

PESQUISA DE *Sarcocystis* sp. EN LENGUA DE CERDO MEDIANTE CORTES HISTOLÓGICOS EXAMINADOS EN MICROSCOPIOS DE LUZ Y ELECTRÓNICO

SEARCH OF *Sarcocystis* sp. IN PIG TONGUE BY MEANS OF HISTOLOGICAL CUTS EXAMINED IN LIGHT AND ELECTRONIC MICROSCOPES.

Martha Rocío García¹, Cornelis Johannes Marinkelle¹

Resumen

Se examinaron mediante microscopios de luz y electrónico 100 cortes histológicos de lengua de cerdos de diferentes regiones de Colombia que llegaban al Frigorífico de Guadalupe en Santafé de Bogotá. El 9% de los cerdos contenían quistes intramusculares de *Sarcocystis* sp. Con el microscopio de luz se encontraron 136 quistes. El número de quistes por muestra estaba entre 2 y 44, y en un caso se encontraron 28. Los quistes midieron, en cortes transversales, 24.3 102.4 x 17.9 91.2 μm , y en cortes longitudinales 56.3 962 x 24.3 591.5 μm . La dimensión de los zoitos fue 3.2 4.5 x 1.28 2.6 μm .

Con el microscopio electrónico se observaron pocos metrocitos en el interior de los quistes, principalmente ubicados en la periferia, y se caracterizaron por su citoplasma voluminoso y gránulos de amilopectina. Los zoitos presentaban organelos característicos como micronemas, roptrias, núcleo, aparato de Golgi, gránulos de amilopectina y gránulos densos. Se observaron de dos a tres roptrias por zoito. Aunque se determinó el diámetro de la pared de los quistes observados en cortes histológicos no fue posible identificar la especie de *Sarcocystis*.

Palabras claves: *Sarcocystis*, parasitología, histología, quistes.

Abstract

One hundred histological sections were made from the tongues of pigs originating from different regions of Colombia obtained at the Frigorífico de Guadalupe slaughterhouse in Santafé de Bogotá. The sections were examined by light and electron microscopy and nine percent of the pigs were found to contain intramuscular cysts of *Sarcocystis* sp. A total of 136 cysts were found by light microscopy, with 2-44 cysts per tongue. Up to twenty-eight cysts were seen in a single tissue section. The cysts measured 24.3 102.4 x 17.9 91.2 μm in transverse section and 56.3 962 x 24.3 591.5 μm in longitudinal section. The mean dimensions of the zoites were 3.2 4.5 x 1.28 2.6 μm .

Using electron microscopy a few metrocytes were found inside the cysts, located principally on the periphery and were characterized by their abundant cytoplasm and amylopectin granules. The zoites contained various organelles including micronemes, rhoptries, nuclei, Golgi apparatus, amylopectin granules and dense granules. Two to three rhoptries were observed per zoite. Although the diameter of the cyst wall was determined in the histological sections it was not possible to identify the species of *Sarcocystis*.

Key words: *Sarcocystis*, parasitology, histology, cysts.

INTRODUCCIÓN

En 1843 Miescher observó, por primera vez, quistes con gran número de protozoos con forma de banano en músculos de ratón. En 1882 estos quistes fueron denominados tubos de Miescher, cuerpos de Rainey o esporospermas. Balbiani propuso, en 1882, el nombre *Sarcosporidia* por la localización típica de los quistes dentro de los músculos. Tales quistes han

sido observados en muchos vertebrados con una distribución mundial (Mehlhorn y Heydorn, 1978).

El tipo de célula huésped parasitada por *Sarcocystis* spp. está correlacionada con cada estadio del ciclo de vida. *Sarcocystis* es una coccidia tisular con dos huéspedes obligatorios en su ciclo de vida. La generación sexual de gametogonia y esporogonia ocurre en la lámina propia del intestino del huésped

definitivo, el cual libera esporoquistes infectantes en sus heces y presenta sarcocystosis intestinal. La multiplicación asexual ocurre en músculos cardiaco y esquelético del huésped intermediario. No se encontró literatura sobre sarcocystosis muscular porcina en Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron aleatoriamente 100 muestras de tejido de lengua de cerdos procedentes de diferentes regiones del país que llegaban al Frigorífico de Guadalupe en Santafé de Bogotá. Las muestras se fijaron en formalina bufferada al 10% y se examinaron histológicamente en cortes seriados con coloración de hematoxilinaeosina. Bajo el microscopio de luz, con aumento de 600X, se hicieron mediciones de los quistes en cortes longitudinales y transversales, la pared del quiste y los zoitos.

