

T 576.89  
3A13  
epi

BIBLIOTECA UCM



5305324774

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGÍA



EPIDEMIOLOGIA Y PATOGENIA DE  
LA SARCOCISTOSIS OVINA

Director de la tesis:  
Dr. D. José María Tarazona Vilas

M. del Mar Babin Vich

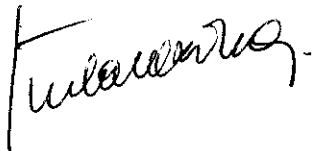
Madrid 1.991

R. 21.851

Tesis presentada por M. del Mar  
Babin Vich, para optar al grado de  
Doctor en Ciencias Biológicas por la  
Universidad Complutense de Madrid.

Esta tesis doctoral ha sido realizada  
en el Departamento de Sanidad Animal,  
del Centro de Investigación y Tecnología  
del Instituto Nacional de Investigaciones  
Agrarias, bajo la dirección del  
Dr. José María Tarazona Vilas.

Vº Bº



## **AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo ha sido posible realizarlo gracias a la ayuda de numerosas personas, y aunque sería imposible citarlas a todas quiero agradecer.

Al Dr. José Manuel Sánchez-Vizcaíno, a quien deseo expresar mi agradecimiento por su ayuda y colaboración.

A la Dra. Isabel Vázquez por su inestimable ayuda en la provocación del celo de los animales experimentales.

Al Dr. Tomás Gonzalez del Castillo por su colaboración y seguimiento del rebaño experimental en El Encin.

A los veterinarios del matadero Municipal de Guadalajara por su total disposición y gran ayuda en la recogida de muestras.

A Adolfo Rueda Zambrana por su colaboración y ayuda en la preparación de los cortes histológicos.

A Gloria Jiménez, Carmen Hernández, Javier Tomillo y Susana de Pedro, y en general a la sección de inmunología, por su colaboración en la realización de ésta tesis.

A los auxiliares de laboratorio M<sup>a</sup> Carmen Simón y Juan Tazón por su colaboración y ayuda.

A los Drs. Ana Canals y Javier Domínguez por su apoyo, sin el cual no hubiera finalizado éste trabajo.

Al Dr. Ignacio García Mas por la presentación de este trabajo ante la Facultad.

Por último al Dr. Tarazona Vilas, director de ésta tesis, por su paciencia para enseñarme la parasitología y por ofrecerme su total dedicación, interés y amistad.

A María, Ana Belén y Rocio  
A D. José María Tarazona

## INDICE

|  |    |
|--|----|
| 1. INTRODUCCION.....   | 1  |
| 1. OBJETIVOS.....  | 4  |
| 2. REVISION BIBLIOGRAFICA.....   | 6  |
| 3.1. Posición taxonómica y caracteres del<br>genero <u>Sarcocystis</u> ..... | 7  |
| 3.2. Especies parásitas de la oveja.....                                     | 8  |
| 3.2.1. <u>Sarcocystis tenella</u> .....                                      | 10 |
| 3.2.2. <u>Sarcocystis arieticanis</u> .....                                  | 10 |
| 3.2.3. <u>Sarcocystis gigantea</u> .....                                     | 10 |
| 3.2.4. <u>Sarcocystis medusiformis</u> .....                                 | 10 |
| 3.3. Ciclo biológico.....  | 11 |
| 3.4. Patología.....  | 14 |
| 3.4.1. Alteraciones morfológicas.....  | 14 |
| 3.4.1.1. En el hospedador definitivo.....                                    | 14 |
| 3.4.1.2. En el hospedador intermediario.....                                 | 15 |
| 3.4.2. Alteraciones fisiológicas.....  | 16 |
| 3.4.2.1. En el hospedador definitivo.....                                    | 16 |
| 3.4.2.2. En el hospedador intermediario.....                                 | 16 |
| 3.4.3. Sintomatología.....   | 19 |
| 3.4.3.1. En el hospedador definitivo.....                                    | 19 |
| 3.4.3.2. En el hospedador intermediario.....                                 | 19 |
| 3.4.3.2.1. Ovinos no gestantes.....  | 19 |
| 3.4.3.2.2. Ovinos gestantes.....   | 19 |
| 3.5. Epidemiología.....  | 21 |
| 3.5.1. Prevalencia.....  | 22 |
| 3.5.1.1. En España.....  | 22 |
| 3.5.1.2. En otros países.....  | 23 |
| 3.6. Aspectos inmunológicos.....   | 24 |
| 3.6.1. Respuesta humoral.....  | 24 |
| 3.6.2. Resistencia.....  | 24 |
| 3.6.3. Inmunodiagnóstico.....  | 25 |
| 4. MATERIAL Y METODOS.....   | 28 |
| 4.1. Animales de experimentación.....  | 29 |
| 4.2. Cubrición.....  | 29 |
| 4.3. Infestaciones experimentales.....                                       | 30 |
| 4.3.1. Hospedador definitivo.....  | 30 |
| 4.3.2. Hospedador intermediario.....   | 30 |
| 4.4. Hematología.....  | 31 |
| 4.5. Serología.....  | 31 |
| 4.5.1. Proteínas y proteinograma.....  | 31 |
| 4.5.2. Parámetros bioquímicos.....   | 32 |
| 4.6. Detección de anticuerpos.....   | 32 |
| 4.6.1. En la infestación experimental.....                                   | 32 |
| 4.6.2. En sueros de matadero.....  | 34 |
| 4.7. Análisis parasitológicos.....   | 35 |
| 4.7.1. En la infestación experimental.....                                   | 35 |
| 4.7.2. En muestras de matadero.....  | 36 |
| 5. RESULTADOS.....   | 37 |
| 5.1. Epidemiología.....  | 38 |
| 5.2. Patogenia.....  | 39 |
| 5.2.1. Hospedador definitivo.....  | 39 |
| 5.2.2. Hospedador intermediario.....   | 39 |
| 5.2.2.1. Desarrollo de la gestación.....                                     | 39 |
| 5.2.2.2. Hematología.....  | 40 |
| 5.2.2.2.1. Constantes hemáticas.....   | 40 |

|  |     |
|--|-----|
| 5.2.2.2.2. Índices hemáticos.....            | 41  |
| 5.2.2.3. Serología.....                      | 41  |
| 5.2.2.3.1. Proteínas y proteinograma...      | 41  |
| 5.2.2.3.2. Parámetros bioquímicos.....       | 43  |
| 5.2.2.3.3. Detección de anticuerpos....      | 44  |
| 5.2.2.4. Desarrollo de quistes musculares... | 45  |
| CUADROS TABLAS Y GRAFICAS.....               | 49  |
| 6. DISCUSSION.....                           | 106 |
| 6.1. Epidemiología.....                      | 107 |
| 6.2. Patogenia.....                          | 109 |
| 6.2.1. Hospedador definitivo.....            | 109 |
| 6.2.2. Hospedador intermediario.....         | 110 |
| 6.2.2.1. Desarrollo de la gestación.....     | 110 |
| 6.2.2.2. Hematología.....                    | 112 |
| 6.2.2.3. Serología.....                      | 115 |
| 6.2.2.3.1. Proteínas y proteinograma...      | 115 |
| 6.2.2.3.2. Parámetros bioquímicos.....       | 116 |
| 6.2.2.3.3. Desarrollo de anticuerpos...      | 119 |
| 6.2.2.4. Desarrollo de quistes musculares... | 120 |
| 7. CONCLUSIONES.....                         | 122 |
| 8. BIBLIOGRAFIA.....                         | 124 |

## **ABREVIATURAS**

**B.U.N.:** Nitrógeno ureico en sangre  
**C.C.M.H.:** Contenido corpuscular medio de hemoglobina  
**d.p.i.:** Días post-inoculación  
**ELISA:** Enzimoimmunoensayo  
**F.A.:** Fosfatasa alcalina  
**G.O.T.:** Glutámico oxalacético transaminasa  
**H.A.I.:** Hemaglutinación indirecta  
**Hb:** Hemoglobina  
**H.C.M.:** Hemoglobina corpuscular media  
**Hcto.:** Hematrocito  
**IFI:** Inmunofluorescencia indirecta  
**L.D.H.:** Láctico deshidrogenasa  
**Macro:** Macroquiste  
**Micro:** Microquiste  
**m.p.i.:** Meses post-inoculación  
**s.p.i.:** Semanas post-inoculación  
**V.C.M.:** Volumen corpuscular medio



## 1. INTRODUCCION

## 1. INTRODUCCION

España posee el 11,5% de los efectivos ovinos europeos (exceptuando a la URSS), y el 19% de los efectivos totales del área del Mercado Común, siendo el segundo país, después de Inglaterra, en cuanto a censo de ovinos dentro de la CEE, con un número total de animales en 1988 de 18.575.907 (Bol. Ofic. Estad., MAPA, Junio 1989), de los que el 21% (3,8 millones) corresponde a animales menores de un año, que pueden considerarse de reposición, y el 78% (13,7 millones) a ganado adulto. De estos un 3% son machos y un 97% hembras, siendo la prolificidad media global de los ovinos españoles de 1,1 corderos por oveja y año en las explotaciones con paridera continua (1).

La importancia económica de este censo ovino es tal, que en el año 1984 el valor de la producción por éste concepto fue de 101.693 millones de pesetas, a los que habría que sumar otro tipo de aportaciones de índole económico y social.

Sin embargo hay dos factores que inciden desfavorablemente sobre la productividad, como son el estado sanitario general del rebaño y las enfermedades que se desarrollan en sus individuos, siendo un hecho totalmente aceptado, que para conseguir la producción óptima es necesaria la prevención de enfermedades, más que el tratamiento curativo del ganado.

Una de las mayores causas de pérdidas en la producción, en lo que a enfermedades se refiere, viene determinada por los agentes infecciosos productores de abortos, encontrándose clásicamente entre ellos como causas directas diversos virus, rickettsias, hongos, bacterias y protozoos. No es hasta el año 1978 cuando se constata experimentalmente que, además de T. gondii, otro esporozoo perteneciente al género Sarcocystis, debe incluirse en la lista anterior como agente causal de aborto ovino. La dificultad de encontrar Sarcocystis en tejidos y membranas fetales, la falta de lesiones patognomónicas y la dificultad de relacionar los signos clínicos con una enfermedad específica han sido las causas de la tardía identificación de la acción patógena de estas especies. Sin embargo la severidad demostrada experimentalmente, en el desarrollo clínico de la enfermedad, hace suponer que la importancia económica de ésta parasitosis podría ser mucho mayor de la que se le ha dado hasta el momento, tanto desde el punto de vista de enfermedad en animales no gestantes, como de agente abortivo en animales gestantes.

En España se han hecho importantes aportaciones al conocimiento biológico y ultraestructural, tanto de especies conocidas como de otras nuevas del género Sarcocystis (2, 3, 4, 5), y también encuestas de prevalencia (6, 7, 8, 9, 10). Pero en el orden clínico-patológico carecemos totalmente de información propia, ya que las formas graves han pasado inadvertidas, como ocurrió en otros países hasta mitad de los

años 70.

