son lo que históricamente ha beneficiado la producción ganadera extensiva con respecto a los sistemas pastoriles (Castells y col., 2013), aunque en la actualidad se ha generado una intensificación de la producción pecuaria, lo que desde el punto de vista sanitario podría considerarse como una desventaja (Gaudín y col., 2017).

El total del área productiva del Uruguay es aproximadamente 16.3 millones de hectáreas (há), con 51.097 establecimientos productivos, de los cuales el 80% son especializados en ganadería según información estadística obtenida del Ministerio de Ganadería Agricultura Pesca (MGAP), actualizada al año 2017 (DIEA, 2017). Mayoritariamente las especies forrajeras son estivales, lo que hace que las primeras heladas que se producen sean fatales para la continuación del ciclo natural de dichas pasturas, generando el cese de su productividad (Giménez y col., 2009). Esto refleja que a pesar del auge que tuvieron la agricultura y la forestación en los últimos años, la ganadería sigue ocupando la mayor parte del área productiva a nivel país (DIEA, 2017). Por lo tanto, la producción ganadera es una de las actividades económicas más importantes de las que se desarrollan en nuestro país, los productos agropecuarios en la actualidad ocupan un 76,6% de las exportaciones, representando los productos ganaderos un 38,9% de las mismas. Los sistemas de producción se caracterizan por ser mixtos, donde se desarrolla la mayor parte del año el pastoreo conjunto de bovinos y ovinos (DIEA, 2017).

Los indicadores basados en la Declaración Jurada Anual del año 2017 registran 11.732.201 cabezas de bovinos, 6.561.491 de ovinos y otras especies (yeguarizos, suinos y caprinos) con 559.118 (DICOSE, 2017) , en los últimos años, se observa que las existencias bovinas se han mantenido relativamente constantes, sin embargo el rubro ovino presenta una disminución de casi 3 millones de cabezas (28%) desde 2007 a 2015, representando una disminución de 1,3 millones de cabezas anuales; determinándose en el año 2015, el menor número de ovinos de los últimos 150 años (San Román y Moratorio, 2017), como se muestra en la figura I. Esta tendencia a la baja en las existencias ovinas es una de las grandes preocupaciones del sector agropecuario a nivel país (San Román y Moratorio., 2017).

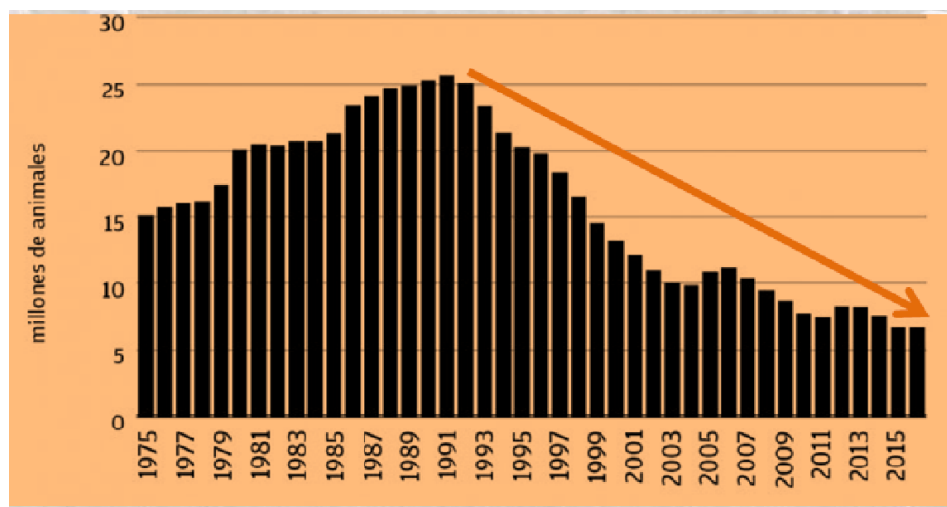


Figura I. Distribución de ovinos (millones de cabezas en 40 años) (FAGRO: 2017)

Los ovinos son principalmente afectados por nematodos gastrointestinales y en menor proporción cestodos y protozoos (Anderson, 1982).

Los protozoarios son los parásitos más rudimentarios del reino animal, son complejos, pero son unicelulares, la mayoría son microscópicos (1μ - 50μ) y de vida libre, aunque existen unos 7000 diagnosticados como agentes parásitos afectando a diversas especies animales. Son seres eucariotas con vesícula nuclear verdadera, separada por una doble membrana nuclear del resto del citoplasma y esto le permite la reproducción sexuada generando un gameto tanto masculino como femenino. Poseen citoplasma con cito-esqueleto y organelos como mitocondrias, retículo endoplásmico, ribosomas y vacuolas. Su desplazamiento se produce a través de flagelos, cilias, pseudopodos y por la contracción de los microtúbulos subpeliculares de los Apicomplexa (Martinez, 1999; Levine, 1978).

Los Apicomplexa son protozoarios parásitos obligatorios, se describen 3500 especies, éstos poseen un complejo apical compuesto por: un anillo polar, un conoide, roptrias, micronemas y micotúbulos subpeliculares. Además la mayoría de los Apicomplexas tienen uno o varios microporos que parecen utilizarse para la ingestión de los alimentos. La mayor parte de los Apicomplexas tienen fases

sexuales y asexuales en sus ciclos vitales (Levine, 1978).

Dentro de éstos últimos, los Apicomplexas, encontramos al género *Sarcocystis* (Levine., 1978), con más de 130 especies que se nombran a partir de los huéspedes vertebrados en donde fueron diagnosticados (Tenter, 1995; Poulsen y Stensvold, 2014), afectando al músculo estriado de rumiantes (Tenter, 1995). Los miembros de este género son protozoos intracelulares obligatorios y como toda coccidia, su ciclo de vida consiste en merogonia, gametogonia y esporogonia (Tenter, 1995). Este género es agente causal de la Sarcocistosis, ésta es una enfermedad cosmopolita (Acha y Szyfres., 2003), de distribución mundial considerada una zoonosis transmitida por alimentos (ETA), generando trastornos gastroentéricos, en casos agudos y con altas dosis de parásitos puede estar asociada con signos clínicos graves como la anorexia, fiebre, anemia, debilidad, pérdida de peso, signos nerviosos, aborto e incluso la muerte (La Perle y col., 1999; Leguía y col., 1989; Gabor y col., 2010), esto se debe a la actividad de una neurotoxina conocida como Sarcocistina (dentro del quiste) (Leguía y Calvo., 1989; Sam, 1988). Los casos son esporádicos, la gran mayoría fueron descritos en el sudeste asiático, especialmente en Malasia y Tailandia, se debe realizar diagnóstico diferencial de otros organismos formadores de quistes musculares como son el *Toxoplasma gondii* y *Trypanosoma cruzi* (Rosenthal, 2013). En una Sarcocistosis aguda el diagnóstico in vivo es difícil ya que los síntomas no son muy específicos. Fue reportada por primera vez en Suiza (1843) por Miesher, quien la encontró en el músculo esquelético del ratón (*Mus musculus*) lo que se conoció como túbulos de Miesher (Levine, 1978).

Los ovinos forman parte de diversos ciclos biológicos de diferentes enfermedades zoonóticas parasitarias tales como hidatidosis, toxoplasmosis, fasciolosis y sarcocistosis (Levine, 1978). Debido a la escasa información existente sobre *Sarcocystis* spp. en nuestro país y considerando que es una posible zoonosis, decidimos realizar un proyecto de investigación sobre el mismo en ovinos.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Producción ovina

La producción ovina en Uruguay se desarrolla en sistemas de pastoreo extensivos, siendo la alimentación casi exclusivamente a base de pasturas naturales y en algunos predios y en momentos estratégicos se modifica esa alimentación y se toma la decisión de suplementar o ponerlos sobre praderas artificiales para que consuman éstas, buscando obtener mejores indicadores productivos (SUL, 2011). Este pastoreo a cielo abierto es lo que caracteriza la producción en nuestro país y es lo que lo hace tan atractivo para el mercado externo, buscando con ese tipo de producción garantizar el bienestar animal (Gaudín y col., 2017).

Históricamente, se cree que el ovino descende del muflón salvaje de Europa y Asia, siendo los primeros animales en ser domesticados para fines agrícolas, criados principalmente por su carne, lana y leche (FAGRO, 2017). Si bien es un tema muy discutido se supone que los primeros ovinos ingresados a la Banda Oriental fueron anteriores a los primeros Vacunos y Equinos traídos por Hernandarias en 1611, según Mena Segarra (SUL, 2018). La introducción de cabezas de ovinos se remonta al año 1608 cuando los portugueses construyeron “Nova Colonia do Sacramento” ingresaron ovejas llamadas “churras” eran animales sin rizos, de poca lana y de muy baja calidad que darán origen luego a la oveja criolla (FAGRO, 2017). En 1630 comienza la cría de ovinos en Uruguay, siendo en este momento la producción de lana su principal explotación y desde un principio muy apreciada, siendo los primeros registros de exportación lanera entre los años 1700 y 1800, con la introducción de razas ovinas para mejorar el producto de exportación (FAGRO, 2017). En 1852 un censo registró 2 millones de vacunos y 800 mil lanares de los cuales 660 mil eran de raza criolla y el resto mestizas (SUL, 2018). Durante el período de 1896 y 1900 los registros indicaron un promedio anual de lana exportada de 40,3 millones de Kilogramos (kg) de lana sucia (SUL, 2018).

El desarrollo de la producción ovina se vio incrementada con el alambramiento de los campos (1872-1882) en nuestro país, a partir de entonces la cría de ganado ovino se vio considerablemente incrementada; en 1960 el stock ovino alcanzó a 2,6 millones y 12 años después llegó a 20 millones de cabezas, entrando luego en una etapa de descenso hasta 1977; en 1979 nuevamente el número de cabezas aumenta, la demanda externa de lana, liderada por Gran Bretaña, promovía el desarrollo de una orientación lanera (SUL, 2018). Pero finalmente en este siglo dicha producción ha pasado por varias crisis que han permitido el surgimiento de otros productos de interés comercial, aunque de menor intensidad, como la carne ovina, la industria frigorífica generó además condiciones para la introducción de razas con orientación carnicera como Lincoln y Romney Marsh (SUL, 2018).

Con el correr de los años la producción ovina ha ido disminuyendo ya que los costos de producción y el trabajo de mano de obra es bastante delicado y calificada con una tendencia a la baja de los precios tanto en la producción de carne ovina como en la de lana (Fagro, 2017), como se muestra en la figura II.

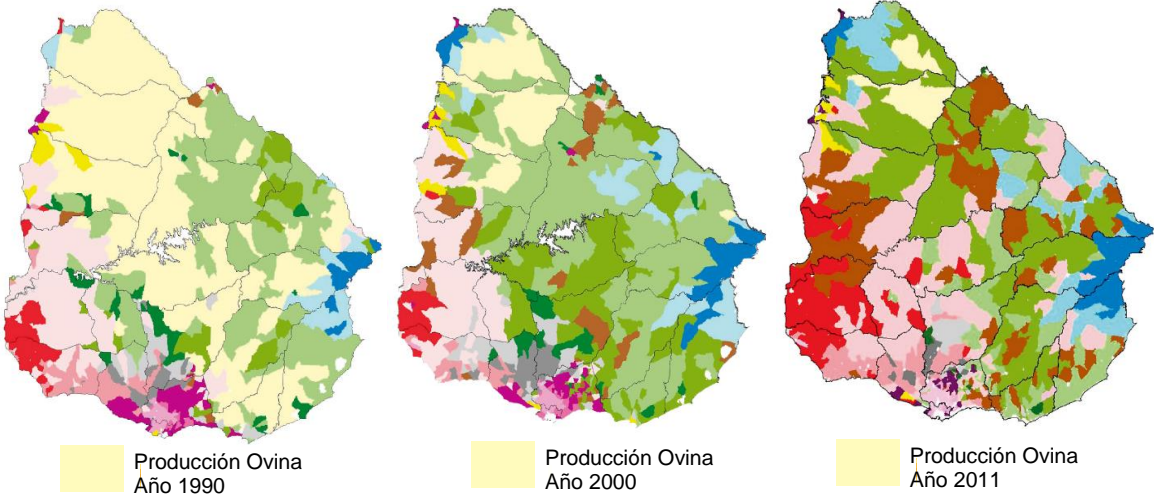


Figura II. Distribución de ovinos en regiones agropecuarias en los años 1990, 2000 y 2011 (Fuente: DIEA, 2017).

Los departamentos del Norte del país son los que presentan una mayor producción de ovinos de acuerdo a los datos de (DIEA, 2017), ésta se distribuye en Salto con 1.273.000, Artigas con 931.000, Paysandú con 694.000 y Tacuarembó con 624.000, como se muestra en la figura III.

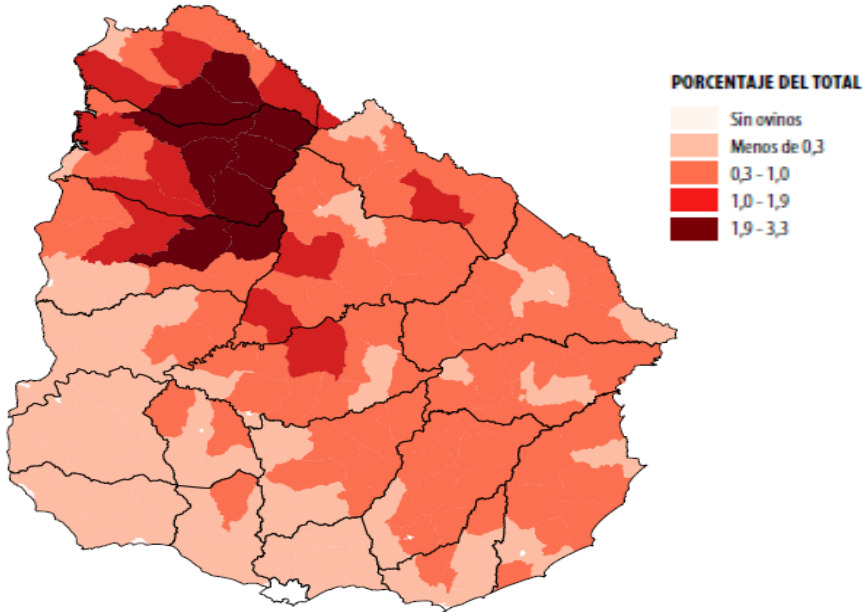


Figura III. Distribución de ovinos en los distintos Departamentos (DIEA, 2017).