Durante el estudio pudieron conseguirse los fondos necesarios para realizar la microscopía electrónica, razón por la cual los tejidos que contenían *Sarcocystis* que habían sido fijados y almacenados en formalina cerca de un año, se posfijaron en tetróxido de osmio y se procesaron para microscopía electrónica. Se tiñeron secciones ultrafinas con uranil acetato y citrato de plomo y se observaron al microscopio electrónico Philips CM-100 con el propósito de identificar la especie de *Sarcocystis*. Se procesaron las nueve muestras positivas para *Sarcocystis*, seleccionando en cada caso un pedazo

pequeño con apariencia de alteraciones macroscópicas de 1 mm de espesor.

Se hicieron cortes ultrafinos de algunos quistes para determinar características como la disposición de las células y el grosor de la pared quística; así mismo, características de los zoitos, tales como forma, medidas, capas de pellicle, presencia o no de conoide anterior, número de roptrias y número de micronemas.

RESULTADOS

Tres lenguas resultaron positivas para *Sarcocystis* en al menos un corte de tejido. Por exámenes subsiguientes de los 97 casos negativos en la selección inicial se detectaron seis casos más, lo cual equivale a una tasa de prevalencia del 9% de sarcocystosis muscular en lengua de cerdos.

En total se detectaron 136 sarcoquistes, con una frecuencia de 2 a 44 quistes por lengua (tabla 1). Todos eran intramusculares, con numerosos zoitos en "forma de banana" y sin reacción de tejido circulante.

La composición poblacional de los cerdos fue: Amagá 3%, Arbeláez 3%, Boquerón 4%, Bucaramanga 9%, Cesar 3%, Chiquinquirá 3%, Choachí 2%, Fusagasugá 3%, Garagoa 7%, Medellín 23%, Mesitas del Colegio 3%, Miraflores 3%, San Francisco 4%, Santama 3%, Santandercito 4%, Sasaima 3%, Sibaté 1%, Subachoque 4%, Tena

Tabla 1. Características poblacionales de cerdos infectados con *Sarcocystis*.

Número de caso	Localidad	Número de quistes por sección de tejidos ¹	Número total de sarcoquistes por bloque de parafina
B09	Choachí	5/1, 3/2, 3/3	11
B10	Choachí	5/1, 6/2, 4/3	15
B16	Usme	7/1, 3/2, 2/3	12
B33	Bucaramanga	3/1, 10/2, 4/3	17
B34	Bucaramanga	3/1, 1/2, 2/3	6
B48	Amagá	8/1, 5/2, 2/3	15
B59	Arbeláez	0/1, 2/2, 0/3	2
B68	Medellín	5/1, 7/2, 2/3	14
B72	Subachoque	28/1, 13/2, 3/3	44

¹Los denominadores indican el número de la sección del tejido.

4%, Une 3%, Usme 3%, Villapinzón 3% y Villavicencio 2%.

Los casos positivos en las diferentes localidades de Colombia fueron en Antioquia (Amagá y Medellín), Cundinamarca (Arbeláez, Choachí, Subachoque y Usme) y Santander (Bucaramanga).

El rango del largo y ancho de los quistes en corte transversal fue de 24.3 102.4 x 17.9 91.2 μm . El rango del largo y ancho de los quistes en corte longitudinal fue 56.3 962 x 24.3 591.5 μm . La dimensión de los zoitos tenía un rango de 3.2 4.5 x 1.28 2.6 μm .

Al microscopio electrónico se observaron dos quistes en dos de las nueve muestras positivas. La pared del quiste consistía de una pared primaria y una capa de gran sustancia. La pared primaria de los quistes era una membrana de 5.16 μm y 5.5 μm de diámetro, respectivamente. Ambos quistes presentaban protrusiones en la pared primaria a manera de empalizada (figs. 1 y 2). La gran sustancia adyacente a la pared primaria tenía un grosor de 0.63 y 1.1 μm , respectivamente. No había pared quística secundaria.

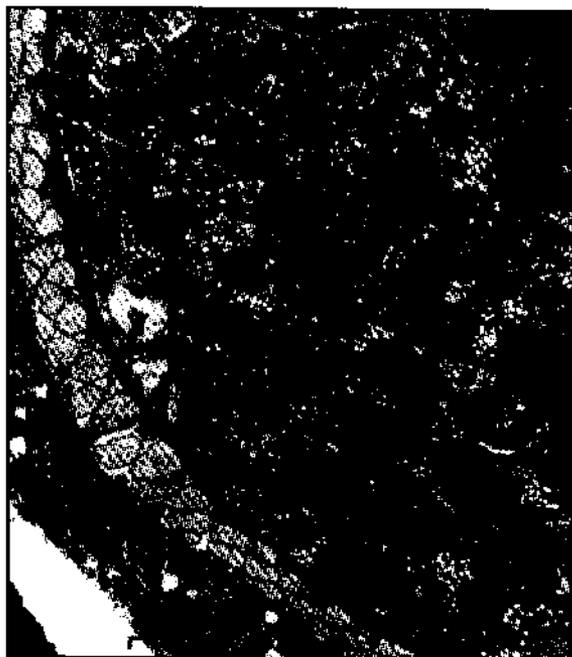


Figura 1. Sección transversal de un quiste maduro. Un macrocito (MC) está en la periferia del quiste, y su interior está lleno con merozoitos (ME). Los merozoitos contienen gránulos densos esféricos (DG), amilopectina (A) y numerosos micronemas (MN). Se observan la célula huésped (HC), la pared del quiste (PCW) y la gran sustancia (GS).