No se ha realizado en nuestro país ningún trabajo sobre Sarcocystis con ovejas reproductoras que permita determinar que alteraciones fisiopatológicas se producen en las ovejas gestantes, si la parasitación influye en el desarrollo fetal y neonatal y si la elevada prevalencia observada puede relacionarse con procesos abortivos o de otro matiz. Resultados de este tipo permitirían conocer si la sarcocistosis es una parasitosis importante en lo que a pérdidas en la producción ovina de nuestro país se refiere y si necesita ser combatida con mayor rigor del que hasta ahora se ha hecho.

Tampoco hemos encontrado en la bibliografía española trabajos experimentales que estudien el comportamiento inmunitario frente a la infestación en las ovejas gestantes. La obtención de datos de éste tipo podría aclarar si existe alguna relación entre título de anticuerpos en suero y producción ó no de abortos y síntomas clínicos.

Por último y a pesar de que la prevalencia de Sarcocystis ha sido uno de los aspectos más estudiados en nuestro país, únicamente hemos encontrado un trabajo (9) en el que se determinara la incidencia de la parasitación en dos órganos distintos de la oveja, clásicamente estos órganos han sido esófago y diafragma quizás porque en ellos se localizan especies productoras tanto de macro como de microquistes. El estudio de órganos musculares susceptibles de ser parásitados únicamente por microquistes, además de los anteriormente citados, permitiría conocer la frecuencia de parasitación de estos, lo que sería importante desde el punto de vista epidemiológico.

## **2. OBJETIVOS**

## 2. OBJETIVOS

Los objetivos planteados en esta tesis son:

- 1.- El estudio de la prevalencia de la parasitación por microquistes de sarcocystis en los ovinos de nuestro entorno geográfico próximo, con el fin de aportar nuevos datos sobre la incidencia de la parasitación en zonas hasta ahora no muestreadas de nuestro país.
- 2.- La determinación de la intensidad de parasitación de las especies productoras de microquistes en órganos susceptibles de ser parasitados por macro y microquistes (esófago y diafragma), frente a otros en los que únicamente se localizan especies productoras de microquistes (lengua y corazón).
- 3.- El análisis de la fiabilidad de la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) como método de diagnóstico rápido en encuestas de prevalencia frente a la digestión muscular.
- 4.- El estudio morfológico e identificación de las especies productoras de microquistes mediante inoculaciones experimentales en el hospedador intermediario, especies ya descritas en la bibliografía extranjera pero sobre las que aún no se ha investigado en España.
- 5.- El estudio de alteraciones fisiopatológicas, hematológicas y serológicas, producidas en ovejas gestantes de dos a seis años de edad, con o sin infestaciones previas, cuando se infestan experimentalmente al principio, a la mitad y al final de la gestación, y su relación con los resultados de paridera obtenidos, con el fin de hacer una aproximación lo más real posible de lo que ocurre en la naturaleza entre parásito y hospedador intermediario.

### **3. REVISION BIBLIOGRAFICA**

### 3. REVISION BIBLIOGRAFICA

#### 3.1. POSICION TAXONOMICA Y CARACTERES DEL GENERO SARCOCYSTIS

Miescher (11) fué el primero en describir túbulos, que recibirían su nombre, en el músculo esquelético del ratón común, Mus musculus. Estos "Túbulos de Miescher" (protozoos del género Sarcocystis), cuando estaban maduros contenían gran número de organismos de estructura similar.

Kuhn (12) encontró los túbulos de Miescher en el cerdo, y les dió el nombre de Synchytrium miescherianum, siendo Leiserung (13) el primero en describir quistes macroscópicos en el esófago de la oveja (Balbiana). Hasta 1882 éstos quistes recibieron además los nombres de psorospermas y esporas o corpúsculos de Rainey.

En 1879 Leucart (14) creó la clase Sporozoa (protozoos formados de esporas), incluyendo en ella a los gregarinidos de invertebrados y los coccidios de vertebrados, con el género Sarcocystis dentro de estos últimos.

Al mismo tiempo Burschli (15) y Balbiani (16) establecieron el orden Sarcosporidia y Lankaster (17) introdujo el nombre de Sarcocystis y consideró al parásito como un esporozoo.

En años sucesivos el género Sarcocystis se incluyó dentro de los Cnidosporidios (18), Acnidosporidios (19), hongos dentro del género Aspergillus (20) ó Sporozoos (21, 22), en el hospedador intermediario, ó bien dentro del género Isoospora en el hospedador definitivo (23), siendo incierta durante mucho tiempo por un lado la posición taxonómica de Sarcocystis, y por otro la relación que existía entre las fases parásitas observadas en carnívoros y herbívoros.

Gracias a los trabajos de microscopía electrónica (24), se pudo observar en los esporozoos ciertas estructuras como el conoide, el anillo polar y microtúbulos subpelliculares. Además con anterioridad se había comprobado que los zoitos de Sarcocystis una vez separados del quiste eran móviles y autónomos (25). Estos hechos junto con el gran parecido observado entre los merozoitos de Eimeria y Toxoplasma gondii (éste de ciclo entonces desconocido) (26) y entre Sarcocystis y Toxoplasma (27) permitieron definir a los protozoos de la clase Sporozoa, no en base a la formación de esporas (ó esporoquistes) como se había hecho hasta entonces, sino en base a una serie de estructuras nuevas comunes a todos ellos como el conoide, anillo polar, filamentos, rhoptrías, etc., proponiéndose por esta razón una denominación común a todos bajo el nombre de Apicomplexa (28).

Cuatro años después (29) se les incluye dentro del Suborden Eimeriorina (30), debido a que en el hospedador intermediario suele producirse reproducción asexual múltiple por endodiogenia.

Hoy día el género Sarcocystis ha quedado incluido en la subfamilia Sarcocystinae de la familia Sarcocystidae del

suborden Eimeriorina, orden Eucoccidiorida, subclase Coccidiasina, clase Sporozoasida y Phylum Apicomplexa (31).

En el año 1972 Fayer (32) cultivó esporas de los "Túbulos de Miescher", obteniendo estadios asexuados del parásito que demostraban su naturaleza coccidiana, y Rommel y col. (33), Heydorn y Rommel (34, 35) y Rommel y Heydorn (36) lo comprueban in vivo, al demostrar que el ciclo biológico se establece de forma obligada en dos hospedadores, el definitivo un depredador, y el intermediario un herbívoro presa habitual del primero. La transferencia entre ambos hospedadores se realiza en el suelo mediante esporoquistes.

Las distintas fases del ciclo biológico (esporozoitos, merozoitos, etc.) capaces de penetrar células del hospedador, poseen en el extremo anterior uno ó varios anillos polares, un conoide formado por microtúbulos enrollados en espiral en un ángulo de 45°, rhoptrias ó cuerpos cilíndricos que parecen desembocar en el extremo anterior a través del conoide, micronemas, 22 microtúbulos sudpeliculares que van desde el anillo polar anterior a un anillo polar posterior, y que forman el esqueleto fibrilar que origina la constancia morfológica en éste grupo de protozoos, el complejo de membrana formado por tres unidades de membrana, cada una con dos capas electrodensas separadas por un espacio claro, micropilos, etc., además de las estructuras celulares clásicas como núcleo con el nucleolo y cromosomas, ribosomas, retículo endoplásmico etc. (24, 25, 37).

El ciclo biológico es haplobiontico con una breve fase diploica el ooquiste, que mediante la esporulación proceso consistente en dos o más mitosis sucesivas en las que en las dos primeras debe producirse la meiosis, da origen a esporoquistes y esporozoitos con constitución haploide, los cuales en el hospedador intermediario se reproducen asexualmente por endodiogenia de forma múltiple, para dar lugar a quistes en el tejido muscular, donde se almacenan gran número de cistozoitos infestivos para el hospedador definitivo que se infesta por depredación (34, 35, 36).

### 3.2. ESPECIES PARASITAS DE LA OVEJA

En el año 1974 Ford (38) establece el ciclo completo de los microquistes de la oveja, confirmando al perro como el hospedador final de S. tenella, y Munday y Rickard (39) demuestran que quistes macroscópicos infestan gatos pero no perros y quistes microscópicos son infestivos para el perro pero no para el gato, lo que desmentía la idea original de que los distintos quistes musculares observados en un mismo hospedador intermediario, eran distintas fases del desarrollo de una única especie de Sarcocystis, y se confirmaba que el herbívoro podía ser hospedador de más de una especie de Sarcocystis (40).

Una vez demostrado un ciclo heteroxeno para el género Sarcocystis, y diversidad de especies para ambos hospedadores, se hizo necesaria una reclasificación de las

especies, ya que en la mayoría de los casos un mismo parásito recibía en el hospedador definitivo el nombre genérico de Isospora y en el intermediario el de Sarcocystis, así Heydorn y col. (41) introducen una nueva serie de denominaciones, basada en los nombres latinos de los hospedadores intermediario y definitivo del protozoo, que si bien presentaba la ventaja de ser clarificadora en cuanto a los hospedadores de una especie determinada, tenía el inconveniente de no respetar las normas del Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (42, 43). Esta clasificación fue aceptada por otros autores, aunque de ésta manera se dieran dos ó incluso más nombres diferentes a una misma especie.

Otras clasificaciones se hicieron atendiendo a la ultraestructura de la pared de Sarcocystis (44, 45), sin embargo aunque la ultraestructura de la pared primaria es característica de cada especie, se ha demostrado que la morfología de ésta, no puede utilizarse como criterio absoluto para la diferenciación de las especies (40, 46).

Otros autores clasificaron las especies aceptando de antemano una especificidad estricta en el hospedador intermediario (44, 47, 48).

Por otra parte, se ha comprobado que en ocasiones el hospedador definitivo puede comportarse como intermediario habiéndose detectado la fase muscular del parásito tanto en el gato como en el perro (49, 50, 51, 52).

Basándose en patrones electroforéticos y estudios isoenzimáticos, que se vienen haciendo en ésta última década, para la caracterización genética de distintos aislados de Sarcocystis (53, 54, 55, 56, 57), y a estudios morfológicos de la pared quística (46, 54, 58, 59), se han definido dos especies infestivas para la oveja transmitidas por el perro, S. arieticanis y S. tenella, ambas patógenas para el cordero, y dos especies apatógenas transmitidas por el gato, S. gigantea y S. medusiformis (31).

Dado que en la bibliografía consultada se observa con mucha frecuencia, que mientras para unos autores S. tenella, produce macroquistes en el hospedador intermediario, mientras que para otros es productora de microquistes y al mismo tiempo cuando se describen infestaciones experimentales en ovinos con carne parasitada con microquistes, unos autores hablan de S. tenella y otros de S. ovicanis, creemos necesario describir la morfología y características de los quistes que cada una de estas especies origina en el hospedador intermediario, primero porque han sido algunos de los criterios utilizados en la clasificación de las especies ovinas, y segundo porque será esta la terminología utilizada en este trabajo.