Las principales razas ovinas en nuestro país son Corriedale 59%, Merino Australiano 19%, Ideal 12%, Merilín 3%, Cruzas 5% y otras 2% (FAGRO, 2017), como se muestra en la figura IV.

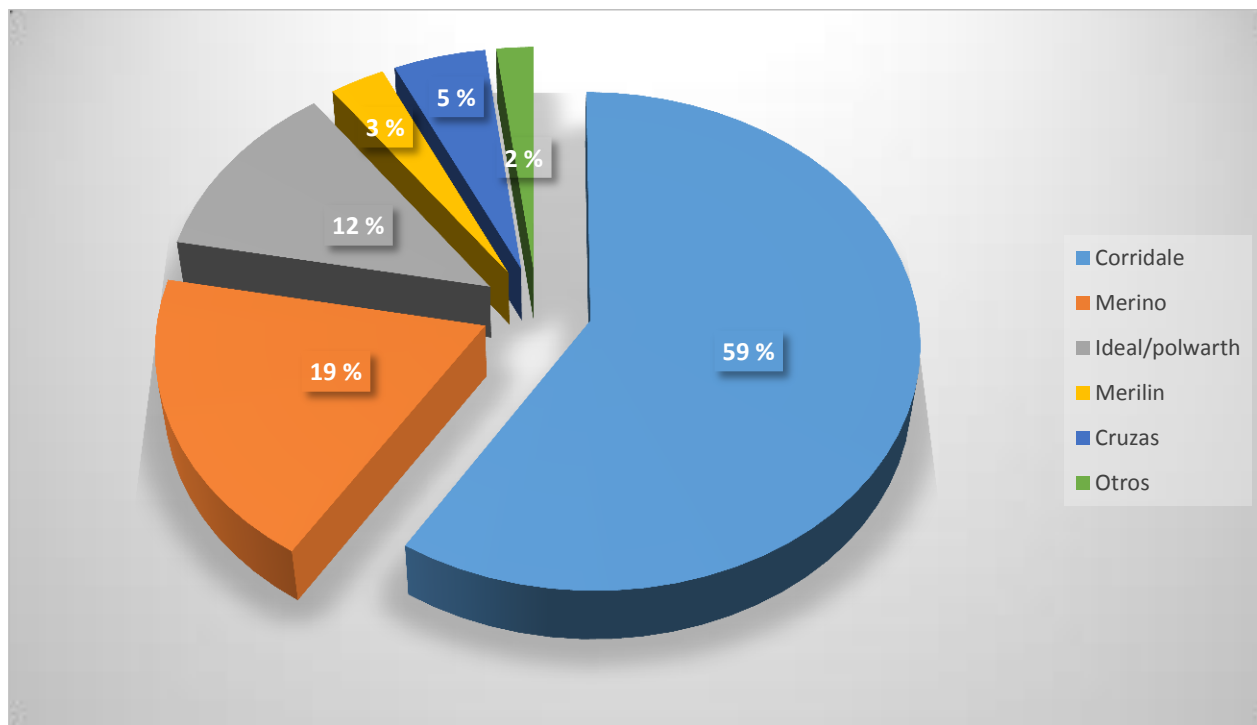


Figura IV: Distribución de razas ovinas en Uruguay.
(Fuente: Adaptado de Fagro: 2017)

La producción ovina en los últimos años se está inclinando más hacia el producto carne, quedando como rubro secundario la producción de lana, contraponiéndose a lo que ocurría históricamente cuando la lana aventajaba a la carne, probablemente las tendencias en el precio de la lana y las dificultades en su comercialización han jugado un rol para que esto ocurriera. La carne hoy en día pasó a ser el producto ovino más importante, basándose en la producción de corderos o borregos (San Román y Moratorio, 2017).

La producción de carne ovina (medida en número de cabezas) registró un incremento de un casi 6% en el ejercicio 2016/2017 al ser comparado con la zafra anterior, aunque se observa una tendencia decreciente desde el año 2009, cuando la faena comercial se ubicó algo por encima de los 2 millones (figura V). Las exportaciones de carne ovina aumentaron 11% en valor en el ejercicio 2016/2017 respecto al anterior, para 2018 se espera un crecimiento destacado en valor en las ventas externas. La poca oferta a nivel global debido a los cambios de las majadas en Australia y Nueva Zelanda genera expectativas de precios internacionales firmes, en el caso de Uruguay, la apertura del mercado de Estados Unidos para esta producción con hueso genera expectativas (OPYPA, 2017).

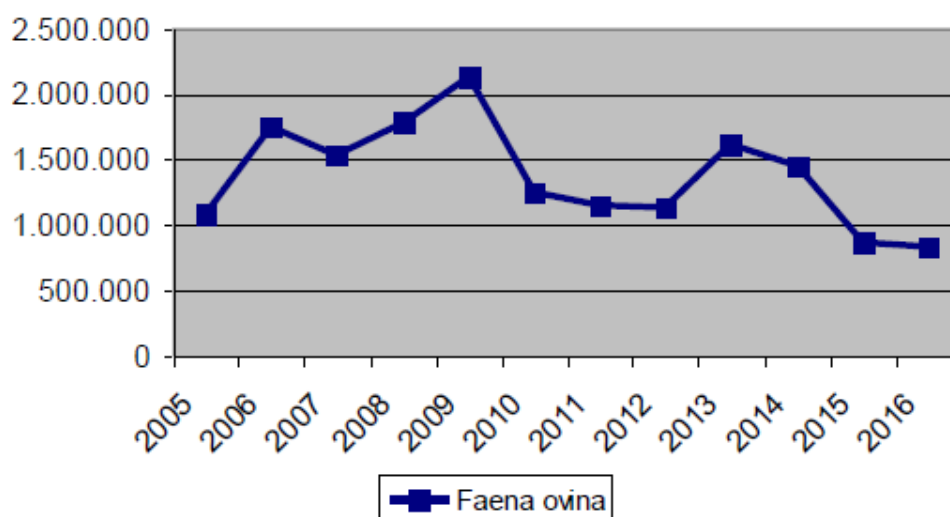


Figura V: Distribución anual de faena ovina. (Fuente: INAC, 2016)

Actualmente se tiende a una producción más intensiva del ovino, utilizando praderas y suplementos, generando una mayor concentración de animales, lo cual, a pesar de ser un gran avance desde lo productivo, puede ser una limitante desde el punto de vista sanitario, pudiendo afectar directamente en la eficiencia y en los resultados económicos. Por ejemplo, al haber un mayor número de animales en una superficie menor o sea una carga instantánea mayor, es más probable que se “encuentren” los diversos géneros parasitarios con el huésped susceptible, provocando así la enfermedad (San Román y Moratorio, 2017). Una de las principales problemáticas en la producción ovina es el manejo y la sanidad como ya lo indicamos, dentro de ésta las parasitosis serían la principal limitante para la eficiencia de producción en la mayoría de los sistemas productivos (Gaudín y col., 2017).

Sarcocystis spp. y sus generalidades

Sarcocystis spp. forma quistes en los músculos de varios huéspedes intermediarios (HI) que incluyen hombres, caballos, bovinos, ovejas, cabras, cerdos, aves, roedores, camélidos, animales de vida silvestre y reptiles. El tamaño de estos quistes puede ir desde pocas micras a varios centímetros (cm), dependiendo esto del huésped y de la especie, estos se encuentran con mayor frecuencia en esófago, diafragma y músculo cardíaco. La enfermedad generalmente es asintomática, pero puede presentar signos clínicos en algunos casos, los factores más importantes que influyen en el desarrollo de la forma clínica son: el estado inmune del huésped y la dosis de esporocistos (Scott, 2014).

En ovinos han sido diagnosticadas cuatro especies de *Sarcocystis*: *S. gigantea*, *S. medusiformis*, *S. tenella* y *S. arieticanis* (Pipia, A. y col., 2016). *S. gigantea* y *S. medusiformis* poseen como huésped definitivo (HD) a los felinos, generan macroquistes y generalmente son apatógenos (Bahari y col., 2014), mientras que *S. tenella* y *S. arieticanis* producen quistes microscópicos (Bahari y col., 2014), son transmitidos por caninos y causan efectos patógenos (Heckerroth y Tenter., 1999).

Gokpinar y col., (2014) afirman que la estructura de la pared de *S. tenella* presenta protrusiones de aproximadamente 3,5 (μ) de largo, mientras que *S. arieticanis* tiene proyecciones semejantes a un "pelo" de 5 a 9 μ . de largo e indican que el primero de los dos es más patógeno que el otro.

Sarcocystis spp. es un parásito levemente patógeno, por esto, la infección es generalmente crónica y subclínica en ovinos (Gual y col, 2017). La prevalencia del *S. gigantea* es baja o esta especie está poco diagnosticada, esto se explica en comparación con otras especies de *Sarcocystis* por el HD, debido a que otras especies de *Sarcocystis* transmitidos por felinos son menos frecuentes que los transmitidos por caninos, porque los gatos son pobres productores de esporoquistes y los sarcoquistes en los huéspedes Intermediarios (HI) necesitan varios meses para ser formas infectantes para el HD (Gual y col, 2017). Se ha demostrado una alta prevalencia de *S. gigantea* en ovinos adultos de más de 3 o 4 años (Bittencourt y col., 2016), sin embargo, no se han diagnosticado en corderos (Gual y col, 2017). *S. medusiformis* también produce macroquistes en ovejas con mayor frecuencia en laringe, abdomen y diafragma (Bittencourt y col., 2016) y es transmitido por gatos; sin embargo, sus sarcoquistes maduros son más pequeños y más esbeltos que los producidos por *S. gigantea* y son principalmente encontrados en el diafragma y los músculos abdominales (Gual y col, 2017).

Sarcocystis moulei de las cabras también es morfológicamente similar a *S. gigantea* y posiblemente podría infectar ovejas (Gual y col, 2017). Las ovejas y cabras destinadas para la producción de carne generalmente se crían a pastoreo, lo que permite el mayor contacto con caninos y no tanto con felinos, esta puede ser una de las razones de la ausencia de quistes macroscópicos (Bittencourt y col., 2016).

Importancia de Sarcocistosis en los ovinos

La presencia de macroquistes en ovinos causa gran preocupación para la industria cárnica, debido a que se debe requisar parte o la totalidad de la carcasa, su hallazgo impide la comercialización de carne insuficientemente cocida, fresca o deshidratada (Carletti y col., 2013), o sea la presencia de quistes microscópicos o macroscópicos hacen que la carne no sea apta para el consumo humano (Leguía, 1991; Tenter, 1995), resultando en serias pérdidas económicas (Pipia y col., 2016).

La gravedad de la enfermedad causada por *S. tenella* y *S. arieticanis* parece estar relacionada con la dosis ingerida de esporoquistes y también con el estado inmune del hospedero (Heckerroth y Tenter., 1999). Los animales infectados pueden presentar anemia, pérdida de peso (Bittencourt y col., 2016) y si se afectara el sistema nervioso central los animales podrían presentar cuadros agudos con encefalitis, encefalomiелitis o diátesis hemorrágica pudiendo ocasionar la muerte del animal (Pipia y col., 2016). En ovejas preñadas se puede producir cuadros de muerte fetal, aborto o parto prematuro del cordero (Fayer y Dubey, 1988); además se pueden infectar con diferentes especies simultáneamente. El tratamiento de casos naturales de sarcocistosis es poco probable, aunque existen registros de cura de forma anecdóticas (Scott, 2014). No hay registros de prevalencia en nuestro país

y se desconoce el impacto que dicha enfermedad presenta en la producción del Uruguay.

Epidemiología y Patogenia

El ciclo biológico de *Sarcocystis* spp. es indirecto (figura VI), requiere de un HD, el perro, gato y zorros, donde se desarrolla el estadio sexual mientras que el estadio asexual se desarrolla en el ovino (HI) entre otros (Leguía y col., 1989), siendo un ciclo de relación de predador-presa (Gorman, 1984). El HD elimina grandes cantidades de esporoquistes sin esporular en las heces (Levine., 1978) y se pueden distribuir en el agua y alimentos. El ovino adquiere la infección al ingerir alimento (pasturas) o agua contaminada con los esporoquistes esporulados (fase infectante), en el intestino se liberan los esporozoitos quienes ingresan a la circulación sanguínea y comienzan la fase de reproducción asexuada (fase de merogonia), desarrollando aquí la primera generación de esquizontes en las células endoteliales o subendoteliales de los vasos sanguíneos de casi todos los órganos. Los merozoitos producidos en esta primera generación de esquizontes entran a nuevas células endoteliales y subendoteliales donde se realiza la segunda generación de esquizontes. La segunda generación de merozoitos entran a la células musculares esqueléticas o cardíacas donde se realiza la tercera generación de la que finalmente a través de una vacuola parasitofora se termina conformando el quiste llamado sarcoquiste, que contienen bradizoitos infectantes (Poulsen y Stensvold., 2014).

El HD ingiere el sarcoquiste, que al ser digerido libera los bradizoitos que invaden las células epiteliales del intestino y realizan gametogonia (fase de reproducción sexual) en la lámina propia del intestino o células caliciformes, produciendo micro- y macrogametos (Poulsen y Stensvold., 2014). Los gametos se fusionan y se convierten en ooquistes los que son expulsados por las heces y se cierra el ciclo (Leguía *et al.*, 1989). Los esporoquistes son potencial e inmediatamente infecciosos (necesitan unas horas para esporular en el medio ambiente) (Poulsen y Stensvold., 2014).