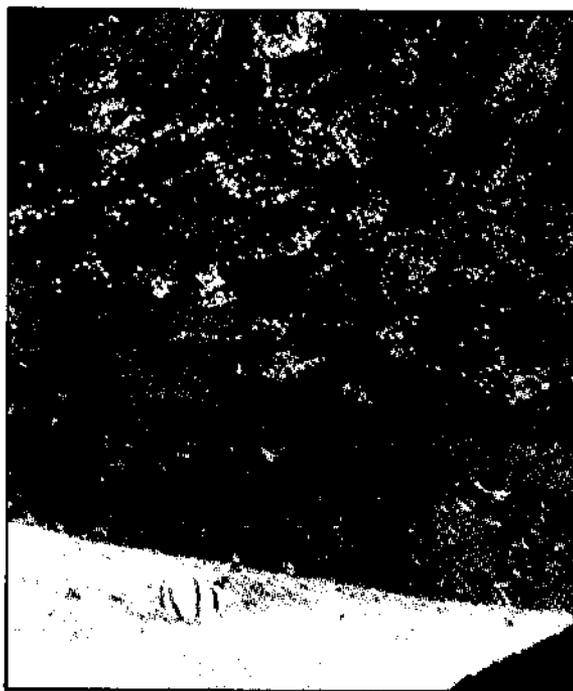


Figura 2. Sección longitudinal de un quiste de *Sarcocystis* sp. Obsérvese la célula huésped (HC), la pared primaria del quiste (PCW) y la gran sustancia (GS). En su interior, numerosos merozoitos (ME) y septas de separación (SE) que dividen el quiste en numerosos compartimientos.



Figura 3. La región anterior al núcleo (N) del merozoito (ME) contiene el aparato de Golgi (G). Gránulos de amilopectina (A) están concentrados en la parte posterior.

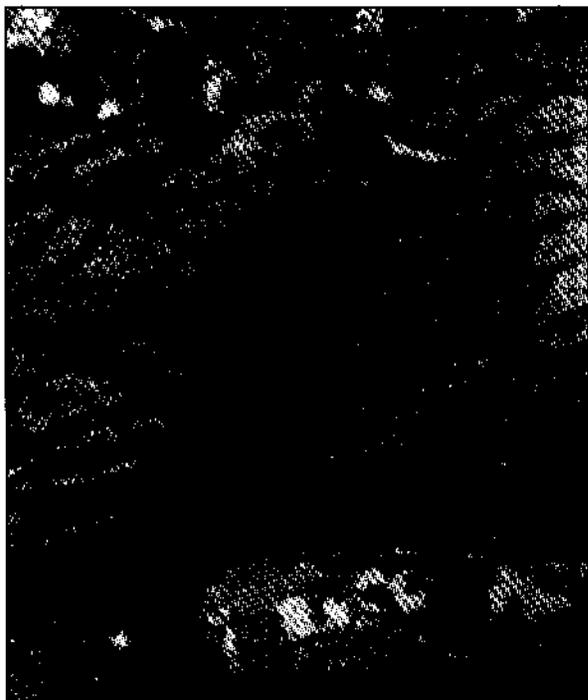


Figura 4. Porción anterior del merozoito (ME). Contiene micronemas (MN), gránulos densos (DG) y un conoide en el extremo anterior (C).