En el cuadro 1 se resumen las características principales de las cuatro especies que parasitan la oveja.

### 3.2.1. SARCOCYSTIS TENELLA

S. tenella presenta perforaciones regulares de la membrana primaria del quiste, formando protuberancias a modo de estacas (41, 54, 58, 60, 61). Estas protuberancias miden según los distintos autores, 2-4 x 0,6-0,9 micras (41,60), 2,3 x 0,5-1,0 micras (54), ó unas 3,5 micras de longitud (58, 61). Al microscópio óptico estas protuberancias dan a la pared la apariencia de estar estriada. En los quistes más jóvenes las protuberancias son circulares, mientras que en los viejos son poligonales (61).

El tamaño de los esporoquistes en esta especie es de 12,8-15,0 x 9-9,8 micras (62).

El quiste ya desarrollado tiene un tamaño menor de 100 micras (54).

### 3.2.2. SARCOCYSTIS ARIETICANIS

En el caso de S. arieticanis, los estudios hechos por Erber (63), O'Donoghue y col. (54) y Heydorn y Mehlhorn (59), han puesto de manifiesto que la pared quística primaria de los quistes maduros es delgada y uniforme, con protuberancias en forma de pelos, plegados en su parte superior, de forma que en cortes vistos al microscópio electrónico la impresión es de uniformidad. La longitud individual de cada protuberancia medida en la extremidad del quiste, es de aproximadamente 11 micras con un diámetro máximo de 0,8 micras, siendo más cortas en la región media de los quistes (59), mientras que O'Donoghue y col. (54) hablan de protuberancias de 2 a 3,5 micras de longitud, con una anchura máxima de 0,5 micras, y Boch y col. (60) y Erber (63), hablan de prolongaciones de 5 a 11 x 0,5 micras.

Los esporoquistes miden 15,0-16,5 x 9,8-10,5 micras (64).

El tamaño del quiste desarrollado y maduro es de 300-650 x 20-50 micras (63).

### 3.2.3. SARCOCYSTIS GIGANTEA

Para S. gigantea se ha descrito una gruesa pared quística primaria con protuberancias irregulares en forma de coliflor, en cuyo interior hay microtúbulos, se caracteriza así mismo por el desarrollo de una pared quística secundaria formada por un lecho de material fibrilar que contiene tejido conectivo y colágeno (45, 46, 54, 61).

Esta especie forma quistes mayores de 1000 micras según O'Donoghue y col. (54), ó bien entre 2-5 x 4,5-7,5 mm según Munday y Obendorf (46).

### 3.2.4. SARCOCYSTIS MEDUSIFORMIS

Por último los macroquistes de S. medusiformis se caracterizan por ser pequeños quistes, que miden 0,5 x 4 mm (54, 65), en cuya pared primaria se forman protuberancias a modo de filamentos siempre lisos. Otra característica de esta especie, que la diferencia de la anterior, es que el quiste

nunca presenta pared secundaria (45, 54, 65, 66).

### 3.3. CICLO BIOLÓGICO

A pesar de los años transcurridos desde que se tuvo conocimiento del ciclo biológico de Sarcocystis, la terminología que durante éste tiempo se ha venido usando para nombrar los distintos estadios del ciclo es muy heterogénea, haciéndose necesario clarificar los términos que se han utilizado para definir las distintas fases del ciclo.

**MEROZOITO:** Estadio parasitario libre en la circulación sanguínea del hospedador intermediario, ó dentro de células endoteliales, originado a partir de la ingestión del esporozoito (cuando es de primera generación) ó a partir del esquizonte (cuando es de segunda ó tercera generación) (31, 40, 67, 68).

**ESQUIZONTE:** Originados a partir de los merozoitos de primera generación, originan a su vez merozoitos de segunda generación, que dan lugar a esquizontes de segunda generación (40, 64, 67). Otros autores dan indistintamente el nombre de esquizonte ó meronte a ésta fase del ciclo (69) y aún otros los nombran como merozoitos ó taquizoitos (31).

**METROCITO:** Se localiza siempre dentro del quiste muscular cuando éste empieza a desarrollarse, tiene forma redondeada y se origina a partir de la última generación de esquizontes (40, 63, 65, 67, 68, 70, 71).

Se le llama también taquizoito (72), célula madre (70) y cistozoito (64).

**CISTOZOITO:** Se forman a partir de los metrocitos dentro del quiste, tienen forma de banana, y son característicos del quiste ya desarrollado (63, 64).

Otros autores los nombran como merozoitos (40, 67, 71) y bradizoitos (68, 72).

**SARCOCYSTIS:** Nombre dado al quiste muscular, ya sea macro ó microscópico. En su interior se encuentran los metrocitos y/ó cistozoitos (65, 68).

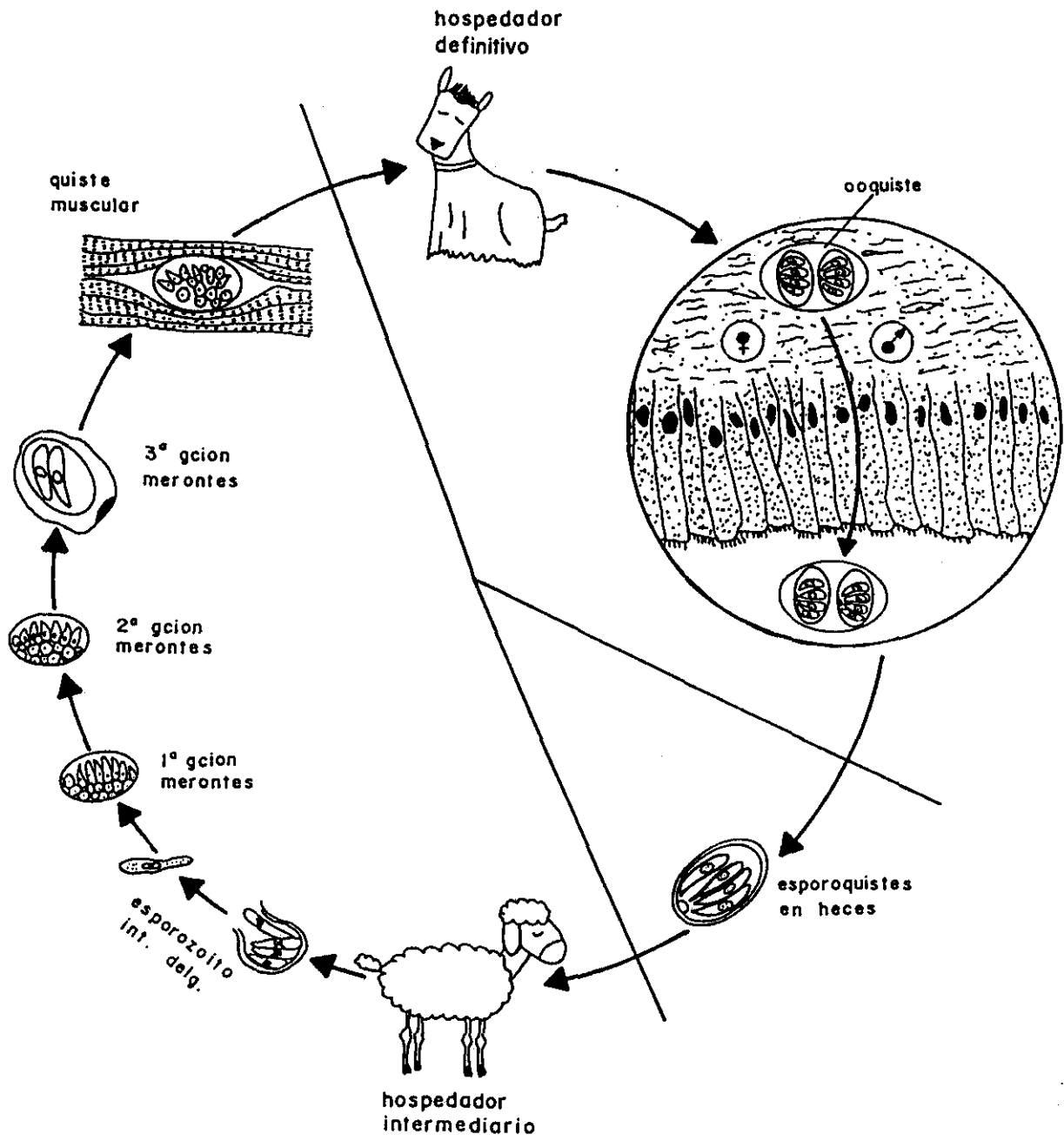
Los nombres dados a las fases de desarrollo en el hospedador definitivo, se corresponden con los utilizados en la clase Sporozoa: gametos (micro y macro) originados a partir de los cistozoitos, ooquiste (cigoto), esporoquiste y esporozoito (70).

El ciclo biológico de Sarcocystis (esquema 1), ha evolucionado para adaptarse a las relaciones depredador-presa que existen entre sus hospedadores, ambos vertebrados, con multiplicación asexual en la presa y sexual en el intestino del depredador.

En general las especies de Sarcocystis que parasitan la oveja, son específicas para su hospedador intermediario (64, 73, 74), sin embargo no ocurre lo mismo con el definitivo, habiéndose confirmado además de el perro, al lobo (75, 76, 77) y al coyote (68, 78, 79) como hospedadores definitivos de las especies que parasitan la oveja.

Cuando el hospedador definitivo ingiere carne infestada,

ESQUEMA 1



CICLO BIOLÓGICO DE SARCOCYSTIS

los cistozoitos alcanzan el intestino, (40, 68, 75, 80) desarrollándose a micro y macro gametocitos sin que ocurra esquizogonia. Los macrogametos una vez fecundados, y por un proceso de esporogonia van a dar lugar a la formación de ooquistes, que no presentan micropilo ni cuerpo de Stieda. La pared del ooquiste en el género Sarcocystis es muy frágil en el estadio esporulado, y como consecuencia de su rotura en la pared intestinal los esporoquistes se eliminan libres en las heces, cada esporoquiste contiene cuatro esporozoitos con forma de banana y un cuerpo residual.

Los esporoquistes son ingeridos por el hospedador intermediario (oveja), en el que el desarrollo se realiza en dos fases: primero una multiplicación extraintestinal, y segundo la formación de quistes en la musculatura.

La exquistación de los esporoquistes ocurre en el abomaso y la primera parte del intestino delgado (81), los esporozoitos penetran entonces el intestino delgado, encontrándose en el revestimiento endotelial de las arterias en muchos de los tejidos, pero especialmente el linfoide, el tracto gastrointestinal y el músculo esquelético (62).

El primer estadio del desarrollo, se origina por una división nuclear extensiva (endopoligenia) que da lugar a esquizontes de primera generación (64, 68), que según los distintos autores se detectan desde los 6 a los 19 días post-infestación (d.p.i.) en el caso de S. tenella (62, 64, 68), y entre los 14 a 19 d.p.i. en el caso de S. arieticanis (64).