Los sarcoquistes, generalmente se localizan en los músculos del cuello y esófago (órgano canalicular muscular que se extiende desde la orofaringe hasta el cardias, su función es la de transportar alimentos), aunque también se pueden encontrar en diversos músculos esqueléticos como intercostales y diafragmáticos (Valderrama., 1999), así como músculos de miembros torácicos, miembros pelvianos o en cualquier otro músculo esquelético del HI (Valledor y col., 2014).

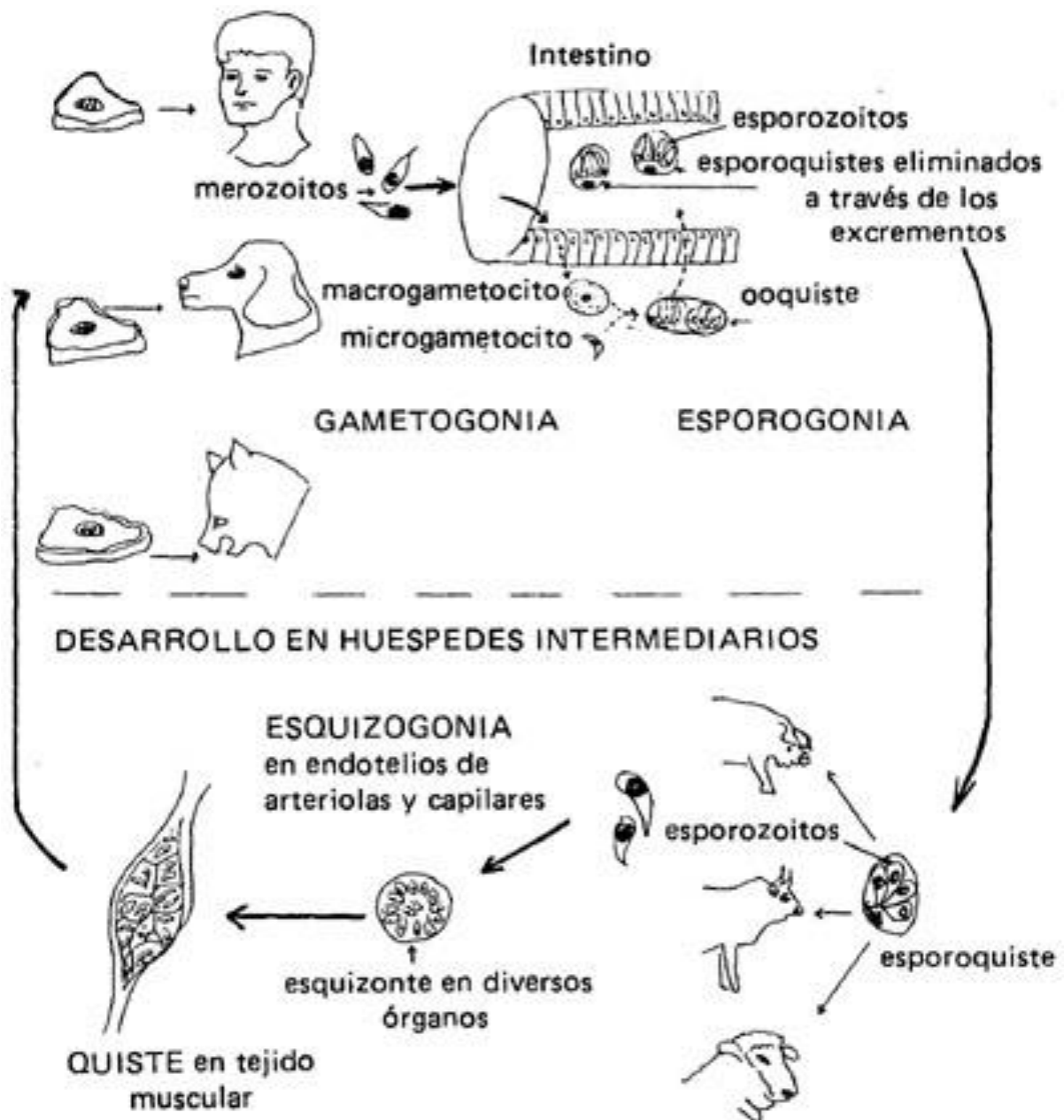


Figura VI. Ciclo Biológico de *Sarcocystis* spp. (Gorman, 1984).

Antecedentes de *Sarcocystis* spp. en la región y en el mundo.

En Uruguay se han realizado diversos pero escasos estudios sobre *Sarcocystis* spp., siendo el estudio de *S. bovicanis* y *S. bovifelis* en vacunos (Freyre y col., 1983) uno de los primeros. En 1988 se identificaron los esporozoarios *S. bovicanis* y *S. bovifelis* en músculo de vacunos, detectando *S. bovicanis* en el miocardio de 15 novillos estudiados y menos frecuentemente en otros músculos. La infección de un ternero con esporoquistes de *S. bovicanis* permitió, además, constatar su patogenicidad y la colonización de los tejidos (Freyre y col., 1988). Freyre y col (1992), indicaron que la prevalencia de *Sarcocystis* en cerdos, en nuestro país fue la más alta de todas las que se ha informado a nivel mundial, siendo la prevalencia

más alta en animales más viejos y siendo la especie identificada *S. suicanis*, diseminada por el perro. En cuanto a rumiantes de la fauna silvestre, Venzal y col. (2010) señalaron la presencia de quistes de *Sarcocystis* spp. en músculo cardíaco de un guazubirá de Parque Salus, Lavalleja. Finalmente, Valledor y col., (2014) realizan el primer reporte de *Sarcocystis* spp. en Alpaca (*Lama pacos*) para nuestro país.

Pereira y Bermejo (1988) realizaron un estudio en la Universidad de Santiago de Compostela (España) en búsqueda de *Sarcocystis* spp. en 100 esófagos ovinos, sus resultados indican que: 54 muestras fueron diagnosticadas con la presencia de macroquistes, en 46 (por medio de una técnica de compresión entre placas de triquinoscopia) se observaron microquistes y en 36 de esas 46 muestras antes mencionadas, por medio de digestión péptica se les diagnosticó bradizooitos. Además, buscaron anticuerpos frente a *Sarcocystis* spp en estos animales, encontrando títulos que variaron en un rango de 1/40 y 1/5120.

Algunos reportes sobre la prevalencia de infecciones por *Sarcocystis* spp. en ovinos han demostrado que este parásito es común en países desarrollados con cría de ovejas de forma extensiva como en Cerdeña, Italia, donde en 1990 se reportó una prevalencia del 66% para *S. gigantea*. Especie encontrada comúnmente en el esófago, aunque también parasita músculos esqueléticos de diafragma, corazón, lengua y laringe de ovinos. Además, se ha reportado el hallazgo de quistes microscópicos con prevalencias entre 36% a 81% en esófago y corazón respectivamente (Pipia y col., 2016).

Obendorf y Munday, (1986) indicaron que en 5 de 6 cerebros de corderos 21-42 días post-inoculación con ooquistes de *Sarcocystis* spp se vio una leve encefalitis con presencia de pequeños nódulos microgliales diseminados, además encontraron sarcoquistes en la lengua, de pared delgada que contenían merozoitos. Se encontraron, además, en lenguas y esófagos sarcoquistes inmaduros.

En Argentina (Buenos Aires) se reportó un caso de infección por *Sarcocystis gigantea* en una oveja Corriedale adulta que fue encontrada muerta y con baja condición corporal. A la necropsia, se observaron macroquistes blanquecinos elípticos (3-5 mm por 5-8 mm) con consistencia dura a lo largo de las capas musculares esofágica y faríngea. Microscópicamente, presentan una pared eosinofílica, con septos internos originados a partir de ella. Fueron identificados mediante PCR y se identificaron como *S. gigantea*. Esta sería la primera confirmación molecular de *S. gigantea* en ovejas en América (Gual y col., 2017).

Bittencourt y col. (2016) estudiaron en ovejas y cabras la frecuencia de infección y la identificación de especies de *Sarcocystis*. spp según su morfología, ultraestructura y pruebas moleculares, este estudio fue realizado en Bahía, Brasil, en muestras de lengua, esófago y corazón. En el 95.8% de las ovejas y 91.6% de cabras se detectaron quistes microscópicos de *Sarcocystis*. spp, siendo las especies identificadas *S. tenella* y *S. arieticanis* para ovejas y *S. capracanis* para cabras. En las muestras no se detectaron quistes macroscópicos. Los autores concluyen que existió una prevalencia de infección en cabras y ovejas de aproximadamente un 70 a

100%, aunque los exámenes por microscopia óptica identificaron paredes gruesas y delgadas en los quistes, no permitieron la diferenciación de la especie.

Otro análisis realizado sobre *Sarcocystis*.spp por Rosenthal, (2013), indica que los seres humanos son HD cuando ingieren carne de cerdo o ternera poco cocida o cruda que tienen quistes de *Sarcocystis hominis* y *Sarcocystis sui hominis*, desarrollando sarcocistosis intestinal.

Según un estudio realizado en Reino Unido sobre la presentación neurológica de *Sarcocystis* se concluyó que los signos neurológicos son más comúnmente observados en corderos de 6 a 12 meses de edad, con signos de ataxia, actividad convulsiva y muerte (Scott, 2014).

Estudios realizados en Rio Grande do Sul, Brasil, por Pires y col. (2016), demostraron que la tasa de infección de ovinos con macroquistes de *Sarcocystis* spp., llega casi al 100% de las ovejas examinadas. Cuando existen quistes microscópicos de *Sarcocystis* spp. en músculo cardíaco de diferentes especies, es más frecuente encontrar la presencia de quistes macroscópicos en el mismo tejido (Pires y col., 2016).

Gokpinar y col., (2014) describen que, en un estudio realizado en Turquía, se detectaron quistes microscópicos en el 91% de las ovejas examinadas, además observaron que las especies de *Sarcocystis* spp. transmitidas por felinos se han encontrado con menos frecuencia que aquellas transmitidas por cánidos. Afirman, también, que la prevalencia de quistes microscópicos, principalmente en la lengua, no tienen relación con la edad de las ovejas, aunque fueron más frecuentes en animales de 2 a 4 años en comparación con los de 1 año.

Técnicas de Diagnóstico

El diagnóstico de la sarcocistosis muscular es básicamente post mortem y se basa en las observaciones macroscópicas y microscópicas de los quistes, que pueden verse principalmente durante la necropsia o durante la inspección de las canales en el matadero. Macroscópicamente se observan quistes denominados sarcoquistes a nivel muscular, estos son tabicados, de tamaño variable de 40 μ a 2 cm, (Levine, 1978; Cornejo, 2009), de color blanco ó grisáceos, la forma puede variar desde tubulares a esféricos o elípticos, denominados comúnmente como con forma de granos de arroz (Cornejo, 2009).

Las técnicas de diagnóstico molecular, como PCR, son utilizadas para determinar los agentes causales específicos de quistes tisulares, pero a pesar de ser altamente específicas, muchas veces es difícil realizar la extracción del ADN y lograr las concentraciones deseadas de muestras, lo que limita la sensibilidad de la técnica (Pires y col., 2016).

Un estudio realizado en Rio Grande do Sul, Brasil en el año 2016 sobre la infección por *S. gigantea* dice que macroscópicamente se observaron nódulos, estos eran caracterizados por quistes blancos, redondos u ovals con 1.5x1.0x1.0 cm,

distribuidos al azar en todo el músculo esofágico, estos tenían una cápsula blanca e internamente un material translúcido. Los quistes se estudiaron microscópicamente mediante la tinción de hematoxilina y eosina donde se observó que presentaban forma irregular, pared eosinofílica con protuberancias placentiformes y cápsula de tejido conectivo adyacente, además se observaron bradizoitos que se describen como estructuras alargadas de 4μ , con núcleo evidente y citoplasma granular (Damboriarenal y col., 2016).

A diferencia *S. tenella* tiene una pared gruesa y presencia de vellosidades de $2-4\mu$ y pueden causar signos clínicos nerviosos, así como el aborto, disminución de la producción láctea, anemia, disminución del aumento de peso y, en casos severos, muerte; *S. arieticanis* mostró quistes de entre 53 y 163μ de diámetro y una pared delgada con proyecciones filiformes con $6-12\mu$. (Damboriarenal y col., 2016)

Respuesta inmune para *Sarcocystis* spp.

Protozoos: muchos resisten la respuesta inicial desencadenando infecciones crónicas, que se caracterizan por una fase de latencia en la que la multiplicación del parásito es mínima y no existen signos de infección.

Respuesta innata: fagocitosis.

Respuesta Adaptativa: Anticuerpos (Acs) y respuesta celular tipo T helper 1(Th1)

Los mecanismos de respuesta inmunitaria primero son celulares y luego humoral, la inmunidad a su vez puede ser innata o adquirida. La inmunidad innata es mediada principalmente por factores solubles que reconocen y destruyen a las formas invasoras o las opsonizan para ser destruidos por células efectoras, también la vía alterna del complemento constituye una primera barrera contra los parásitos extracelulares, que carecen del factor degradador de C3b presente en la superficie de las células del hospedador. Como resultado puede producir lisis u opsonización (fagocitosis por macrófagos u otros fagocitos). La fagocitosis por macrófagos es la primera línea de defensa. A pesar de que las Natural killer (NK) no son capaces de reconocer y destruir de una forma directa a los protozoos. Las células presentadoras de Ag (CPA) reconocen en general a los protozoarios por receptores con Patrones de Reconocimiento (PRRs) que reconocen los Patrones Moleculares Asociados a Patógenas (PAMPs).

En el caso de los mecanismos de inmunidad adquirida los protozoarios intracelulares, tienen una respuesta por linfocitos T; ya que las Inmunoglobulinas no pueden actuar sobre ellos. La respuesta inmune celular contra protozoo intracelular implica TCD4 Y TCD8, o solo TCD8. EL INF- γ es la principal citoquina para el control de protozoos intracelulares. Durante las fases en el inicio de la invasión, y durante el tránsito hacia nuevas células, los protozoarios son blancos de los Acs, que pueden destruirlos o bloquear la invasión de nuevas células (Valledor, M., 2017, comunicación personal)

En los HI infectados por el protozoo *Sarcocystis*. spp, se desarrolla una respuesta inmune con formación de Ac circulantes. Así, Gorman (1984) demostró que al inocular bovinos con esporoquistes provenientes de perros infectados, el nivel de

inmunoglobulinas se incrementó a la 4^{ta} semana posterior a la inoculación. Al comienzo los niveles de IgM fueron más elevados que los de IgG, pero posteriormente la situación fue inversa, persistiendo por mayor tiempo la IgG. Esto se observó como resultado de la estimulación antigénica producida por virus, bacterias y otros protozoos (Gorman, T., 1984).