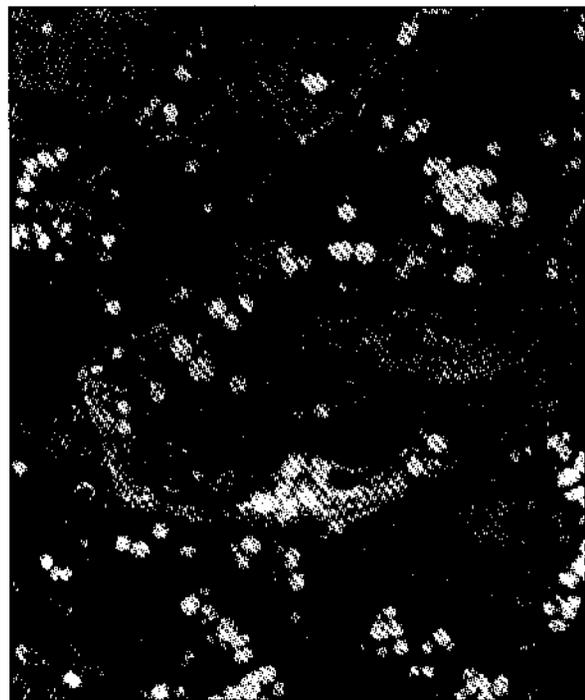


Figura 5. Micrografía de *Sarcocystis* sp. con pared primaria del quiste (PCW) con numerosas protrusiones. En el interior del quiste se encuentra, al lado derecho, un metrocito (MC) y al izquierdo un merozoito (ME) con numerosos micronemas que lo diferencian del metrocito.

Los quistes tenían septas de separación, compuestas de un material similar a la gran sustancia, que se extendían hacia dentro del lumen del quiste separándolo en compartimientos, ocupados por uno o varios zoitos maduros. Los septas tenían 0.15 y 0.38 μm de diámetro (figs. 1-3).

Los metrocitos estaban ubicados periféricamente en los quistes, y medían 17.68 x 6.41 μm . Los zoitos ovoides y alargados medían 7.19 x 3.6 μm . Se observaron estructuras típicas en el zoito como: roptrias bulbosas en su parte posterior (dos a tres), micronemas (más de 100 por merozoito), un conoide anterior, un aparato de Golgi localizado anteriormente al núcleo, el cual se encuentra rodeado por una membrana densa y numerosos gránulos de polisacárido (fig. 4).

Los metrocitos son estructuras muy similares a los merozoitos excepto que carecen de roptrias y micronemas. Están rodeados por un pellicle típico coccidiano conformado por membranas externa e internas (fig. 5).

En ambos quistes observados por microscopía electrónica se encontraron pocos metrocitos,

limitados a la periferia del quiste, y gran cantidad de merozoitos en su interior, lo cual hace suponer que ambos eran quistes maduros.

DISCUSIÓN

Para detectar la prevalencia de sarcocystosis en lengua porcina se usó el método de cortes histológicos y no serología puesto que ésta es inespecífica y no permite diferenciar sarcocystosis intestinal de sarcocystosis muscular, hecho que puede dar falsos positivos. Las pruebas inmunológicas sólo han sido usadas para detección de sarcocystosis muscular aguda en herbívoros, los cuales no tienen infección intestinal (Markus, 1979).

De los nueve casos hallados en cerdos, tres fueron encontrados en los primeros cortes histológicos, y los seis restantes en cortes seriados de las muestras negativas para los primeros 97 cortes.

El ancho de la pared quística es de 5.2 μm , valor intermedio en las medidas publicadas por Dubey *et al.* (1989), que dan un tamaño de 3-6 μm para *S.*

miescheriana (sin. *S. suicanis*) y 4-9 μm para *S. suihominis*.

Los resultados muestran que los cerdos ingirieron heces humanas o caninas infectadas con *S. suihominis* y *S. suicanis*, respectivamente, lo que evidencia la importancia y necesidad de unas condiciones higiénicas adecuadas para el mantenimiento de los cerdos en Colombia.

La presencia de varios zoitos en un mismo compartimiento del quiste sugiere que éstos se

originan de un solo metrocito. La ultraestructura es un criterio fundamental para la identificación de especies. La mayoría de los casos reportados de sarcocystosis muscular en cerdos en otras partes del mundo, corresponden a *S. suihominis* (Saleque y Bhatia, 1991; Solanki *et al.*, 1991; Freyre *et al.*, 1992). Aunque se determinó el diámetro de la pared de los quistes en los cortes histológicos de los quistes, no fue posible diferenciar con seguridad entre *S. suihominis* y *S. suicanis*.

REFERENCIAS

Dubey J, Speer C, Fayer R. 1989. Sarcocystosis of animals and man. Boca Raton, Fla: CRC Press Inc. 1-220.

Freyre A, Chifflet L, Méndez J. 1992. Sarcosporidian infection in pigs in Uruguay. *Vet Parasitol* 41(1-2):167-171.

Markus M. 1979. Antibodies to *Sarcocystis* in human sera. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 73(3):346.

Mehlhorn H, Heydorn A. 1978. The Sarcosporidia (Protozoa, Sporozoa): Life cycle and fine structure. *Adv Parasitol* 16:43-72.

Saleque A, Bhatia B. 1991. Prevalence of *Sarcocystis* in domestic pigs in India. *Vet Parasitol* 40(1-2):151-153.

Solanki P, Shrivastava H, Shah H. 1991. Prevalence of *Sarcocystis* in naturally infected pigs in Madhya Pradesh with an epidemiology explanation for the higher prevalence of *Sarcocystis suihominis*. *Indian J Anim Sci* 61(8):820-821.