Los merozoitos originados a partir de los esquizontes de primera generación se han detectado en células endoteliales ó subendoteliales de pequeñas arterias y arteriolas, y con menos frecuencia en células endoteliales de capilares, siendo los órganos más afectados por la parasitación, los ganglios linfáticos mesentéricos, el riñón, bazo y la musculatura cardíaca y esquelética (64, 68). Las células parasitadas son células epiteliales, macrófagos o células mononucleares.

Una vez los merozoitos en su célula hospedadora, se multiplican por endopoligenia para dar lugar a los esquizontes de segunda generación, no conociéndose el número de divisiones que tienen lugar antes de que se origine ésta segunda generación. Todos los autores coinciden en señalar el riñón (dentro y fuera del glomérulo) y los ganglios linfáticos, (viscerales y mesentéricos) como los órganos más parasitados por ésta segunda generación de esquizontes, en el caso de S. tenella, mientras que S. arieticanis se ha detectado en células endoteliales de los capilares de diferentes órganos, pero con más frecuencia en el tejido muscular cardíaco y estriado, no habiéndose detectado esquizontes de esta especie en los riñones (64).

Algunos autores (69, 82), describen una tercera generación de esquizontes cuya división tiene lugar dentro de células fagocíticas, habiéndoseles encontrado también dentro de linfocitos.

La segunda y/ó la tercera generación de esquizontes

abandonan el sistema endotelial y penetran en células musculares ó en el tejido nervioso de una gran cantidad de órganos, empezando a encontrarse S. tenella, S. arieticanis y S. gigantea inmaduros entre las 4 a 6 semanas post-infestación (s.p.i.) (40, 46, 64, 65, 68, 81), mientras que Obendorf y Munday (65) encuentran S. medusiformis inmaduros a los 6 meses post-infestación (m.p.i.).

El quiste en los primeros estadios del desarrollo contiene metrocitos globulares y cistozoitos más alargados con forma de banana, considerándose el metrocito como una característica del quiste en desarrollo. Este está menos diferenciado que el cistozoito maduro y se reproduce por endodiogenia, no siendo infestivo para el hospedador definitivo. A los tres meses hay muy pocos metrocitos, situados exclusivamente en la periferia del quiste, y gran cantidad de cistozoitos, siendo el quiste infestivo para el hospedador definitivo, (71, 80, 83) y representando el estadio de desarrollo pregametocítico (48).

El desarrollo de los quistes de las especies transmitidas por el gato es más lento, de forma que a los cuatro meses el quiste contiene algunos cistozoitos, a los 8 meses y medio aún hay metrocitos y hasta los 14 m.p.i. no son infestivos para el hospedador definitivo (46, 65, 84).

### 3.4. PATOLOGIA

Dos son las especies, S. tenella y S. arieticanis para las cuales se ha demostrado experimentalmente su efecto patógeno en los ovinos. En las infestaciones por éstas especies la severidad de la enfermedad, la intensidad del proceso patógeno y el grado de cambios clínico-patológicos está estrechamente relacionado con el número de organismos infestivos (85), de forma que hoy día se le da el nombre de coccidiosis (86) a la infestación del hospedador definitivo, mientras que en el hospedador intermediario se pueden dar dos formas de parasitismo: sarcosporidiosis (87), que indica la presencia de quistes en el tejido muscular y sarcocistosis (88, 89), definida por una condición clínica aguda determinada por las fases parasitarias previas a la formación de los quistes.

El curso de la enfermedad es mas severo en animales que no han tenido una exposición previa; en animales expuestos previamente a dosis infestivas bajas; ó en animales en los que la infestación coincide con la preñez (81).

Distintos estudios han demostrado la falta de patogenidad para las dos especies que forman macroquistes, y que se transmiten por el gato (65, 84, 90, 91).

#### 3.4.1. ALTERACIONES MORFOLOGICAS

##### 3.4.1.1. HOSPEDADOR DEFINITIVO

En el hospedador definitivo únicamente se ha descrito inflamación catarral aguda, cuando los hospedadores no habían

alcanzado los tres meses de vida, e ingerían gran cantidad de carne parasitada (92, 93). Por el contrario otros autores no han detectado alteraciones morfológicas, aún cuando el número de quistes musculares ingeridos sea grande (44, 94, 95, 96).

#### 3.4.1.2. HOSPEDADOR INTERMEDIARIO

A pesar de que desde principios de siglo distintos autores habían atribuido un efecto patógeno a Sarcocystis (97, 98, 99, 100), hasta los años 70 no se estudia experimentalmente la patología producida por estas especies. A estos estudios contribuyeron dos hechos importantes, el desarrollo del parásito mediante cultivos in vitro (101) y la detección de la fase sexuada del ciclo en el intestino del depredador (33, 34, 35), lo que completaba el conocimiento del ciclo biológico.

El examen post-mortem del hospedador intermediario, infestado con esporoquistes de Sarcocystis, muestra petequias y hemorragia de la capa serosa a través de todo el tracto gastrointestinal, en el mesenterio y la vejiga urinaria (85, 102, 103).

Los ganglios linfáticos mesentéricos, se presentan hemorrágicos, edematosos y aumentados de tamaño, lo mismo ocurre con las glándulas adrenales. El órgano más hemorrágico es el corazón, que debido a ello presenta un color entre rojo oscuro y negro, mientras que el hígado y el riñón tienen apariencia normal (104, 85).

A nivel histopatológico, el corazón y otros músculos estriados, presentan edema, e infiltración de células inflamatorias (linfocitos y macrófagos) en el tejido conectivo intermuscular (85, 102). Estas células causan aumento del grosor del tejido conectivo y desorganización de las fibras musculares (85).

Los primeros cambios musculares observados, son pancarditis y miositis hemorrágica, siendo el corazón, el esófago, el diafragma y la lengua los órganos más afectados. Las alteraciones vasculares en estos órganos, incluyen el desarrollo de esquizontes en células endoteliales, la destrucción de la túnica íntima vasorum, y la vacuolización y separación de células musculares, acompañado de una infiltración leucocítica en la túnica media (71, 85, 103). En pequeños vasos y capilares, se ha observado la oclusión de la luz del vaso total ó parcialmente, por células endoteliales parasitadas (85, 102).

En el riñón se aprecian grandes trastornos estructurales, observándose esquizontes dentro de células endoteliales del glomérulo, que originan glomerulonefritis difusa (85). Los cambios inflamatorios en este órgano, se caracterizan por un aumento de células linfoides y epiteloides y de las paredes de los capilares del glomérulo. Hay secuestro de linfocitos y monocitos quedando alojados en la luz de los capilares. El intersticio renal contiene pequeños agregados de células linfoides que se localizan

adyacentes a los vasos ó al glomérulo (85, 93, 102).

El bazo, ganglios linfáticos, pulmón e intestino, se presentan hemorrágicos, edematosos y congestionados. En estos órganos, los esquizontes se observan en células reticuloendoteliales y del endotelio vascular (85).

En el intestino, también se observa hemorragia y congestión multifocal. En la submucosa se detecta edema y extravasación de eritrocitos, así como infiltración de células mononucleares; sin embargo no se observan cambios necrotizantes. Cambios similares se ven también, en la lengua y el esófago (85).

También se localizan esquizontes dentro de células endoteliales de los vasos del hígado y el nervio óptico (85).

Igualmente se desarrollan esquizontes en células cerebrales y en médula espinal, que dan lugar a manifestaciones neurológicas (105, 106, 107), produciéndose encefalomiелitis caracterizada por una reacción no inflamatoria alrededor del quiste, que se acompaña de neurofagia y gliosis focal (80, 102, 107, 108).

Después de la maduración del quiste, en las miofibrillas parasitadas hay invasión de macrófagos fagocíticos y linfocitos, lo que produce destrucción de miocitos y del estroma. Todo ello da lugar a la degeneración de los quistes, pudiendo llegar a repararse las fibras musculares. Otras veces quistes que han degenerado, promueven una respuesta inflamatoria local con la formación de granulomas que tienen en su interior Sarcocystis muertos (93, 108, 109, 110, 111, 112).

Aunque éste proceso haga que se reduzca el número de quistes, algunos de ellos permanecen viables (108).

### **3.4.2. ALTERACIONES FISIOLÓGICAS**

#### **3.4.2.1. EN EL HOSPEDADOR DEFINITIVO**

La mayoría de los autores coinciden en señalar la falta de alteraciones fisiológicas en el hospedador definitivo infestado con microquistes (44) ó con macroquistes (90).

#### **3.4.2.2. EN EL HOSPEDADOR INTERMEDIARIO**

A pesar de que Salomón (100) y Scott (113) mencionan que se produce anemia e infiltración de eosinófilos en ovinos parasitados por Sarcocystis, hasta mediados de los años 70 no se realizan inoculaciones experimentales de corderos (80, 85, 103, 114) y de ovejas preñadas (104, 115, 116), que demuestran que el daño muscular, que origina el parásito, y las lesiones que se producen en corazón, hígado y riñón tienen una gran repercusión en las constantes fisiológicas, pudiendo conducir a la muerte de corderos (88, 104) y de ovejas preñadas (115, 116).

### **HEMOGRAMA**

Los primeros estudios hemáticos, que se realizan

mediante inoculación experimental de ovinos con S. tenella, son de Gestrich y col. (103), Munday y col. (80), Heydorn y Gestrich (71) y Leek y col. (85). En ellos se pone de manifiesto la anemia en la infestación, (microcítica e hipocrómica para los últimos autores citados), caracterizada por una fuerte reducción de los valores de hematocrito, hemoglobina y número de eritrocitos. Estos hallazgos reflejan la naturaleza hemorrágica aguda de la sarcocistosis, cuando los corderos se infestan con gran número de esporoquistes.

Dosis de inóculo bajas (entre 5.000 y 20.000 esporoquistes) de S. tenella, producen en los corderos un descenso del valor de hematocrito entre las 4 a las 5 s.p.i. Hacia la séptima semana empieza una lenta recuperación (115, 117, 118), siendo esta total dos meses después del comienzo de la anemia (119, 120).

Por el contrario Erber (63), no detecta alteración de ningún valor hemático en ovejas inoculadas con 15.000 y 60.000 esporoquistes de S. tenella.

Dosis infestivas de más de 50.000 esporoquistes producen un rápido descenso del hematocrito, del número de eritrocitos y de hemoglobina hacia los 25 d.p.i., disminuyendo el valor de hematocrito de un 30% a un 14-15% (63, 88, 119), ó bien a dos tercios de su valor en infestaciones menos severas, tardándose unos dos meses en recuperar los valores preinoculación (88), mientras que el volumen corpuscular medio, y la concentración media de hemoglobina corpuscular no se alteran significativamente, lo que determina que la anemia se describa como normocítica y normocrómica (88, 108, 120, 121), habiéndose encontrado una relación directa entre la anemia que el parásito origina y la dosis infestiva (115).