Además de la presencia de Acs, también se desarrollaría una activa participación de inmunidad celular, comprobándose la presencia de linfocitos B y T en todos los tejidos linfoides de bovino experimentales infectados

Aparentemente la inmunidad que produce el *Sarcocystis* en el HD es mínima, ya que éste puede reinfectarse sucesivamente. También se ha observado que perros que excrementan una gran cantidad de esporoquistes no presentaban Acs al ser analizado su suero, por esto es que se piensa que las etapas sexuadas no serían muy inmunogénicas. La reacción celular que se observa en el intestino de los perros infectados experimentalmente es también escasa (Gorman, 1984).

No se ha observado inmunidad cruzada entre *Sarcocystis* spp. y *Toxoplasma gondii* ya que gatos inmunes a toxoplasmosis fueron susceptibles a sarcocistosis. Tampoco se ha observado inmunidad cruzada en sueros de personas con *Sarcocystis hominis* y *Toxoplasma gondii* y estudiados mediante la técnica específica para toxoplasmosis de Sabin y Feldman ("Dye test") y reacción de inmunofluorescencia indirecta (Gorman, 1984).

Control

El control de la sarcosistosis es difícil y para ello es necesario cortar el ciclo del parásito, evitando que los HD consuman carne cruda o insuficientemente cocida e infectada con *Sarcocystis* spp. Los carnívoros juegan un rol importante como diseminadores de esporoquistes en el medio ambiente, los cuales son bastante resistentes a las condiciones ambientales y además a la acción de pájaros y artrópodos coprófagos, quienes pueden contribuir a su propagación. Se debe recordar que el período de excreción de los esporoquistes es bastante prolongado (meses) y además los carnívoros pueden sufrir reinfecciones, ya que la inmunidad que se produce en la etapa sexuada del protozoo es mínima. De allí que sea necesario evitar en lo posible que los perros o gatos frecuenten aquellos lugares donde se almacenan granos, forraje, paja o dependencias en que se mantengan animales (Gorman, 1984).

En la inspección en mataderos las infecciones microscópicas pasan desapercibidas, por lo cual la gran mayoría de la carne que se consume podría estar infectada con *Sarcocystis* spp. En el caso de la carne de cerdo, que sería más peligrosa para el hombre, se recomienda que sea sometida a una adecuada cocción o congelación, ya que ambos procedimientos son efectivos para destruir al protozoo (Gorman, 1984).

La administración de drogas antiprotozoarias a los carnívoros, no son muy eficientes para controlar la sarcosistosis intestinal y evitar la diseminación de esporoquistes. (Gorman, 1984).

HIPÓTESIS

Ovinos faenados en frigoríficos de nuestro país presentan en su esófago lesiones debidas a *Sarcocystis* spp.

OBJETIVOS

General:

Comprobar la presencia de *Sarcocystis* spp. en lesiones quísticas esofágicas observadas en ovinos faenados en frigorífico.

Específicos:

- 1- Identificar lesiones quísticas esofágicas en planta frigorífica.
- 2- Determinar si la etiología de las mismas corresponde a *Sarcocystis* spp.
- 3- Estandarizar en el laboratorio de Parasitología de Facultad de Veterinaria las técnicas diagnósticas.
- 4- Estimar la prevalencia de lesiones macroscópicas en esófago debidas a *Sarcocystis* spp. en ovinos faenados en nuestro país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

La investigación se realizó en la planta Frigorífica NIREA S.A, ubicada en San Jacinto ruta 7 km 59.500, departamento de Canelones, Uruguay. Se realizaron tres visitas, en los meses de Octubre y Noviembre de 2016 y Octubre 2017.

Cada vez que se concurrió, se realizó la coordinación previa con las autoridades de la planta, la metodología de trabajo se organizó con los operadores encargados de la faena quienes nos ubicaron en una zona de la planta (con medidas de bioseguridad, luz, elementos de higiene y descarte del material no utilizado), allí nos alcanzaban los esófagos en cajones de la totalidad de la faena del día. Se inspeccionaron todos los esófagos y se separaron aquellos que presentaban lesiones blanquecinas compatibles con macroquistes.

Toma de muestra

Se procedió a observar individual y detalladamente la totalidad de la musculatura de cada esófago buscando la presencia de quistes de *Sarcocystis* spp., los cuales son de color blanco nacarado, pudiéndose encontrar en cualquier parte del esófago y de tamaños variables, como se muestra en la figura VII. Al encontrar quistes se apartaba todo el órgano en una bolsa individual, la cual se identificaba correlativamente.

El 3 de octubre de 2016 hubo una faena de 1000 animales de los cuales 728 eran corderos y 272 borregos, las tropas provenían de Treinta y Tres, Río Negro y Cerro Largo. El 18 de noviembre de 2016 la faena de ovinos fue de un total de 1479 ovinos, de los cuales 1264 eran corderos, 176 ovejas y 39 carneros, esta vez no se pudo obtener la información sobre la procedencia de los animales. El 13 de octubre del 2017 la faena fue de 1428 animales, 338 ovejas, 2 carneros, 1088 corderos, en este caso los animales faenados procedían de Colonia, Salto, Paysandú y Río Negro.

Las muestras fueron refrigeradas y trasladadas para ser procesadas en el Laboratorio de Parasitología de Facultad de Veterinaria, en Montevideo.



Figura VII. Esófagos ovinos con presencia de lesiones macroscópicas, muestras en planta frigorífica.

Procesamiento en el Laboratorio

En el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Veterinaria, en el caso de 126 esófagos del total colectados se midió su longitud mediante una regla graduada a mm, se contó la totalidad de los quistes, los esófagos después se dividieron en tercios, se contaron la cantidad de quistes que presentaba cada tercio, registrando todos los datos antes mencionados en una planilla en un cuaderno con respaldo electrónico, lo último que se llevó a cabo fue la medición de los macroquistes. A otros 25 esófagos se les extrajo unos 10 quistes a cada uno y se fueron fijado en formol al 10 %. Luego la totalidad de los esófagos parasitados fueron congelados en bolsas individuales a una temperatura de -20°C . Los restos obtenidos que no

presentaban quistes fueron eliminados según los protocolos de eliminación de residuos biológicos utilizados por Facultad de Veterinaria.

Coloración de contraste Azul de Metileno

Todas las muestras fueron descongeladas de manera individual y de ellas se extrajo, mediante disección quistes de los diferentes tercios, fueron puestos entre dos portaobjetos y mediante la técnica de contraste con Azul de Metileno, se logró medir en micras (μ), la longitud de los quistes, se visualizaron en microscopio óptico marca OLYMPUS BX40, los objetivos utilizados fueron 4X y 10X, los cuales al estar calibrados respectivamente corresponden a 25 μ y 10 μ .



Figura VIII. Disecciones de macroquistes con coloración de Azul de Metileno.

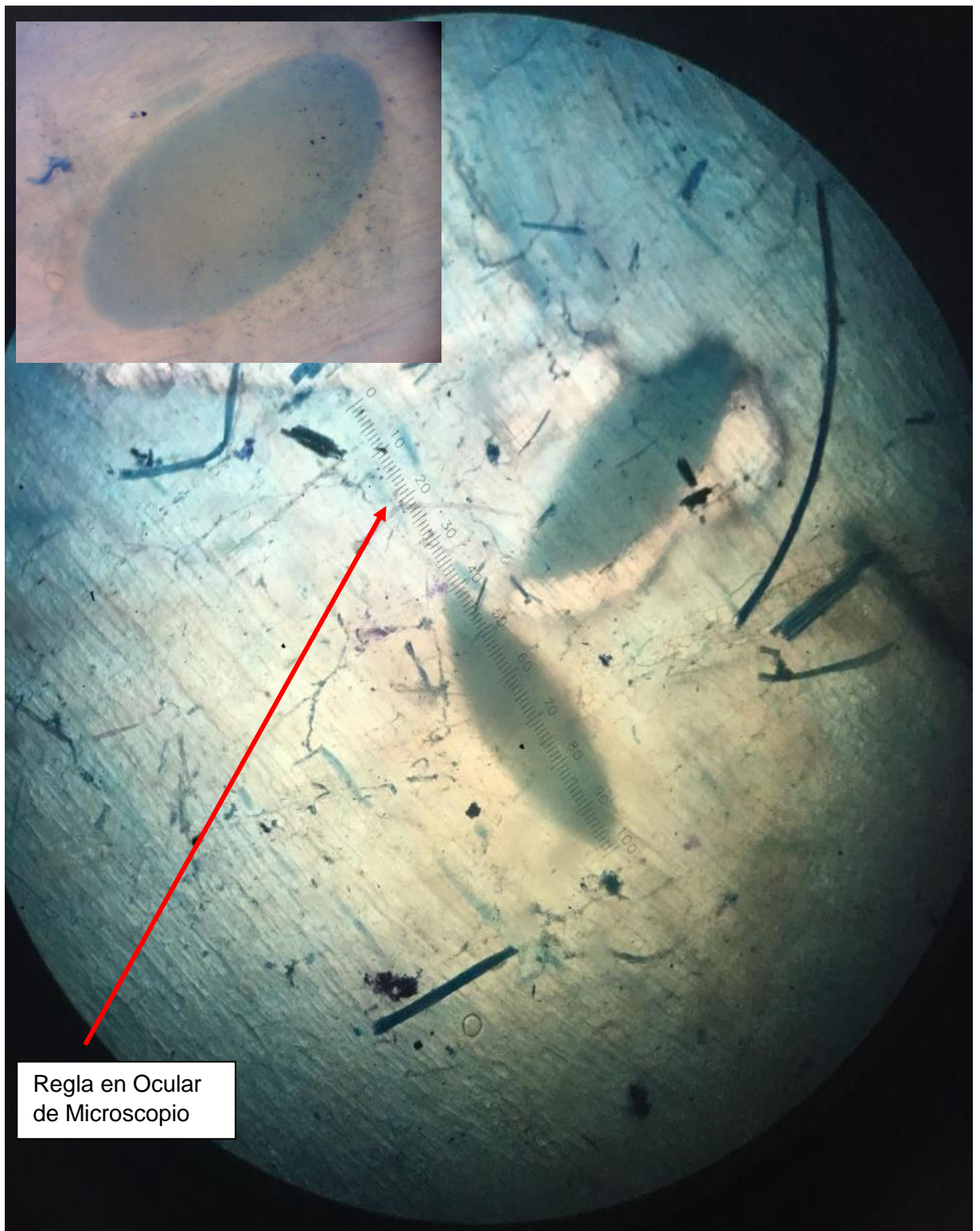


Figura IX. Quistes con coloración de Azul de Metileno.

Tinción con Hematoxilina- Eosina

Los quistes conservados en formol fueron procesados histológicamente mediante la tinción con Hematoxilina y Eosina a fin de poner de manifiesto las estructuras internas del quiste y realizar así su diagnóstico confirmatorio. Este procesamiento se realizó con el apoyo de la Dra. Virginia Araoz en INIA, La Estanzuela, Colonia.

En la figura X se observa la tinción de macroquistes de *Sarcocystis* spp. con la coloración de Hematoxilina-Eosina, lo que nos permitió ver la presencia de cápsula y bradizoitos. Se midió el tamaño del quiste, el grosor de la cápsula y la longitud de los bradizoitos, además se observó la forma del quiste.

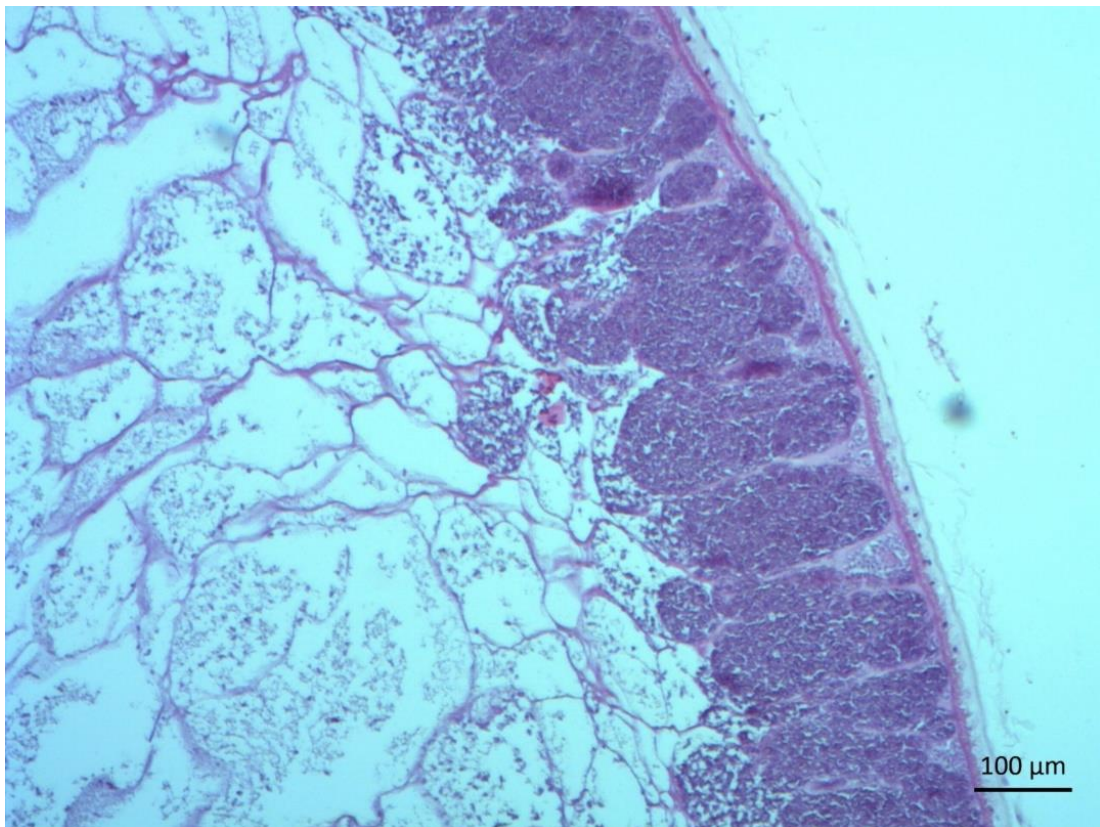


Figura X. Tinción con Hematoxilina y Eosina de macroquistes

Tinción con colorante de Giemsa

Además, a 4 muestras de estas fijadas en formol previamente, se les extrajeron 1 o 2 quistes de cada una de ellas y se realizaron extendidos de los bradizoitos coloreándolos con tinción de Giemsa, lo que permitió una mejor observación y medición de los mismos.

Para ello se disecó el quiste y se realizó frotis, se fijaron con metanol, se colorearon con Giemsa durante 30 minutos y se lavó con agua destilada eliminando los restos de tinción.

Registros de datos

Se registraron todos los datos en planillas en papel y se respaldaron en el programa Excel del paquete Microsoft, identificando individualmente cada animal y sus correspondientes lesiones en esófago.

Análisis Estadístico

De las lesiones obtenidas, se realizó un estudio descriptivo del mismo.

Se estimó: Prevalencia, Intensidad media de infección, Abundancia media y Razón Varianza/Media de la intensidad de infección de *Sarcocystis* spp. en las lesiones macroscópicas en esófago ovino mediante las siguientes fórmulas:

Prevalencia = (Nº de ovinos con lesiones causadas por *Sarcocystis* spp. / Nº total de ovinos examinados a la faena) x 100

Intensidad media de infección= Nº total de quistes / Nº de esófagos positivos.

Abundancia media = Nº total de quistes / Nº total de esófagos ovinos examinados

RESULTADOS

En la siguiente figura XI se indican las categorías de animales (corderos, borregos, ovejas, carneros) que fueron faenados y muestreados los días que concurrimos a el frigorífico, aquí se observa que la mayoría de los esófagos que analizamos corresponden a corderos (78,8%).

| Categorías | Primer Visita | Segunda Visita | Tercer Visita | Total | Porcentaje |
|-------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|--------------|-------------------|
| Corderos | 728 | 1265 | 1088 | 3081 | 78,8% |
| Borregos | 272 | | | 272 | 7% |
| Ovejas | | 176 | 338 | 514 | 13,2% |
| Carneros | | 38 | 2 | 40 | 1,02% |
| Total | 1000 | 1479 | 1428 | 3907 | 100 |

Figura XI. Categoría de los animales de los esófagos examinados.

En la primera visita al frigorífico del total de 1000 esófagos examinados, solo 54 (5,4%) presentaron lesiones que macroscópicamente fueron pequeños (0,2mm x 0,1mm), en la segunda visita la faena fue de 1479 ovinos de los cuales 71 (4,8%) presentaron esófagos con lesiones, en esta oportunidad los quistes eran de gran tamaño (10,1mm x 0,4mm) muy evidentes a simple vista a diferencia de la primera visita y en la tercer visita a la planta se revisaron 1428 animales, separando 25 (1,75%) muestras con lesiones.

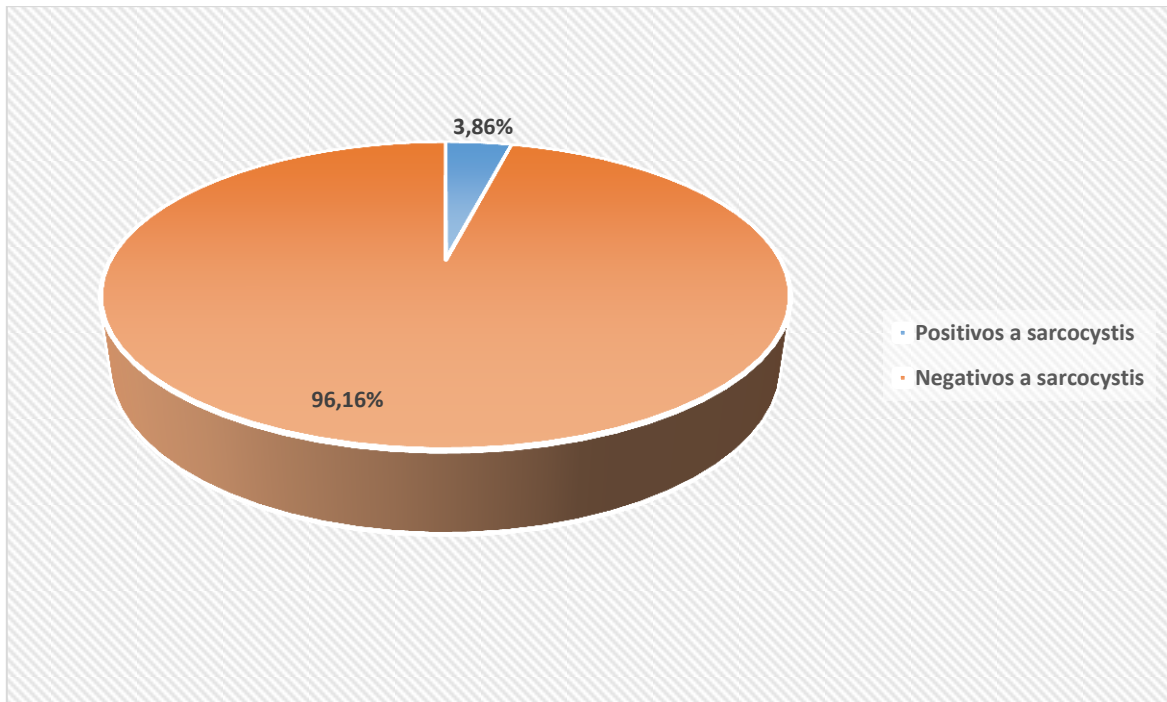


Figura XII. Prevalencia de esófagos con lesiones compatibles con *Sarcocystis*.spp en playa de faena.

Se revisaron un total de 3907 esófagos de ovinos, donde se encontraron 151 esófagos con lesiones asignables a macroquistes de *Sarcocystis* spp., con lo que la Prevalencia estimada de infección fue de 3,86%.

Se cuantificaron 1183 macroquistes en 126 esófagos, con lo que la intensidad media de infección fue de 9,39 y la abundancia media de 0,30.

La Prevalencia estimada en nuestro estudio fue de 3,86% $((151/3907) * 100)$.

Intensidad media de infección = 9,39 $(1183/126)$.

Abundancia media = 0,30 $(1183/3881)$.

Estudio descriptivo

Al realizar la medida individual de los esófagos muestreados, podemos indicar que los mismos presentaron una media de 42,2cm., con rangos de longitud desde 30 a 58 cm. (figura XIII).

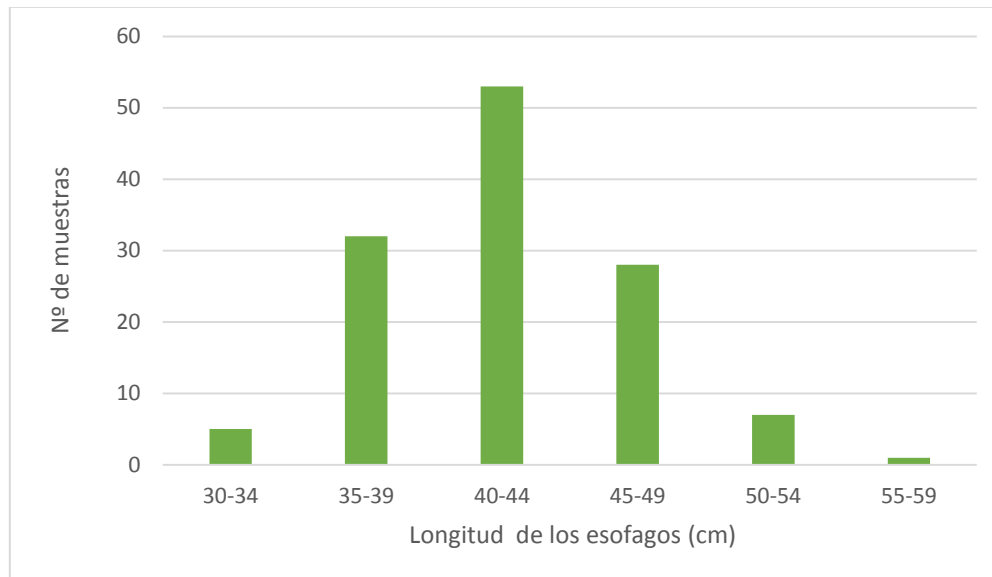


Figura XIII. Longitud de los esófagos positivos a *Sarcocystis* spp.

En los esófagos positivos el número de macroquistes varió de 1 a 54, pero la mayoría de los esófagos presentaban de 1 a 10 macroquistes, como se puede apreciar en la figura XIV.

Se calculó la razón varianza/media de la intensidad según cantidad de quistes por esófago.

$$\text{Razón varianza/media} = 103,04/9,4 = 10,96$$

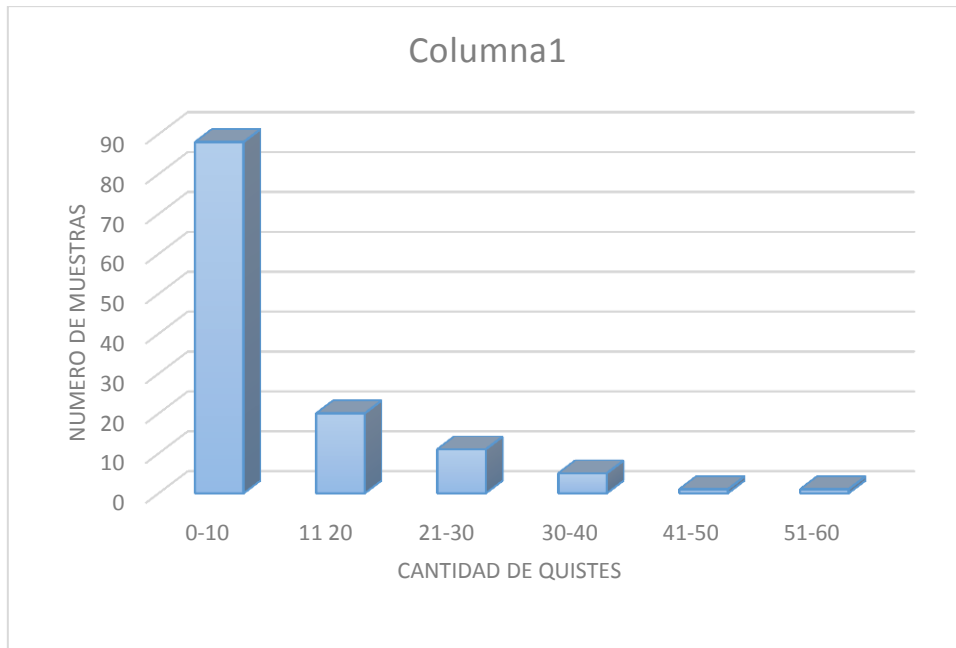


Figura XIV. Número de lesiones quísticas encontradas por esófagos.

Para analizar la presentación de las lesiones macroquísticas en los esófagos, éstos fueron divididos en tercios, a partir de eso se llevó a cabo el conteo de los macroquistes presentes en cada tercio como se indica en la figura XV.

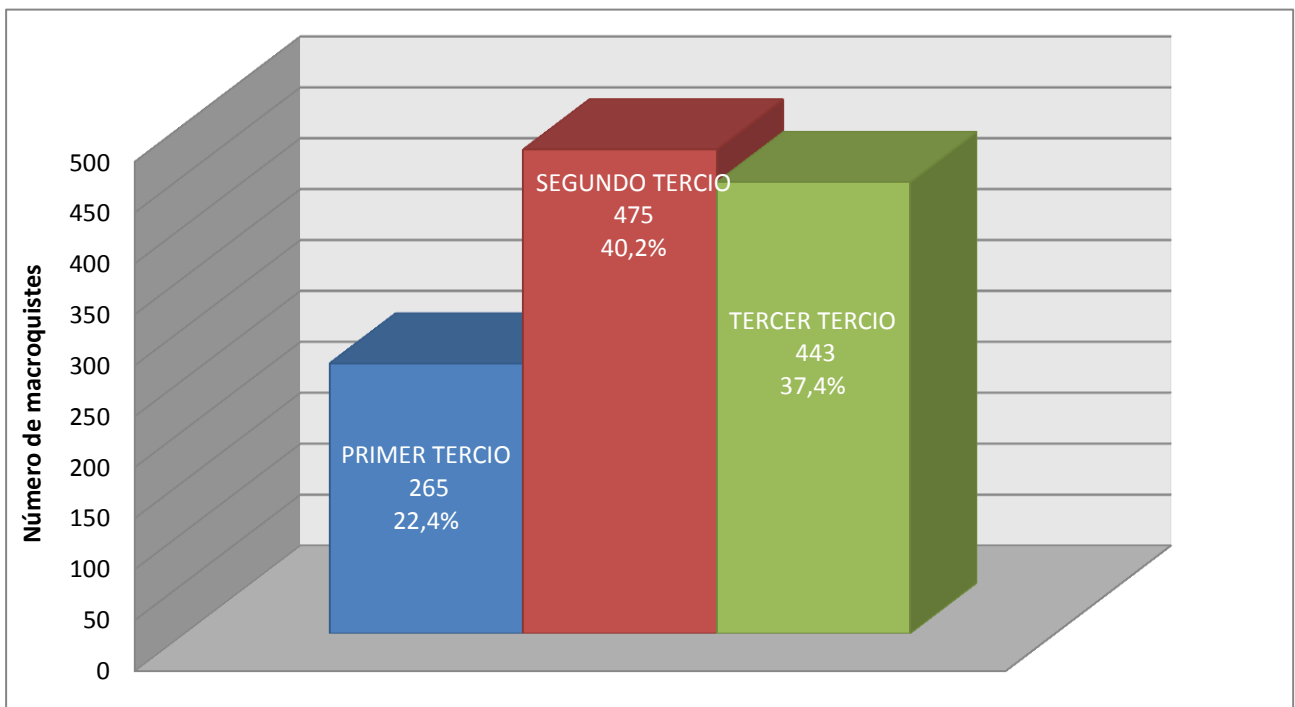


Figura XV. Presencia de macroquistes según su ubicación en cada tercio de esófago.