Las posibles causas productoras de anemia se han interpretado de forma diferente según los distintos autores. Para Dubey (102) la enfermedad aguda tendría su origen en el colapso de los capilares infestados, como consecuencia de la liberación de la primera generación de merozoitos, lo que originaría la pérdida de sangre sin que a nivel histológico se pueda observar daño o trauma en los vasos sanguíneos. Sin embargo en la mayoría de trabajos consultados, y para todos los hospedadores intermediarios, la anemia se explica como resultado directo del daño producido por la segunda generación de merozoitos en el endotelio vascular (81, 108, 122, 123).

A pesar de haberse supuesto que los metabolitos liberados por los merozoitos en el hospedador sensibilizado podrían ser un factor desencadenante de anemia, ovejas a las que se les transfundió con sangre infestada, permanecieron clínicamente normales (124).

El número de leucocitos aumenta hacia los 31 d.p.i. con dosis altas de esporoquistes, permaneciendo elevados los glóbulos blancos hasta al menos 4 meses después de la infestación. Se observa sobre todo un incremento de neutrófilos circulantes y una disminución de linfocitos (88).

Entre los 31 a 45 y 91 a 99 d.p.i., se detecta una elevación del número de leucocitos con dosis de 20.000 esporoquistes, que se ha asociado al aumento del número de linfocitos circulantes (120).

Entre los 26 y 40 d.p.i. se observa aumento del tiempo de protombina y disminución del número de plaquetas. También se ha observado presencia de productos de degradación de la fibrina de los 25 a los 60 d.p.i. en el plasma de los corderos (88).

Corderas preñadas inoculadas con Sarcocystis (S.ovicanis ó S.tenella, según los distintos autores), muestran prácticamente las mismas alteraciones a igual dosis infestiva (104, 115, 125).

Entre las 5 a 9 s.p.i., hay una rápida disminución de los valores hemáticos, produciéndose la muerte de las corderas preñadas con dosis superiores a 500.000 esporoquistes de S. ovicanis (115, 125).

#### **PROTEINOGRAMA**

Dosis de inóculo iguales ó superiores a 5.000 esporoquistes de Sarcocystis (S.ovicanis ó S.tenella, según los distintos autores) producen diferencias significativas en la concentración de proteína (85, 88, 118, 120), detectándose a partir de los 21 d.p.i. un brusco descenso de éste valor sérico, que en el caso de ovejas preñadas se mantiene hasta los 42 d.p.i. (104).

El valor de proteína total empieza a recuperarse después de la fase aguda de la enfermedad, llegando a valores superiores a los normales a los 42 d.p.i. (104, 118).

Entre los 30 a 90 d.p.i. se detecta disminución de la albúmina y aumento de las globulinas (88, 120).

#### **PARAMETROS BIOQUIMICOS**

En el caso de corderos inoculados con Sarcocystis (S.ovicanis ó S.tenella, según los distintos autores) se han obtenido resultados contradictorios, según el inóculo infestivo. Así para unos autores hay disminución, hacia los 27 d.p.i., de las concentraciones de Na, K, Cl, P y urea y el valor de glucosa y creatinina aumentan (88), y para otros la bilirrubina y urea aumentan considerablemente, mientras que los valores séricos de glucosa, Ca, Na, y Cl disminuyen y los índices de K, Mg y P se mantienen normales (95).

A nivel enzimático se ha descrito disminución en los niveles de fosfatasa alcalina, hacia los 25 d.p.i., aunque el inóculo infestivo sea muy bajo (88, 120).

Entre los 25 a 40 d.p.i. empieza a subir el valor de creatinina kinasa, láctico deshidrogenasa, glutámico oxalacético transaminasa, y sorbitol deshidrogenasa (88, 95, 118, 120).

### 3.4.3. SINTOMATOLOGIA

#### 3.4.3.1. EN EL HOSPEDADOR DEFINITIVO

En el hospedador definitivo se ha descrito la aparición ocasional de vómitos y la falta de apetito durante uno ó dos días, cuando el perro ingiere gran cantidad de carne parasitada con microquistes (93, 96), ó bien toxicosis, anorexia, fiebre y desórdenes nerviosos (92).

#### 3.4.3.2. EN EL HOSPEDADOR INTERMEDIARIO

Dosis de 5.000 esporoquistes de S. tenella se toman como indicativas de infestación subclínica, de 20.000 como infestación clínica moderada y de 80.000 como clínica severa, produciéndose en este caso una mortalidad del 50% de los corderos, mientras que en el caso de ovejas preñadas dosis de 50.000 esporoquistes pueden ser mortales para el hospedador (88).

##### 3.4.3.2.1. OVINOS NO GESTANTES

Los primeros síntomas clínicos observados hacia los 15 d.p.i., cuando se desarrolla la primera generación de esquizontes de S. tenella, son fiebre transitoria y leve, junto con la pérdida de apetito. Después hay un corto periodo de recuperación y sobreviene la enfermedad aguda, con el desarrollo de la segunda generación de esquizontes y de merozoitos en sangre. En ésta fase hay pérdida de apetito, anorexia, depresión e hipertemia. A éstos síntomas les siguen aumento de la debilidad, temblor muscular, hipersalivación, descarga nasal, ataxia, opistotonos, recumbencia lateral en el paso, postración y muerte (88).

Los animales que sobreviven pueden permanecer durante semanas ó meses con pérdida de la lana y atrofia muscular, mientras que animales jóvenes retrasan su crecimiento, habiendo retraso de la ganancia de peso incluso después de la recuperación (88).

En la mayoría de los casos la infestación se adquiere probablemente de forma gradual a bajos niveles, por lo que no hay evidencia de síntomas clínicos aunque el animal presente numerosos quistes (81).

##### 3.4.3.2.2. OVINOS GESTANTES

El cuadro clínico que presentan ovejas preñadas inoculadas con especies de Sarcocystis productoras de microquistes, no difiere del que se ha descrito para corderas no gestantes. Sin embargo, si el animal que se infesta está gestante si se ha demostrado la producción de abortos, el nacimiento de fetos muertos, el parto prematuro, y la transmisión del parásito al feto.

#### ABORTO

El aborto producido por Sarcocystis (S. tenella ó S. ovicanis, según los distintos autores), se achaca a la



aparición de anemias, fases febriles ó mal estado general grave, ocasionado por la infestación aguda.

Aunque Dubey (44), habla de que dosis de 1 a 10 millones de esporoquistes, producen aborto en ovejas preñadas, son Leek y Fayer (104) quienes hacen un estudio detallado del proceso, inoculando ovejas gestantes con dosis de 50, 100 o 500 mil esporoquistes, recogidos de las heces de perros infestados. En los tres grupos de animales se produjeron abortos, apareciendo los fetos necróticos con las dosis menores, mientras que con 100.000 esporoquistes la apariencia de los fetos abortados fue normal.

Dubey y Fayer (95) confirman posteriormente la presentación de abortos en ovejas gestantes.

Resultados contradictorios se obtuvieron en los experimentos realizados por Cole (126) utilizando dosis de 5.000 a 500.000 esporoquistes, y por Munday (115, 125), en los que dosis de 3.000 esporoquistes administrados oralmente entre tres y cinco semanas antes de la paridera, y dosis de 2.500 a 60.000 esporoquistes administrados de igual forma entre los 47 a 92 días de gestación, a corderas de 9 a 10 meses de edad, no son capaces de producir abortos.

#### **PARTO PREMATURO**

Aunque el aborto se reprodujo experimentalmente en la oveja durante los años 70, no se demostró que Sarcocystis fuera capaz de provocar parto prematuro en corderas preñadas hasta los estudios realizados por Munday en los años 80.

Munday (115) inoculó ovejas que se habían cubierto entre mes y medio a tres meses antes, con dosis de 60.000, 10.000 y 2.500 esporoquistes de S. ovicanis (=S. tenella), al mismo tiempo que rociaba el área donde se ubicaba a los animales, con 10 millones de esporoquistes.

Dos de los tres corderos nacidos de madres inoculadas con la dosis más alta, nacieron entre 7 y 21 días prematuramente, a juzgar por la fecha de cubrición.

#### **MUERTE DE RECIEN NACIDOS**

Los experimentos realizados por Leek y Fayer (104), estudiando el aborto producido por S. ovicanis (=S. tenella), pusieron de manifiesto que en estas parasitosis puede ocurrir el nacimiento de fetos muertos, de forma que inóculos de 100.000 esporoquistes, produjeron el nacimiento a término de dos corderos muertos sin lesiones aparentes.

Así mismo Navarrete y col. (127), detectan un 2% de mortalidad perinatal en infestaciones naturales por S. ovicanis (=S. tenella).

En los últimos años se ha descrito la muerte de corderos de pocas semanas de vida por sarcocistosis congénita de forma experimental (128) y de forma natural (129) en un cordero de tres semanas de vida que presentaba una gran parasitación por S. tenella, y en el que se detectaron esquizontes de segunda generación en corazón, hígado, pulmones, riñón y sistema

nervioso central.

### 3.5 EPIDEMIOLOGIA

Uno de los factores que van a incidir directamente sobre la epidemiología de estas parasitosis es el que los gametocitos se desarrollen subepitelialmente en la lámina propia del intestino delgado. Este hecho afecta directamente a la epizootiología de la infestación, ya que permite la endoesporulación de los ooquistes, y de ésta forma se protege al ooquiste joven de condiciones ambientales desfavorables durante éste proceso (130).

La localización subepitelial de los ooquistes hace que la proporción de ellos que se excreta, sea independiente de la corta vida de las células epiteliales del intestino, permitiendo el goteo gradual de esporoquistes maduros durante periodos de patencia largos (130, 38, 77). De ésta forma se asegura la contaminación del terreno con esporoquistes de forma renovada, y una diseminación máxima de estos, dentro de los límites territoriales del hospedador definitivo.

Otro factor que condiciona la epidemiología de las infestaciones por Sarcocystis es la naturaleza heteroxena del ciclo biológico, ya que a pesar de que en un ciclo de este tipo es imprescindible el encuentro específico de las dos especies hospedadoras, presenta algunas ventajas frente a parásitos con ciclos monoxenos; por ejemplo Sarcocystis desarrollando la capacidad de formar quistes en el hospedador intermedio, ha conseguido por un lado aumentar su número extensivamente y por otro retener la viabilidad durante meses y años.

Un tercer factor condicionante a nivel epidemiológico es la resistencia que presentan los esporoquistes de Sarcocystis a las condiciones ambientales, debido a su esporulación en el tejido intestinal del hospedador definitivo (130); sin embargo son muy susceptibles a la desecación y los rayos U.V., así como a las temperaturas extremas, aunque pueden permanecer viables durante varios meses con una buena aireación y baja temperatura (81).

Otros estudios han puesto de manifiesto que esporoquistes de S. ovicanis (= S. tenella) recogidos de las heces de perros y almacenados entre 7 y 10°C durante 19 meses y congelados a continuación a -20°C por un periodo de 23 meses, son capaces de producir cuadros clínicos y muerte en corderos inoculados con ellos (131).

Se ha comprobado además que después de la infestación del hospedador intermedio, hay eliminación en las heces de esporoquistes al menos durante 7 días (132). Estos esporoquistes que no han sufrido exquistación, debido probablemente a que no todos ellos están expuestos de la misma forma a las enzimas digestivas del hospedador (133, 134, 135, 136), son viables después de su paso por el intestino (132, 137).

A la diseminación pasiva de los esporoquistes pueden

contribuir aves, artrópodos coprófagos (94) y moscas (138).

Por último la pérdida relativa de especificidad de el hospedador definitivo, tiene un importante significado en la distribución, tanto local como global, de las especies de Sarcocystis (130).

### 3.5.1. PREVALENCIA

#### 3.5.1.1. EN ESPAÑA

Los estudios hechos en nuestro país en zonas geográficas concretas demuestran una prevalencia para especies productoras de microquistes (S. tenella ó S. ovicanis, según los autores) en los ovinos, del 97,6% en Granada (6) cuando se examinaron esófagos por digestión péptica, del 68,95% y 43,47% (7) utilizando las técnicas de digestión péptica y compresión, del 98,18% y del 63,11% realizando digestión y compresión de esófagos en ovinos de Zaragoza (8) y del 13,04%, y del 78,26% en esófagos analizados por compresión entre dos placas de vidrio y digestión péptica respectivamente en León (10). En ninguno de estos estudios se analizan muestras por microscopía óptica ó electrónica por lo que no se diferencia entre especies productoras de microquistes.

Las únicas descripciones que hemos encontrado en la bibliografía española, en donde se mencionan dos especies parásitas de la oveja, son las de Martínez Moreno y col. (9) y Simón y Ramajo (139). Estos autores encuentran, únicamente en una oveja de 6 animales infestados naturalmente, dos tipos distintos de quistes musculares presentes en proporciones muy desiguales, que nombran siguiendo la terminología de Erber (1982) como S. ovicanis (=S. tenella) y S. tenella (=S. arieticanis), describiéndolos con pared quística de apariencia estriada en el primer caso y con pared quística vellosa en el segundo.

Martínez Moreno y col. (9) además de estudiar la prevalencia de Sarcocystis en los ovinos, donde encuentra índices de parasitación del 100% para S. tenella utilizando digestión tripsica, estudian la frecuencia de parasitación en los pilares del diafragma, esófago y corazón, observando que un 87,95% de las muestras presentan quistes en las tres localizaciones musculares, el 7,22% presenta quistes en corazón y esófago y el 4,82% en corazón y diafragma, siendo el corazón el órgano que con mayor frecuencia apareció parasitado por microquistes.

Según la edad de los animales se detecta una parasitación por microquistes del 100% cuando son mayores de 10 meses, un 79% de parasitación entre 3 y 10 meses de vida y un 58,33% cuando son menores de 3 meses, siendo en el último grupo la parasitación mucho menos intensa (9).

En cuanto a la parasitación por macroquistes, se han obtenido índices del 15,9% (6), del 25,48% (7), del 54,02% (8) y del 54% (10) para S. gigantea, mediante la observación

visual de esófagos. Únicamente se ha encontrado una cita bibliográfica en la que se habla de dos tipos distintos de macroquistes (9), el primero de ellos por su morfología según los autores podría ser S. medusiformis, observándolo exclusivamente en pilares del diafragma, mientras que el segundo observado exclusivamente en esófagos, lo describen como S. gigantea para el que dan un índice de parasitación del 6,18%.

### 3.5.1.2. EN OTROS PAISES

De las cuatro especies que parasitan la oveja, S. tenella y S. gigantea han sido las que se han descrito en la inmensa mayoría de los estudios, existiendo hoy día el convencimiento de que su distribución es mundial. Las citas bibliográficas que atribuyen a la primera de las dos especies un porcentaje de parasitación en torno al 90% ó mayor, en corderos de mas de 6 meses de vida, son innumerables.

S. medusiformis se ha encontrado solo en Australia y Nueva Zelanda (45, 65, 140).

S. arieticanis se ha descrito solo en Alemania, Nueva Zelanda, Australia y U.S.A., sin embargo hay que recordar que son muy pocos y muy recientes los estudios epidemiológicos en los que se ha diferenciado entre estas dos especies.

S. tenella parece tener una prevalencia mucho mayor que S. arieticanis, ya que en un estudio con 512 animales, utilizando técnicas histológicas y digestión péptica, S. tenella se detectó en el 84% de las muestras, y S. arieticanis únicamente en el 3,5% (141).

Los primeros investigadores que detectan la presencia de dos especies distintas son Bierschenck (142), Cerna y Merhautova (143) y Gjerde y col. (144), encontrando el primero, de 336 ovejas examinadas, una parasitación del 63,9% para S. arieticanis y del 84,8% para S. tenella.

Gjerde y col. (144), al estudiar la incidencia de la infestación por S. tenella, en 198 ovejas de matadero aparentemente sanas, divididas en tres grupos de edad, detectan en animales adultos un 83,5% de positividad, en animales jóvenes un 74,4% y en corderos un 25%. Al mismo tiempo observaron, en tres muestras únicamente, la presencia de quistes con una pared gruesa, distintos de S. tenella.

O'Donoghue y Ford (140) examinan 864 ovejas detectando en un 74,7% de los animales microquistes de pared gruesa y estriada (S. tenella) y en el 88,1% quistes de pared delgada (S. arieticanis).

Pomroy y Charleston (145) estudian, por digestión péptica y técnicas histológicas, el miocardio de 51 corazones de corderos de 5 a 9 meses de vida, encontrando una parasitación del 92%. El estudio morfológico que estos investigadores hacen de parte de los quistes, da una incidencia para la especie que ellos llaman S. ovicanis (= S. tenella) del 20,38% y para S. tenella (= S. arieticanis) del 76,43%, mientras que una pequeña proporción de quistes no se

identifican con ninguna de las dos especies.

La incidencia de S. gigantea descrita en la oveja es variable, Cerna y Merhautova (143) hablan del 21%, Martins (146) del 35,48% y Boch y col. (60) del 2,6%. O'Donoghue y Ford (140) detectan un 4,5% de positividad, sobre un total de 864 ovejas, para S. gigantea y del 3,1% para S. medusiformis.

En cuanto al hospedador definitivo se ha detectado una parasitación del 25,6% (147), del 15,2% (148), del 36% (149) y del 63,8% (76) para S. ovicanis según los distintos autores en perros y del 25% (150) y el 17% (76) en lobos.

En cuanto al gato los porcentajes de parasitación descritos van del 7,7% (147) al 4,6% (36).

### 3.6. ASPECTOS INMUNOLÓGICOS

#### 3.6.1. RESPUESTA HUMORAL

En el desarrollo de inmunidad humoral, está clara la formación de anticuerpos específicos de la clase IgG, que se producen como respuesta a la infestación (151, 152, 153), entre las 6 a 8 semanas después de la inoculación.

La detección de IgM específica, en ovejas inoculadas con S. tenella, ha sido descrita por O'Donoghue y Weyreter (152) entre los 15 a 32 d.p.i., por O'Donoghue y Wilkinson (153) a partir de los 28 d.p.i., y por Smith y Herbert (154) entre los 5 a 10 días después de la inoculación oral de corderos, alcanzando un máximo a los 42 días y manteniéndose los niveles hasta al menos los 70 d.p.i.

Por el contrario Gasbarre y col. (151), no detectan anticuerpos IgM en corderos inoculados con S. ovicanis (=S. tenella).

Los títulos que se detectan en infestaciones experimentales, tanto de IgG como de IgM, son mayores a medida que aumenta el inóculo infestivo (153).

Cuando ocurre reinfestación en condiciones experimentales, Ford (155) detecta un aumento del título de anticuerpos IgG, respecto a los valores obtenidos durante la infestación primaria, que se hace máximo dos semanas después de la reinfestación. Por el contrario O'Donoghue y Wilkinson (153), no detectan cambios en el título de anticuerpos durante la reinfestación, los títulos de IgM permanecen estables y los de IgG continúan la línea ascendente de la infestación primaria.

En cuanto a ovejas gestantes se ha descrito falta de respuesta humoral, cuando se inoculan con 60.000 microquistes de S. ovicanis (=S. tenella) (115).

#### 3.6.2. RESISTENCIA

La eliminación de esporoquistes por el hospedador definitivo alimentado varias veces consecutivas con carne infestada, demuestra la ausencia de resistencia inmune en el perro (156).

Por otra parte son muy pocos los estudios realizados de la respuesta inmune de la oveja frente a la infestación por microquistes de Sarcocystis. Se supone que la mayoría de los animales sufren infestaciones naturales que no presentan cuadro clínico, por estar producidas por un bajo número de esporoquistes, y porque se repiten varias veces en el tiempo, ocurriendo a una edad temprana, y originando un cierto grado de inmunidad. Se ha comprobado que este estado inmune que condiciona la ausencia de sintomatología clínica, permite el que se produzcan infestaciones continuas (150).

Leightowers y Ford (157), previenen la enfermedad clínica de las ovejas producida por S. tenella, vacunando con esporoquistes atenuados, de forma que al reinfestar con dosis potencialmente letales de esporoquistes, no hay desarrollo de cuadro clínico de enfermedad, asociando la protección observada al desarrollo normal de alguno de los esporoquistes atenuados que se utilizaron como vacuna.

Ford (155) encuentra una alta correlación entre el número de parásitos inoculados en la infestación primaria, utilizando dosis de hasta 5.000 esporoquistes, y la reducción observada en los cambios fisiopatológicos y en el número de parásitos desarrollados, cuando estos mismos animales se reinfestan con 50.000 esporoquistes.

En consonancia con estos resultados están los obtenidos por Erber y Geisel (158), quienes no pudieron reinfestar cerdos con la especie homóloga (S. suicanis) pero sí con la heteróloga (S. suihominis).

Para otros autores sin embargo, la inmunidad adquirida que se demuestra con estos experimentos, no previene el establecimiento del parásito en la reinfestación, ni la correspondiente formación de quistes, aunque se compruebe que éste establecimiento y formación de quistes es menor, cuanto mayor es el número de esporoquistes utilizados en la infestación primaria (153).

### 3.6.3. INMUNODIAGNOSTICO

Los primeros tests inmunológicos utilizados en el diagnóstico de las infestaciones por Sarcocystis demostraron la elevada frecuencia de parasitación y el carácter zoonótico de alguna de las especies, planteándose entonces la conveniencia de poseer medios de diagnóstico adecuados, que al tener que realizarse manteniendo con vida a los animales vendrían determinados sobre todo por pruebas serológicas.

Los test que se pusieron a punto fueron, la aglutinación (159), la fijación del complemento utilizando antígeno obtenido de macroquistes de ovejas (121, 125, 160), hemaglutinación indirecta (HAI) empleando antígeno obtenido a partir de cistozoitos recogidos de corazones de ovejas infestadas con microquistes (150), ó utilizando antígeno obtenido de macroquistes (161), e inmunofluorescencia indirecta (IFI) utilizando cistozoitos obtenidos de macroquistes de esófagos de ovejas, fijados a portaobjetos

(162, 163, 164).