Lo último que se llevó a cabo fue la medición de los macroquistes, de todas las lesiones observadas se analizaron el 25% (296) del total (ANEXO III). Las medidas obtenidas, así como, la cantidad de macroquistes de cada rango se observan en la figura XVI.

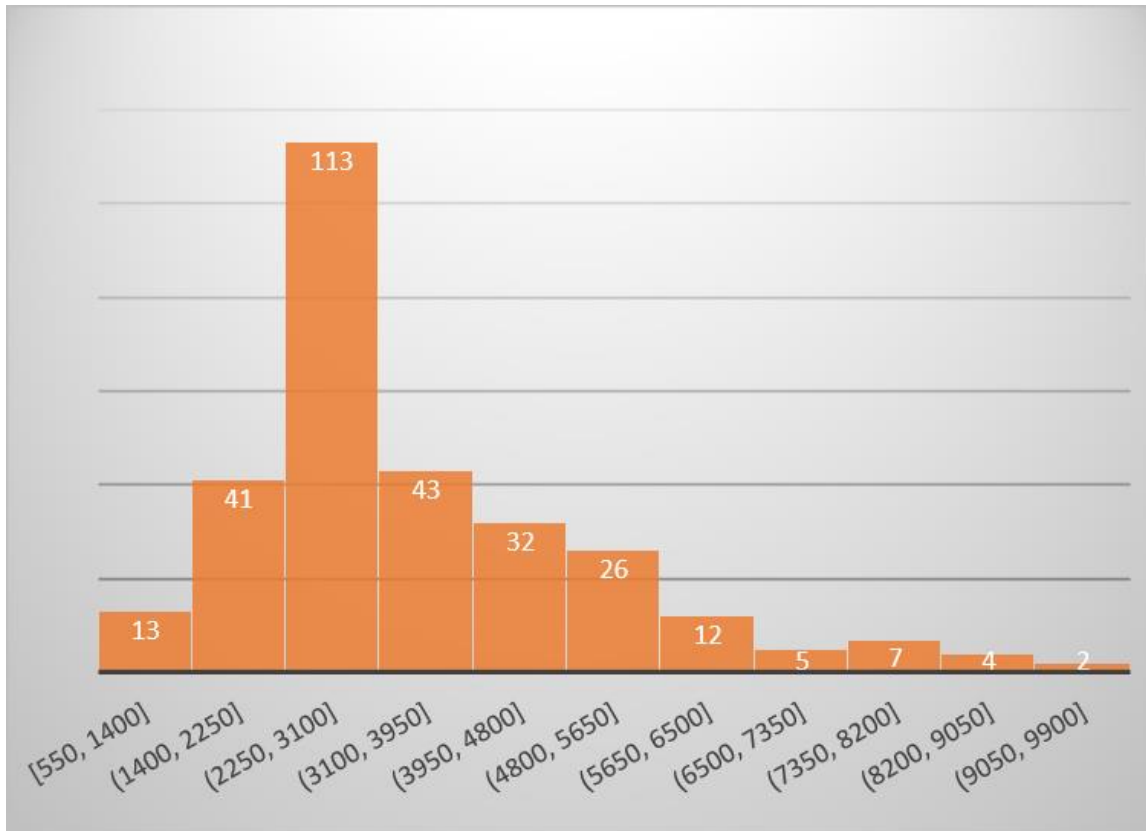


Figura XVI: Tamaño de los quistes en μ .

Tinción con Hematoxilina- Eosina

A modo de ejemplo como se aprecia en la figura XVII, se midió el espesor de la cápsula dando un promedio de 7,8 μ , y de los bradizoitos los cuales midieron en promedio 10 μ de longitud. También se midió el ancho y el largo de los quistes.

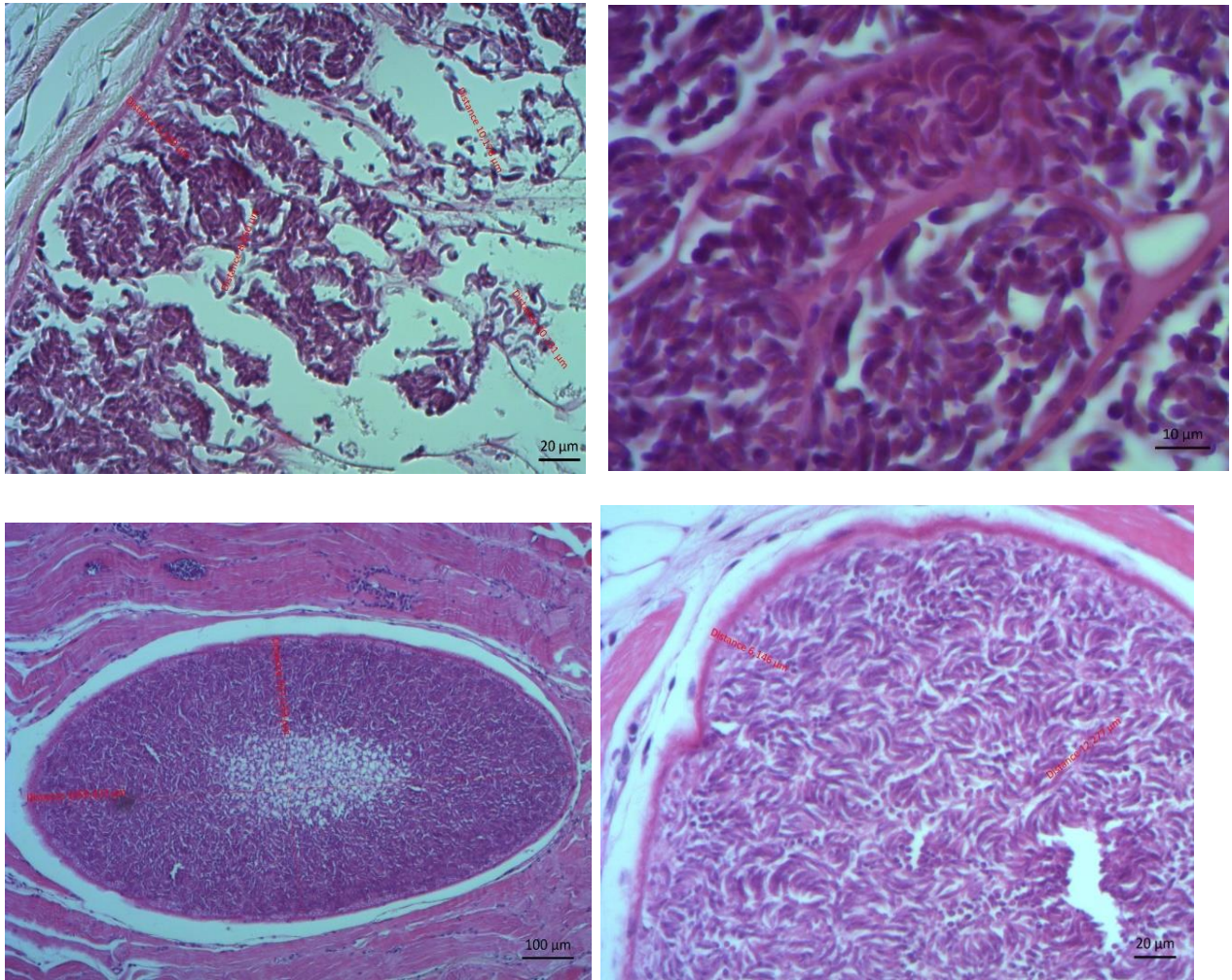


Figura XVII. Tinción con Hematoxilina y Eosina de macroquistes y observación de bradizoitos.

Nuestro diagnóstico de que la causa de los macroquistes es debido a la presencia de *S. gigantea* es debido a las características macroscópicas y microscópicas observadas en nuestro estudio.

DISCUSIÓN

Pires y col (2016), demostraron que la tasa de infección de ovinos con macroquistes de *Sarcocystis* spp., puede variar de un 70 a 100% en las ovejas examinadas, sin embargo, en nuestro estudio la prevalencia de infección fue de **3,8%** del total de esófagos muestreados. La prevalencia obtenida en nuestra investigación se debe a que el 78% de los animales muestreados fueron corderos (figura XI), lo que está de acuerdo con la bibliografía consultada, que describe una alta prevalencia de *S. gigantea* en ovinos adultos de más de 3 o 4 años (Bittencourt y col., 2016), sin embargo, no ha sido diagnosticado en corderos (Gual y col., 2017).

Nuestra baja prevalencia 3,86 coincide con lo descrito por Gual y col., (2017), quienes indican que la prevalencia del *S. gigantea* es baja o esta especie esta poco diagnosticada, esto se explica en comparación con otros *Sarcocystis* spp. por el HD, debido a que los *Sarcocystis* spp. transmitidos por felinos son menos frecuentes que los transmitidos por caninos, porque los gatos son pobres productores de esporoquistes. Pero Bittencourt y col., (2016) afirman que las ovejas destinadas a la producción de carne generalmente se crían a pastoreo, lo que permite el mayor contacto con caninos y no tanto con felinos, esta también podría ser una de las razones de la ausencia de quistes macroscópicos.

Estudiamos la longitud de los esófagos positivos a *Sarcocystis* spp. para estimar las edades de los animales, debido a que no tuvimos acceso detalladamente a dicha información, los rangos obtenidos fueron entre 30-58 cm de un total de 126 esófagos medidos, 7 de estos midieron menos de 36 cm, el resto igual o mayor a 36 cm, mediante comunicación personal con el Dr. Lima, este nos informó que estas medidas se deben a que en la planta de faena no se obtienen todas las porciones esofágicas, debido a esto se estimó que esófagos con dimensiones mayores a 36 cm de longitud eran animales adultos.

Sarcocystis spp presentó en nuestro estudio una distribución agregada (razón/varianza media mucho mayor que 1), esto significa que los parásitos se encuentran distribuidos de forma no uniforme en el espacio, hallándose pocos individuos HI que albergan muchos parásitos y muchos HI donde hay pocos o ningún parásito (Carballo, 2008), esta distribución es clásica de los parásitos.

Nuestras observaciones macroscópicas, que se describen como macroquistes de *Sarcocystis* spp, encontrados en esófago presentaron un tamaño que oscila entre 0,2mm a 10,1mm, lo que coincide con Scott (2014) que indica que pueden variar de pocos μ m a varios centímetros y Gual y col. (2017) quienes describen las lesiones como macroquistes blanquecinos elípticos (3-5 mm a 5-9 mm). Éstos los describimos como quistes blancos, redondos u ovaes distribuidos al azar en todo el músculo esofágico, tenían una cápsula blanca e internamente de un material translúcido, de la misma forma que redactan Damboriarenal y col. (2016).

En nuestra investigación, al observar la distribución de macroquistes en los diferentes tercios, vemos una mayor concentración en el segundo y tercer tercio con respecto al primero.

Según Gorman (1984) los HI infectados por *Sarcocystis*. spp, desarrollan una respuesta inmune con formación de Ac circulantes. Los presentes resultados apoyan dicha sugerencia: cuando los ovinos son de mayor edad (infiriendo la edad a partir de la longitud de los esófagos), disminuye la cantidad de quistes encontrados, debido a esto pensamos que podría haber cierto grado de inmunidad.

Con la tinción de Hematoxilina y Eosina, se observó el espesor de la cápsula la que midió en promedio 7,8 μ , lo que coincide con lo descrito por Damboriarenal y col., (2016) que explican que con esta tinción se pueden observar las estructuras internas de los quistes. Además, se midieron los bradizoitos dando una longitud promedio de 10 μ mientras que Damboriarenal y col. (2016) observaron y describieron a los bradizoitos como estructuras alargadas sin medida.

Según Gual y col, (2017) *S. medusiformis* produce macroquistes en ovejas en diafragma y músculos abdominales, por otro lado *S. gigantea* es una especie encontrada comúnmente en esófago, aunque también parasita músculos esqueléticos de diafragma, corazón, lengua y laringe de ovino según Pipia y col, (2016). Gual y col, (2017) dicen que *S. medusiformis* produce quistes pequeños y esbeltos a diferencia de los producidos por *S. gigantea* que son redondos u ovales, según Damboriarenal y col, (2016). Nuestro diagnóstico se basa de que estamos bajo la presencia de *S. gigantea* se basa en la ubicación de los sarcoquistes a lo largo de todo el esófago, por el gran tamaño que estos tenían y por su forma oval, coincidiríamos con dichos autores.

Pensamos que sería interesante poder estudiar la prevalencia microscópica y la prevalencia existente en otros órganos de *S. gigantea*, ya que según Pipia y col. (2016), esta especie es diagnosticada comúnmente en el esófago, aunque también parasita músculos esqueléticos de diafragma, corazón, lengua y laringe de ovinos. Además, estos mismos autores dicen que se ha reportado el hallazgo de quistes microscópicos con prevalencias entre 36% a 81% en esófago y corazón respectivamente. Por otro lado, Gorman (1984) afirma que en la inspección en mataderos las infecciones microscópicas pasan desapercibidas, por lo cual la gran mayoría de la carne que se consume podría estar infectada con *Sarcocystis* spp., otro estudio realizado en Turquía por Gokpinar y col., (2014) describe que se detectaron quistes microscópicos en el 91% de las ovejas examinadas.