A partir de los años 80, se aplica el enzimoimmunoensayo (ELISA) al serodiagnóstico de las infestaciones por Sarcocystis, intentando determinar la especificidad de clase de las inmunoglobulinas y en qué momento de la infestación empiezan estas a detectarse, con el fin de establecer un diagnóstico de la fase aguda de la enfermedad. De esta forma se comprobó que utilizando antisueros específicos anti-IgM se pueden diagnosticar infestaciones agudas y clínicas y mediante el uso de anti-IgG infestaciones latentes ó crónicas (151, 152, 154, 165, 166, 167).

Por último hay que mencionar la obtención de anticuerpos monoclonales por inmunización de ratones con S. muris, algunos de los cuales reaccionan, además de con el antígeno homólogo, con antígenos heterólogos de S. tenella, S. arieticanis y S. gigantea entre otras especies de Sarcocystis en tests de IFI (168), y la obtención de anticuerpos monoclonales frente a especies ovinas (S. tenella y S. gigantea) mediante la inmunización de ratones con fracciones purificadas de cistozoitos (169).

Se ha descrito el inmunodiagnóstico a través de la detección de antígenos parasitarios en cerdos y ratones entre los 3 a 20 d.p.i. inmediatamente después de la liberación de los esporozoitos del esporoquiste y durante el desarrollo de los merozoitos de primera y segunda generación (170). Así mismo otros autores describen la detección de antígenos parasitarios en el suero del hospedador intermediario durante la fase aguda de la enfermedad (81).

En lo que concierne a la especificidad de los tests serológicos utilizados, desde sus primeras aplicaciones se constató que existe una gran reactividad cruzada entre las especies, aún cuando parasiten distintos hospedadores intermediarios. Sin embargo, los estudios hechos entre las cuatro familias que dentro del mismo orden forman quistes, Toxoplasma, Besnoitia, Sarcocystis, y Frenkelia, han demostrado una reactividad cruzada total entre Sarcocystis y Frenkelia (171, 172), mientras que ésta reactividad no se da entre Sarcocystis y Toxoplasma, Besnoitia (171), ó Eimeria (154).

La falta de reactividad cruzada entre los géneros Sarcocystis y Toxoplasma que se ha puesto de manifiesto en infinidad de publicaciones, y para todos los tests serológicos utilizados en el diagnóstico de esta enfermedad, se contradice con la reactividad cruzada que obtiene Uggla (173) al utilizar la prueba ELISA con sueros de bovinos inoculados experimentalmente con Sarcocystis, y antígeno soluble obtenido de taquizoitos de Toxoplasma; ésta misma reactividad cruzada había sido descrita con anterioridad (174).

Los estudios que se han hecho de reactividad cruzada entre las especies de Sarcocystis han demostrado que si bien esta existe, los títulos de anticuerpos que se detectan, son

mayores cuando se utiliza el antígeno homólogo al inóculo empleado para la infestación (150, 152, 175).

#### **4. MATERIAL Y METODOS**

#### 4. MATERIAL Y METODOS

##### 4.1. ANIMALES DE EXPERIMENTACION

El rebaño experimental permaneció en "El Encin", finca perteneciente a la Comunidad Autónoma de Madrid, desde finales del mes de Noviembre de 1987, cuando se cubrió a las ovejas, hasta dos semanas después de los partos a finales del mes de Mayo de 1988.

El estudio se comenzó con un total de 22 ovejas de raza ManchegaXTalaverana (cuadro 2). Estos 22 animales se dividieron en cuatro grupos:

##### GRUPO 0:

- 3 animales gestantes no infestados CONTROL

##### GRUPO 1:

- 6 animales gestantes, infestados a los 47 días de la cubrición:
  - 3 animales 50.000 esporoquistes. SUBGRUPO 1-A
  - 3 animales 100.000 esporoquistes. SUBGRUPO 1-B

##### GRUPO 2:

- 8 animales de los cuales únicamente 5 quedaron gestantes. Estos se infestaron a los 75 días de la cubrición:
  - 3 animales 50.000 esporoquistes. SUBGRUPO 2-A
  - 2 animales 100.000 esporoquistes. SUBGRUPO 2-B

##### GRUPO 3:

- 5 animales de los que 4 quedaron gestantes, infestándolos a los 117 días de la cubrición:
  - 2 animales 50.000 esporoquistes. SUBGRUPO 3-A
  - 2 animales 100.000 esporoquistes. SUBGRUPO 3-B

La edad de las ovejas en cada grupo varió entre dos y seis años.

Las 18 ovejas que quedaron gestantes permanecieron estabuladas durante toda la experiencia, en un recinto al que no tenían acceso los perros de la finca.

Los animales se vacunaron contra las enterotoxemias con una vacuna comercial, y recibieron tratamiento antihelmíntico al comenzar la estabulación.

Por último se utilizó como fuente de esporoquistes un perro de 5 meses de edad, procedente de la perrera municipal, que se desparasitó a la llegada al laboratorio.

##### 4.2. CUBRICION

Para la provocación del celo se emplearon esponjas impregnadas en acetato de medroxiprogesterona (MAP), a una dosis de 60 mg por esponja. El periodo de aplicación fue de 12 días. Simultáneamente a la retirada de la esponja se

inyectaron 400 U.I. de gonadotropina sérica (PMSG) por vía intramuscular.

A las 48 horas de la retirada de las esponjas, se realizó la monta libre juntando las hembras sincronizadas con dos machos de dos años de edad, suficientemente entrenados para este fin, que pertenecían al rebaño existente en "El Encin". Machos y hembras pertenecieron 48 horas juntos.

### **4.3. INFESTACIONES EXPERIMENTALES**

#### **4.3.1. HOSPEDADOR DEFINITIVO**

Se le suministraron al perro 250 gr de carne cruda triturada, de una oveja decomisada en el Matadero Municipal de Madrid, que presentaba una parasitación enormemente abundante por microquistes de Sarcocystis.

Diez días después de la ingestión de carne parasitada se empezaron a realizar análisis comrológicos, por la técnica de Mc Master modificada. Los esporoquistes empezaron a aparecer en las heces a los 12 d.p.i., 30 días mas tarde y una vez obtenida la cantidad suficiente de formas infestivas, dejaron de analizarse las heces.

Los esporoquistes obtenidos de las heces se midieron con un objetivo apocromático 100x y ocular 10x de campo visual normal.

#### **4.3.2. HOSPEDADOR INTERMEDIARIO**

La obtención del inóculo del hospedador intermediario se realizó a partir de heces del perro infestado con carne que contenía microquistes. Las heces se homogeneizaban diariamente en solución azucarada saturada (1,075 gr de azúcar en un litro de agua), y se pasaban a través de dos tamices de 0,5 y 0,07 mm de luz de malla, la suspensión resultante se centrifugó en tubos de 50 ml a 400 g durante 10 minutos. Después de la centrifugación se tomó una muestra para comprobar la presencia de esporoquistes. De cada uno de los tubos centrifugados se recogieron los 5 ml de sobrenadante que quedaban en la parte superior del tubo y se mezclaron con 45 ml de solución salina de Hanks (SSH). Estos tubos se centrifugaron y el sedimento obtenido se resuspendió en 10 ml de SSH. Se hicieron tres recuentos de cada tubo, en cámara de Neubauer, para determinar el número de esporquistes por ml, que era la resultante de multiplicar la media obtenida por 10.000. Los esporoquistes se guardaron a 4°C, una vez que se les añadían 10.000 U.I. de penicilina, 10 mg de estreptomycin y 500 U.I. de micostatin por ml.

El período más largo de almacenaje del inóculo hasta su utilización fue de cinco meses.

El día en que se hizo la infestación de las ovejas, los esporquistes se diluyeron para obtener 50 ó 100 mil esporoquistes en 5 ml de SSH, haciéndose una nueva observación microscópica para comprobar la viabilidad del

inóculo.

La infestación de las ovejas se realizó siempre por vía oral, utilizando una cánula que se introducía hasta el esófago. El inóculo infestivo estaba formado por los esporoquistes recogidos de las heces del perro en SSH.

Los animales control recibieron un placebo de solución salina de Hanks simultáneamente a la inoculación de los infestados.

Los momentos de la infestación se determinaron en función de la época de cubrición, así el grupo 1 se infestó a los 47 días de la cubrición (cuarta semana de Enero), el grupo 2 a los 75 días (cuarta semana de Febrero) y por último el grupo 3 a los 117 días después de la cubrición (primera semana de Abril).

#### **4.4. HEMATOLOGIA**

La toma de muestras, que sirvió tanto para análisis hematológicos, recogiendo la sangre en frascos de vidrio con anticoagulante (oxalatos), como para análisis serológicos, recogiendo la sangre en tubos de vidrio y dejándola coagular para la posterior extracción del suero, se realizó semanalmente, comenzando quince días antes de la infestación de las ovejas y finalizando quince días después de producirse el último parto.

Los recuentos del número de hematíes se realizaron utilizando un contador Cell-Crit 921 de la marca Royco. Con éste mismo aparato, y después de la lisis de los eritrocitos utilizando hemolisina, se realizó el recuento de glóbulos blancos.

El valor de microhematocrito se obtuvo utilizando un lector de la marca Gri-Cell, después de la centrifugación de los capilares a 11.000 r.p.m. durante 5 minutos en una centrífuga de microhematocritos marca Gri-cell.

La concentración de hemoglobina se obtuvo mediante un hemoglobímetro de Spencer, utilizando heparina como agente hemolítico.

Los índices hemáticos se calcularon a partir de los valores de los recuentos de glóbulos rojos, de la concentración de hemoglobina y del hematocrito.

#### **4.5. SEROLOGIA**

##### **4.5.1. PROTEINAS Y PROTEINOGRAMA**

La obtención del valor de proteína total se realizó mediante la reacción fotocolorimétrica de "Biuret", utilizando el test N° 3327 de la casa Merk. La lectura se realizó a una longitud de onda de 540 nm en un espectrofotómetro Spectronic 21 de la casa Busch & Lomb.

Para la separación de las distintas fracciones protéicas del suero en función de su carga eléctrica se realizó semi-micro-electroforesis de zona, en tiras de acetato de celulosa (2,5 x 17 cm), con tampón de veronal sódico 0,04M, pH 8,9 a

220 V durante 35 minutos. El colorante utilizado fue negro amido. La lectura de las tiras se realizó en un fotodensitómetro Digiscan ATOM-428b.

#### **4.5.2. PARAMETROS BIOQUIMICOS**

Todas las determinaciones se realizaron usando tests comerciales de la casa Boehringer Ingelheim.

Las lecturas se realizaron siempre en un espectrofotómetro Spectronic 21 (Busch & Lomb).