CONCLUSIONES

- Los Macroquistes de *Sarcocystis* spp. presentaron baja prevalencia en los animales faenados en la industria frigorífica en el momento de la presente investigación.
- Por la ubicación en el organismo y sus características morfológicas se indica que estamos frente a la presencia de *Sarcocystis gigantea*.
- Las categorías animales adultas presentan macroquistes lo cual podría ser debido al mayor tiempo de exposición al agente.
- *Sarcocystis*.spp tiene una distribución agregada típica como la mayor parte de las poblaciones parasitarias.
- La disminución de la cantidad de quistes en los esófagos más grandes (animales de mayor edad) podría ser indicativa de la adquisición de cierto grado de inmunidad por parte del hospedero.

• BIBLIOGRAFÍA

1. Acha P, Szyfres B. (2003). Sarcocistosis. En: Acha P, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Washington. Ed. OPS. p 84-87.
2. Anderson, N. (1982). Internal parasites of sheep and goats. En: Coop, I. E. World Animal Science; Sheep and goat production. Amsterdam, Elsevier. V1, p. 175-191.
3. Bahari, P.; Salehi, M.; Seyedabadi, M.; Mohammadi, A. (2014). Molecular Identification of Macroscopic and Microscopic Cysts of *Sarcocystis* in Sheep in North Khorasan Province, Iran. *Int. J. Mol. Cell. Med.* 3(1): 51-56.
4. Bittencourt, M.; Meneses, I.; Ribeiro-Andrade, M.; Fernando de Jesus, R.; Ribeiro de Araújo, F.; Pita Gondim, L. (2016). *Sarcocystis* spp. in sheep and goats: frequency of infection and species identification by morphological, ultrastructural, and molecular tests in Bahia, Brazil. *Parasitology Research.* 115:1683–1689.
5. Carballo, M. C. 2008. Rol de los pejerreyes *Odontesthes smitti* y *O. nigricans* (Pisces: Atherinopsidae) como hospedadores de helmintos en los golfos norpatagónicos, Chubut, Argentina. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de La Plata – Facultad de Ciencias Naturales y Museo, 228 pp.
6. Carletti, T.; Martina, M.; Romero, S.; Morrison, D.; Marcoppido, G.; Florin-Christensen, M.; Schnittger, L. (2013). Molecular identification of *Sarcocystis aucheniae* as the macrocyst-forming parasite of llamas. *Veterinary Parasitology* 198: 396-400.
7. Castells, D.; Nari, A.; Gayo, V.; Mederos, A.; Pereira, D. (2013) Epidemiología e impacto productivo de Nematodos Gastrointestinales en Uruguay. En: Fiel C, Nari A. Enfermedades Parasitarias de Importancia Clínica y Productiva en Rumiantes. Montevideo, Hemisferio Sur, p. 149-172.
8. Cornejo R. (2009) La Sarcocystiosis. Curso Maestría en Salud Animal, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 11 p Disponible en: <https://ecitydoc.com/download/la-sarcocystiosis-facultad-de-medicina-veterinaria.pdf> Fecha de consulta: 22/3/18.
9. Damboriarenal, P.; Silva, C.; Moreira, R.; Leite, B. (2016). Natural *Sarcocystis gigantea* infection in sheep from Southern Brazil. *Ciencia Rural, (Santa María)* 46: 1229-1233.
10. MGAP DICOSE-SNIG (2017). Indicadores basados en la Declaración Jurada Anual de Existencias DICOSE- SNIG 2017. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/unidad-ejecutora/indicadores-basados-en-la-declaracion-jurada-anual-de-existencias-dicose-snig-2017>. Fecha de consulta: 17/01/2018.
11. Facultad de Agronomía, UDELAR, (2017). Complejo agroindustrial ovino del Uruguay. Disponible en: <http://www.fagro.edu.uy/ira/ur/materiales/grupo13/2017/Grupo%2013%20CAI%20Ovino.pdf>. Fecha de consulta: 18/01/2018.
12. Fayer, R., Dubey, J. (1988). Sarcocystis induced abortion and foetal dead. *Progress in Clinical and Biological Research.* 281: 153-164.
13. Freyre, A., Pedroff, E., Costabel, A., Mattos, J., R. Belloni. (1983). *Sarcocystis cruzi* y *S. hirsuta* en vacunos en Uruguay: Primera comprobación. Primeras Jornadas Técnicas de la Facultad de Veterinaria Montevideo-Uruguay, p. 80-81.

14. Freyre, A., Pedroff, E., Mattos, J., J. Falcón. (1988). Agentes de la infección sarcosporidiana en vacunos en el Uruguay. XVI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, p. 8.1- 8.6.
15. Freyre, A., Chifflet, L., J. Méndez. (1992). Sarcosporidian infection in pigs in Uruguay. *Veterinary Parasitology*, 41: 167-171.
16. Gabor, M., Gabor, L.J., Srivastava, M., Booth, M., Reece, R. (2010). Chronic myositis in an Australian alpaca (*Llama pacos*) associated with *Sarcocystis* spp. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 22: 966–969.
17. Gaudín, G.; Maza, F.; Melesi, M. (2017) Seguimiento coproparasitario en corderos hijos de ovejas de cría (*Ovis aries*) suplementadas con bloques proteico-energético y sin suplementación. Tesis de grado, Facultad de Veterinaria, UDELAR. 58 p.
18. Giménez, A., Castaño, J. P.; Baethgen, W. E., Lanfranco, B. (2009). Cambio Climático en Uruguay, Posibles Impactos y Medidas de Adaptación en el Sector Agropecuario. INIA Serie Técnica N°178, 56p.
19. Gokpinar, S.; Yildiz, K.; Gurcan, I. (2014). Prevalence and Concentration of *Sarcocystis* spp. Microscopic Cyst in Sheep Muscles Using Percoll Gradient Centrifugation. *Israel Journal of Veterinary Medicine*. 69: 16-20.
20. Gorman, T. (1984). Nuevos conceptos sobre sarcosporidiosis animal. *Monografías de Medicina Veterinaria*. 6(1). Disponible en: https://web.uchile.cl/vignette/monografiasveterinaria/monografiasveterinaria.uchile.cl/CDA/mon_vet_completa/0,1421,SCID%253D7718%2526ISID%253D415,00.html Fecha de consulta: 22/3/18.
21. Gual, I.; Bartley, P.; Katzer, F., Innes. E.; Cantón, G., Moore, D. (2017) Molecular confirmation of *Sarcocystis gigantea* in a naturally infected sheep in Argentina: A case report. *Veterinary Parasitology*. 248: 25–27
22. Heckerth, A., Tenter, A. (1999). Development and Validation of species-specific nested PCRs for diagnosis of acute Sarcocystiosis in sheep. *International Journal for Parasitology* 29. p. 1331-1349.
23. INUMET. (2018). Instituto Nacional de Meteorología. Disponible en: <http://www.meteorologia.com.uy/> Fecha de consulta: 17/01/2018.
24. La Perle, K.; F. Silverio; D. Anderson; A. Blomme. Dalmeny. (1999). Disease in an alpaca (*Lama pacos*): Sarcocystiosis, eosinophilia myositis and abortion. *Journal of Comparative Pathology*. 121: 287-293
25. Leguía G. (1991). The epidemiology and economic impact of llama parasites. *Parasitology Today*. 7: 54–56.
26. Leguía, G., Clavo, N. (1989). *Sarcocystis* o “triquina”. *Bol. Div. IVITA-UNMSM-CICCS*. 7: 12-14.
27. Leguía, G.; C. Guerrero; R. Sam; A. Chávez. (1989). Infección experimental de perros y gatos con micro y macroquistes de *Sarcocystis* de alpacas (*Lama pacos*). *MV Rev. Cienc. Vet. Lima*. 5 (3). p: 10-13.
28. Levine, N.D. (1978). *Tratado de Parasitología Veterinaria*. Zaragoza, Ed. Acribia p: 40-41.
29. Martínez, A. (1999). Protozoos. En: Cordero del Campillo, M., Rojo Vazquez, F. *Parasitología Veterinaria*. Madrid, Ed. McGraw-Hill-Interamericana de España, S.A.U, p: 70-78.
30. MGAP; DIEA. Dirección de Economía Agropecuaria (2017). Anuario Estadístico Agropecuario 2016-2017. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/Dieaanterior/Anuario2017/DIEA-Anuario2017-01web.pdf> Fecha de consulta: 17/01/2018.

31. MGAP; OPYPA. Oficina de Programación y Política Agropecuaria. (2017). Análisis Sectorial y Cadenas Productivas. Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/anuario_opypa_2017.pdf Fecha de consulta: 17/01/2018.
32. Morón, A. (1989). Ultraestructura del quiste de una nueva especie de *Sarcocystis* (Protozoa; Apicomplexa) en el roedor silvestre *Neotoma micropus* y desarrollo del ciclo biológico experimental en gatos domésticos. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León, México. 60p.
33. Obendorf, D., Munday, B. (1986). Desmostración de Schizogónicas Sarcocystis de *Sarcocystis gigantea* en Experimentalmente infectado Sheep. *Veterinary Parasitology*, 19: 35-38.
34. Pereira, A.; Bermejo, M. (1988). Prevalence of *Sarcocystis* Cysts in Pigs and Sheep. *Veterinary Parasitology*. 27: 353-355.
35. Pipia, A.; Varcasia, A.; Zidda, A.; Dessi, G.; Panzalis, R.; Tamponi, C.; Marrosu, R.; Tosciri, G.; Sanna, G.; Dore, F.; Chiesa, F.; Scala, A. (2016). Cross-sectional investigation on sheep Sarcocystidiosis in Sardinia, Italia. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 3-4: 13-17.
36. Pires, L.; Cauduro, G.; Sangioni, L.; Machado, M.; Chemeris, R.; Picada, L.; Silveira, F. (2016). Molecular Detection of Protozoa the *Sarcocystidae* family in sheep from the State of Rio Grande do Sul, Brazil. *Ciencian Rural*, (Santa María). 46(9): 1613-1617.
37. Poulsen, C., Stensvold, C. (2014). Current Status of Epidemiology and Diagnosis of Human Sarcocystosis. *Journal of Clinical Microbiology* 52 : 3523 - 3530.
38. Rosenthal, B. (2013). Sarcocystosis. En: Magill, JA., Ryan, ET., Solomon, T., Hill, DR. *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Disease*. New York, Ed: Saunders. p. 780 – 783.
39. Sam, R.E. 1988. *Sarcocystis aucheniae*. Caracterización parcial de componentes antigénicos y Patología clínica experimental en alpacas. Tesis de grado. Univ. Nac. Mayor de San Marcos, Lima-Perú. 118 p.
40. San Roman, E., Moratorio, J. (2017). Estudio de la influencia de *Moniezia expansa* y nematodos gastrointestinales en la variación de peso vivo y condición corporal de corderos (*Ovis aries*). Tesis de grado, Facultad de Veterinaria, UDELAR. 54 p.
41. Scott, P. (2014). Sarcocystosis in sheep. *Livestock*. 19(6): 356-359. <https://www.magonlinelibrary.com/doi/abs/10.12968/live.2014.19.6.356> Fecha de consulta: 2/01/2018.
42. SUL, (2011). Salud Animal. En: SUL, Producción Ovina. Montevideo, Fanelcor. 221 p.
43. SUL, (2018). Inicios de la producción ovina en Uruguay. Disponible en: <http://www.sul.org.uy/sitio/Inicios-de-la-produccion-de-ovina-en-Uruguay>. Fecha de consulta: 2/01/2018.
44. Tenter, A. (1995). Current research on *Sarcocystis* species of domestic animals. *Int. J. Parasitol.*, 25: 1311- 1330.
45. Valderrama, A. (1999). Relación de la sarcocystiosis macroscópica en carne de alpaca con la presencia de lesiones bucales. Disponible en: www.veterinaria.org/asociaciones/aevedi/00125CV.htm Fecha de consulta: 15/9/2015.
46. Valledor, M. S.; Cuñarro, B.; Pacheco, J.; Perez, W.; Mendez, V.; Lima, M.; Mailhos, V. (2014). Primer diagnóstico de *Sarcocystis* spp. en Alpaca (*Lama*

pacos) de Uruguay. III Congreso Panamericano – VIII Congreso Argentino de Zoonosis, efectuado los días 4, 5 y 6 de junio. La Plata (Buenos Aires) – Argentina. Facultad de Ciencias Médicas – Universidad. Nacional de La Plata.

Disponible en:

http://200.123.165.129/archivos/congreso_zoonosis/congreso/resumenes/Primer%20diagn%C3%B3stico%20de%20Sarcocystis%20spp.pdf Fecha de consulta: 22/3/18.

47. Valledor, MS (2011). Influencia de las poblaciones parasitarias gastrointestinales en la aptitud carnicera de corderos (*Ovis aries*), destinados a la producción. Tesis de Maestría, Facultad de Veterinaria, UDELAR. 109p.
48. Venzal, J. M., Castro, O., Cano, I., González, E., Félix, M. L.; Pacheco, J. P. 2010. Nuevos registros de parásitos para *Mazama gouazoubira* en Uruguay. 1er Congreso Uruguayo de Zoología “Prof. Federico Achaval”, Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay, 5-10 de diciembre de 2010, p. 274 del Libro de Resúmenes.

ANEXOS

ANEXO I: Tamaño de los esófagos

| ESÓFAGO | CM | ESÓFAGO | CM | ESÓFAGO | CM | ESÓFAGO | CM |
|---------|------|---------|----|---------|----|---------|----|
| 1 | 34 | 37 | 34 | 75 | 41 | 113 | 47 |
| 2 | 43 | 38 | 40 | 76 | 47 | 114 | 48 |
| 3 | 34 | 39 | 40 | 77 | 48 | 115 | 30 |
| 4 | 40 | 40 | 42 | 78 | 39 | 116 | 45 |
| 5 | 37 | 41 | 37 | 79 | 43 | 117 | 47 |
| 6 | 36 | 42 | 35 | 80 | 42 | 118 | 48 |
| 7 | 42 | 43 | 38 | 81 | 45 | 119 | 38 |
| 8 | 33 | 44 | 42 | 82 | 41 | 120 | 39 |
| 9 | 46 | 45 | 40 | 83 | 46 | 121 | 39 |
| 10 | 39,5 | 46 | 40 | 84 | 54 | 122 | 40 |
| 11 | 44 | 47 | 46 | 85 | 47 | 123 | 39 |
| 12 | 36 | 48 | 44 | 86 | 43 | 124 | 40 |
| 13 | 41 | 49 | 38 | 87 | 41 | 125 | 43 |
| 14 | 38 | 50 | 38 | 88 | 42 | 126 | 48 |
| 15 | 38 | 51 | 43 | 89 | 52 | | |
| 16 | 44 | 52 | 45 | 90 | 41 | | |
| 17 | 42 | 53 | 40 | 91 | 41 | | |
| 18 | 41 | 54 | 47 | 92 | 43 | | |
| 19 | 39 | 55 | 49 | 93 | 50 | | |
| 20 | 39 | 56 | 42 | 94 | 48 | | |
| 21 | 45 | 57 | 38 | 95 | 42 | | |
| 22 | 35 | 58 | 47 | 96 | 49 | | |
| 23 | 43 | 59 | 36 | 97 | 44 | | |
| 24 | 36 | 60 | 46 | 98 | 51 | | |
| 25 | 39 | 61 | 44 | 99 | 46 | | |
| 26 | 44 | 62 | 50 | 100 | 41 | | |
| 27 | 37 | 63 | 41 | 101 | 50 | | |
| 28 | 42 | 64 | 38 | 102 | 44 | | |
| 29 | 40 | 65 | 42 | 103 | 38 | | |
| 30 | 38 | 66 | 44 | 104 | 41 | | |
| 31 | 37 | 67 | 46 | 105 | 46 | | |
| 32 | 39 | 68 | 50 | 106 | 58 | | |
| 33 | 41 | 69 | 48 | 107 | 43 | | |
| 34 | 39 | 70 | 43 | 108 | 44 | | |
| 35 | 36 | 71 | 40 | 109 | 44 | | |
| 36 | 42 | 72 | 46 | 110 | 46 | | |
| 37 | 34 | 73 | 36 | 111 | 48 | | |
| 38 | 40 | 74 | 38 | 112 | 44 | | |

ANEXO II: Número de macroquistes por tercio

| ESOFAGO | PRIMER TERCIO | SEGUNDO TERCIO | TERCER TERCIO | ESOFAGO | PRIMER TERCIO | SEGUNDO TERCIO | TERCER TERCIO | ESOFAGO | PRIMER TERCIO | SEGUNDO TERCIO | TERCER TERCIO |
|---------|---------------|----------------|---------------|---------|--------------------|----------------|---------------|---------|---------------|----------------|---------------|
| 1 | 2 | 1 | 0 | 46 | 2 | 2 | 3 | 90 | 0 | 6 | X |
| 2 | 0 | 1 | 0 | 47 | 1 | 0 | 1 Traquea | 91 | 2 | 3 | 2 |
| 3 | 0 | 3 | 0 | | | | | | En traquea | | |
| 4 | 3 | 1 | 0 | 48 | 1 | 1 | 1 | 92 | 0 | 5 | 0 |
| 5 | 1 | 0 | 3 | 49 | 5 | 3 | 5 | 93 | 1 | 10 | 14 |
| 6 | 0 | 8 | 6 | 50 | 1 | 3 | 1 | 94 | 0 | 0 | 3 |
| 7 | 1 | 1 | 0 | 51 | 3 | 1 | 2 | 95 | 0 | 0 | 8 |
| 8 | 8 | 6 | 7 | 52 | 4 | 8 | 4 | 96 | 0 | 4 | 3 |
| 9 | 1 | 1 | 1 | 53 | 1 | 2 | 4 | 97 | 1 | 1 | 3 |
| 10 | 6 | 8 | 0 | 54 | 1 | 4 | x | 98 | 5 | 7 | 7 |
| 11 | 0 | 1 | 0 | 55 | 2 | 6 | 6 | | 3 en traquea | | |
| 12 | 0 | 1 | 0 | 56 | 1 | 1 | 5 | 99 | 0 | 1 | 0 |
| 13 | 1 | 0 | 0 | 57 | 2 | 2 | 0 | 100 | 3 | 0 | 1 |
| 14 | 3 | 2 | 1 | 58 | 0 | 3 | 3 | 101 | 6 | 18 | 13 |
| 15 | 2 | 4 | 2 | 59 | 5 | 10 | 8 | 102 | 1 | 1 | 3 |
| 16 | 3 | 0 | 0 | 60 | 4 | 17 | 12 | | Traquea | | |
| 17 | 1 | 0 | 1 | 61 | 1 | 3 | 7 | 103 | 0 | 1 | 2 |
| 18 | 5 | 5 | 10 | 62 | 8 | 11 | 10 | 104 | 0 | 1 | 2 |
| 19 | 0 | 7 | 2 | 63 | 1 | 0 | 1 | 105 | 2 | 2 | 3 |
| 20 | 1 | 2 | 4 | 64 | 4 | 12 | 5 | 106 | 7 | 7 | 15 |
| 21 | 1 | 2 | 1 | 65 | 4 | 3 | 5 | 107 | 1 | 1 | 0 |
| 22 | 0 | 0 | 2 | 66 | 13 2 en traquea | 12 | 5 | 108 | 0 | 0 | 2 |
| 23 | 4 | 8 | 11 | 67 | 6 | 19 | 8 | 109 | 12 | 15 | 6 |
| 24 | 5 | 4 | 4 | 68 | 5 | 4 | 3 | 110 | 0 | 0 | 4 |
| 25 | 0 | 0 | 3 | 69 | 0 | 2 | 2 | 111 | 2 | 4 | 3 |
| 26 | 0 | 0 | 1 | 70 | 0 | 1 | 1 | 112 | 7 | 2 | 5 |
| 27 | 0 | 2 | 1 | 71 | 2 | 2 | 3 | 113 | 0 | 0 | 2 |
| 28 | 0 | 0 | 8 | | 1 en traquea | | | 114 | 0 | 1 | 3 |
| 29 | 0 | 1 | 1 | 72 | 0 | 1 | 1 | 115 | 0 | 2 | 0 |
| 30 | 0 | 2 | 5 | 73 | 3 | 4 | 13 | 116 | 0 | 2 | 0 |
| 31 | 0 | 3 | 2 | 74 | 0 | 4 | 0 | 117 | 1 | 0 | 1 |
| 32 | 1 | 4 | 1 | 75 | 0 | 0 | 1 | 118 | 7 | 19 | 28 |
| 33 | 0 | 0 | 1 | 76 | 0 | 6 | 16 | | 1 | | |
| 34 | 0 | 2 | 0 | 77 | 5 | 7 | 7 | 119 | 1 | 0 | 1 |
| 35 | 0 | 1 | 3 | 78 | 3 | 8 | 6 | 120 | 1 | 0 | 1 |
| 36 | 0 | 2 | 0 | 79 | 1 | 2 | 1 | 121 | 0 | 2 | 0 |
| 37 | 3 | 7 | 8 | 80 | 0 | 2 | 0 | 122 | 3 | 1 | 1 |
| 38 | 0 | 5 | 6 | 81 | 0 | 2 | 0 | 123 | 0 | 6 | 1 |
| 37 | 3 | 7 | 8 | 82 | 0 | 2 | 0 | 124 | 0 | 1 | 0 |
| 38 | 0 | 5 | 6 | 83 | 15 | 22 | 11 | | 0 | 0 | |
| 39 | 1 | 1 | 2 | 84 | 11 | 9 | 9 | 125 | 0 | 0 | 1 |
| 40 | 5 | 6 | 4 | 85 | 0 | 7 | 6 | 126 | 3 | 5 | 8 |
| 41 | 0 | 2 | 4 | 86 | 0 | 1 | 1 | | 2 | | |
| 42 | 0 | 4 | 3 | 87 | 4 | 4 | 0 | | | | |
| 43 | 0 | 2 | X | | En traquea | | | 0 | | | |
| 44 | X | 2 | 2 | 88 | 3 | 8 | 5 | | | | |
| 45 | 1 | 1 | X | 89 | 6 | 13 | 4 | | | | |

ANEXO III: Tamaño de los quistes

| Muestras | micras (μ) | muestras | micras (μ) | muestras | micras (μ) | muestras | micras (μ) |
|----------|------------------|----------|------------------|----------|------------------|----------|------------------|
| 1 | 2500 | 24 | 1800 | 54 | 7500 | 90 | 3000 |
| | 2750 | | 3425 | | 6500 | 91 | 5500 |
| 2 | 2875 | 25 | 3450 | 55 | 7500 | | 7750 |
| 3 | 1000 | | 3100 | | 4700 | | 2500 |
| 4 | 3225 | 26 | 4250 | | 1200 | 92 | 1000 |
| | 3975 | | 2500 | | 1700 | 93 | 2700 |
| 5 | 4000 | 27 | 2425 | 56 | 2100 | 94 | 3500 |
| | 3580 | | 2925 | 57 | 2750 | 95 | 3200 |
| 6 | 2175 | 28 | 2700 | 58 | 4100 | 96 | 2000 |
| | 3500 | | 2625 | | 2000 | 97 | 2750 |
| | 2500 | | 2300 | 59 | 4250 | | 4000 |
| 7 | 3475 | | 1975 | 60 | 5000 | | 3000 |
| | 3200 | 29 | 5075 | | 4575 | 98 | 1500 |
| 8 | 2350 | | 3500 | 61 | 3100 | 99 | 3000 |
| | 2025 | 30 | 2475 | 62 | 2600 | | 1000 |
| | 3300 | | 3000 | 63 | 3250 | | 2750 |
| | 3100 | | 2825 | 64 | 3500 | | 3000 |
| | 3200 | 31 | 2625 | | 3750 | 100 | 2000 |
| | 3525 | | 2750 | | 2750 | 101 | 2500 |
| 9 | 9500 | | 3225 | 65 | 5000 | 102 | 2900 |
| | 6250 | 32 | 2850 | | 5000 | 103 | 2750 |
| | 9000 | | 3500 | | 3500 | 104 | 3000 |
| 10 | 2900 | | 3125 | 66 | 2500 | | 3500 |
| | 2175 | 33 | 2950 | 67 | 2700 | 105 | 6000 |
| | 3000 | | 3000 | | 3200 | | 5000 |
| | 3750 | 34 | 3100 | 68 | 3000 | | 2500 |
| | 3225 | | 3000 | | 4000 | 106 | 4000 |
| 11 | 5375 | 35 | 2750 | | 2000 | | 5000 |
| | 4500 | | 2225 | 69 | 6000 | | 5000 |
| 12 | 1200 | | 2625 | | 5000 | 107 | 6000 |
| | 1300 | 36 | 5000 | | 4000 | 108 | 5125 |
| 13 | 4225 | | 4500 | 70 | 2800 | | 5250 |
| | 3400 | 37 | 5250 | | 1500 | 109 | 6750 |
| | 4050 | | 2450 | 71 | 650 | | 8125 |
| | 2500 | 38 | 3050 | | 750 | | 6575 |
| | 5275 | | 3100 | | 950 | | 5375 |
| | 2600 | | 5000 | 72 | 7000 | 110 | 9000 |
| | 2500 | 39 | 2750 | | 6500 | | 3000 |
| 14 | 2900 | | 2500 | | 5000 | | 6000 |
| | 2800 | 40 | 4500 | 73 | 3000 | 111 | 3000 |
| | 2950 | | 4350 | | 2750 | | 3000 |
| 15 | 3475 | 41 | 2250 | 74 | 1750 | | 5000 |

| | | | | | | | |
|----|------|----|------|----|------|-----|------|
| | 2175 | | 3000 | | 2500 | 112 | 2450 |
| | 2450 | 42 | 2900 | 75 | 3000 | | 2875 |
| | 2500 | | 2625 | | 3000 | | 3750 |
| | 2100 | | 2625 | | 2250 | 113 | 2000 |
| | 2225 | 43 | 3200 | 76 | 3000 | | 3000 |
| | 2125 | 44 | 2825 | | 4000 | | 4000 |
| 16 | 2475 | | 3225 | | 3000 | 114 | 5000 |
| | 2500 | 45 | 2375 | 77 | 3000 | | 4000 |
| | 2100 | | 2100 | | 6000 | 115 | 9000 |
| 17 | 2025 | 46 | 2250 | | 4000 | 116 | 2000 |
| | 2000 | | 1825 | | 5000 | 117 | 5000 |
| 18 | 3075 | | 1700 | 78 | 5000 | | 1100 |
| | 3375 | | 1675 | | 4300 | 118 | 4000 |
| | 3575 | 47 | 5500 | 79 | 3000 | | 6000 |
| 19 | 2125 | | 3000 | | 2750 | | 7000 |
| | 2750 | 48 | 1950 | 80 | 3000 | | 6000 |
| | 2375 | | 1725 | 81 | 6000 | 119 | 4000 |
| 20 | 2750 | | 1750 | | 5000 | 120 | 3875 |
| | 3425 | 49 | 2000 | | 7000 | 121 | 550 |
| 21 | 3600 | | 2000 | 82 | 3375 | | 2500 |
| | 4200 | | 2500 | 83 | 3300 | 122 | 2750 |
| 22 | 3425 | | 2950 | 84 | 2900 | | 4500 |
| 23 | 3375 | 50 | 3250 | 85 | 4000 | 123 | 3000 |
| | 4700 | | 2450 | | 4000 | | 2250 |
| | 3000 | | 1250 | | 3000 | 124 | 3000 |
| | 3250 | 51 | 1750 | 86 | 3100 | 125 | 3500 |
| | 2500 | | 2975 | 87 | 2900 | 126 | 3000 |
| 24 | 8000 | | 3125 | 88 | 4000 | | 2000 |
| | 8750 | | 3250 | | 8000 | | 3000 |
| | 9250 | 52 | 1950 | | 1200 | | 2900 |
| | 6250 | 53 | 4750 | 89 | 2950 | | 2850 |
| | 2500 | | 5250 | 90 | 4000 | | |
| | 2500 | | 7500 | | 3000 | | |