##### **- GLUTAMICO OXALACETICO TRANSAMINASA**

La determinación cuantitativa de la actividad de la GOT en el suero de las corderas se determinó por el método IFCC, mediante el test número R7M201. La reacción se desarrolló a 37°C y se leyó a 340 nm.

##### **- LACTICO DESHIDROGENASA**

Para su cuantificación se utilizó el método IFCC mediante el test número R7M302. La temperatura a la que se desarrolló la reacción y la longitud de onda a la que se leyó fueron las mismas que en el caso anterior.

##### **- FOSFATASA ALCALINA**

Su determinación se realizó mediante el test número R7M206, utilizando el método IFCC. la reacción se desarrolló a 37°C y se leyó la absorbancia a 405 nm.

##### **- GLUCOSA**

El método seguido fue el de Trinder, mediante el test número W991665. La lectura fue a 505 nm.

##### **- NITROGENO UREICO**

Para su determinación se siguió la reacción de Berthelot, mediante el test número 553651. La lectura se efectuó a una absorbancia de 546 nm.

##### **- CALCIO**

Todo el material de vidrio que se utilizó para hacer la determinación de calcio en suero, se aclaró antes de su uso con ClH diluido al 10% pasándolo a continuación por agua destilada. Se utilizó el test número W997218, basado en el método de la o-cresolftaleina complexona. Se leyó a 578 nm.

##### **- FOSFORO**

Se siguió para su determinación el método modificado de Fiske y Subbaronw, utilizando el test número W993231. Se determinó colorimétricamente a 690 nm.

#### **4.6. DETECCION DE ANTICUERPOS**

##### **4.6.1. EN LA INFESTACION EXPERIMENTAL**

Para la detección de anticuerpos se utilizaron los

sueros de las corderas inoculadas experimentalmente.

En este caso el test utilizado fue el de la inmunofluorescencia indirecta (IFI).

- OBTENCION DEL ANTIGENO

El antígeno se obtuvo a partir de macroquistes de esófago de ovejas adultas, recogidos del matadero Municipal de Madrid.

Los quistes se recogieron en tampón fosfato, y se destruyeron mecánicamente. La solución se filtró a través de una doble gasa, y se le añadió formol hasta obtener una proporción del 2%, dejándola en estufa a 37°C durante 30 minutos.

Los cistozoitos ya formolados se lavaron, resuspendiéndolos tres veces consecutivas en tampón fosfatos, por medio de centrifugaciones a 1500 r.p.m. durante 10 minutos. Después de lo cual se hizo un doble recuento de la suspensión de zoitos en cámara de Neubauer. La media que se obtuvo de los dos recuentos multiplicada por 10.000 fue el número de zoitos/ml.

La suspensión se ajustó con tampón fosfatos de forma que hubiera 25.000 esporozoitos/ml, 20 microlitros de ésta suspensión se depositaron en portas con círculos (Biomerieux, ref. 7 575 1), y se dejaron secar a temperatura ambiente durante 2 a 3 horas. Pasado éste tiempo se guardaron en pequeñas cajas de carton separados entre si por papel de filtro, a -20°C hasta su uso. En ningún caso el tiempo de almacenaje fue mayor de un mes.

- SUEROS CONTROL

Los cuatro sueros de ovino utilizados como controles (positivos y negativos) en la IFI, fueron cedidos generosamente por el Dr. Gasbarre del Livestock and Poultry Science Institute, ARS, USDA (Maryland, USA). Estos sueros pertenecían a ovinos entre 3 y 6 meses de edad, a los que se sangró una semana antes de la inoculación oral con 75.000 esporoquistes de S. ovicanis (S. tenella), y a los 84 d.p.i. cuando la respuesta de anticuerpos totales, medida por ELISA frente a Sarcocystis, alcanzó el valor mas alto. Los sueros obtenidos a partir de la sangre recogida una semana antes de la infestación, sirvieron como control negativo, y los recogidos 91 días mas tarde se utilizaron como control positivo.

Los sueros se ensayaron desde la dilución 1/20 a la dilución 1/1280, mediante diluciones dobles seriadas.

- INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (IFI)

Los portas preparados con el antígeno y mantenidos a -20°C, se fijaron por inmersión en acetona fría durante 10 minutos.

A continuación, después de tres lavados durante 5 minutos con tampón fosfato, se añadieron 20 µl de cada una de

las diluciones de los sueros a cada uno de los 10 pocillos de cada porta. Los sueros se incubaron durante 30 min. a 37°C en cámara húmeda. Después de otros tres lavados en tampón fosfatos, se añadieron 20 µl de conjugado anti oveja obtenido en conejo, marcado con isotiocianato de fluoresceína (DAKO, F 135) a una dilución 1/50, previa titulación. Este se incubó otros 30 min a 37°C en cámara húmeda.

El exceso de conjugado se eliminó lavando los portas por inmersión tres veces en tampón fosfatos durante 5 minutos, después de lo cual se añadió una gota de glicerina tamponada sobre cada porta montando seguidamente el cubre-objetos.

Las preparaciones se examinaron en un microscopio Leitz-Wetzlar Ortholux II, equipado con un equipo de epifluorescencia Phoemopak 2.2. con filtro excitador BP 450-490 y filtro bloqueador LP 515, y un sistema de microfotografía Wild MPS compuesto por módulo de cámara MPS 11 y fotómetro MPS 0.5, que se utilizó para la realización de diapositivas y fotografías. Se utilizaron objetivos apocromáticos de 25x y 40x y ocular 10x, de campo visual normal.

#### - INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

En la lectura se consideró reacción positiva cuando se comprobó fluorescencia alrededor de toda la membrana del zoito, pudiendo extenderse a todo el zoito en las fuertemente positivas. Por el contrario, se consideró negativa cuando no existió tal fluorescencia o si solamente era patente en la zona del conoide. A cada suero se le dió el título correspondiente a la dilución límite a la que se comprobó fluorescencia.

#### 4.6.2. EN SUERO DE MATADERO

Para determinar la incidencia de la parasitación por Sarcocystis se recogieron muestras de sangre de 168 ovinos de más de 4 años de edad del Matadero Municipal de Guadalajara, junto con una porción de corazón, lengua, esófago y diafragma.

Al mismo tiempo se obtuvieron 136 muestras de sangre de ovejas vivas de rebaños ubicados en: Marchamalo de la provincia de Guadalajara, La Lastrilla, Yanguas de Eresma y Aldealengua en la provincia de Segovia, Madrigalejo en Cáceres y Tordesillas en Valladolid. La edad de estos animales varió entre 1 y 7 años.

Se realizó una tercera recogida de muestras (32 sueros), de animales remitidos a nuestro laboratorio para diagnóstico de otros procesos patológicos. En este caso, como en el primero, se tomaron muestras de corazón, lengua, esófago y diafragma. La edad de los animales estuvo comprendida desde el nacimiento hasta los tres años.

Los 325 sueros se procesaron por la técnica de IFI como se ha descrito en el apartado 3.6.1.

## 4.7. ANALISIS PARASITOLÓGICOS

### 4.7.1. EN LA INFESTACION EXPERIMENTAL

Quince días después del parto de las ovejas, se realizó la necropsia de 10 animales (8 de los inoculados y 2 de los controles).

La presencia de macroquistes en el esófago y diafragma de los animales se analizó visualmente. Para el estudio de la morfología de los microquistes y su recuento se realizaron cortes histológicos de lengua, corazón, esófago y diafragma, que se tiñeron con hematoxilina-eosina. Por último se realizó digestión muscular, de los cuatro órganos ya citados, para determinar el número de cistozoitos por gramo de tejido.

#### - DIGESTION MUSCULAR

Para realizar la digestión muscular la carne infestada se limpió de tejido conectivo y grasa todo lo que fue posible. Se cortó en trozos y se picó en un molinillo doméstico.

A 50 gr de carne picada se añadieron 100 ml de solución de pepsina (2,5 gr de pepsina, 10 ml de ClH, agua hasta un litro) precalentada a 37°C. Esta mezcla se mantenía durante 15 minutos en un agitador magnético provisto de placa calefactora a 37°C.

Una vez digerida la carne, se filtró la solución a través de una doble gasa ("Cheese cloth"), presionando para separar el líquido de la digesta. La solución se recogió en tubos cónicos de 50 ml, que se centrifugaron 10 minutos a 1500 rpm. Después de desechar el sobrenadante se repitió la centrifugación por dos veces, resuspendiendo los cistozoitos en SSH, con el fin de desechar restos contaminantes, de forma que después de la última centrifugación se obtuvo un sedimento blanco.

Los cistozoitos se mezclaron con un volumen igual de solución de Percoll (Percoll al 50%) en tubos cónicos, que se centrifugaron a 1500 rpm durante 10 minutos. De esta forma se separaron los restos celulares (flotan en el percoll), de los cistozoitos (sedimento del tubo).

El sedimento formado por cistozoitos limpios se resuspendió en SSH y se centrifugó tres veces, en las condiciones anteriores, para eliminar los restos de percoll. Después de la última centrifugación el sedimento se llevó a un volumen de 5 ml, y se contó el número de cistozoitos en cámara de Neubauer como se ha descrito en el punto 3.3.2., de forma que el número total de parásitos obtenidos en los 5 ml de SSH, era el número cistozoitos presentes en 50 gr de carne infestada.

Para excluir otras parasitosis que pudieran alterar alguno de los parámetros hematológicos y séricos estudiados, en el examen post-mortem se analizó mediante técnicas parasitológicas convencionales la presencia de otras parasitosis.

**4.7.2. EN MUESTRAS DE MATADERO**

Lengua, corazón, esófago y diafragma, recogidos de cada una de las ovejas de las que se nos proporcionó el suero, en el Matadero Municipal de Guadalajara, sirvieron para realizar la digestión muscular de la misma forma a como se ha descrito en el apartado anterior.

Se realizaron también digestiones musculares de lengua, corazón, esófago y diafragma, de los 32 animales remitidos a nuestro laboratorio.

## **5. RESULTADOS**

## 5. RESULTADOS

Debido al número de animales utilizados en esta experiencia, el análisis estadístico de los resultados, mediante la  $t$  de Student, requiere la sustitución del cálculo del valor de las varianzas, por la media ponderada de las cuasivarianzas de las muestras, debido a esto y a la dispersión de datos en cada uno de los grupos de ovejas inoculadas y en el grupo control, dispersión completamente normal cuando se analizan parámetros biológicos de una población, no se obtuvieron resultados significativos excepto en casos muy puntuales en alguna de las determinaciones, por lo que no se expresan resultados estadísticos en esta tesis.

### 5.1. EPIDEMIOLOGIA

Con las muestras de matadero obtenidas, 168 porciones de lengua y corazón así como esófago y diafragma correspondientes a los 168 sueros de oveja recogidos, y las enviadas para su análisis a nuestro laboratorio (32), se realizó la digestión péptica y se visualizó la presencia de macroquistes en diafrámas y esófagos. Los resultados obtenidos se detallan en la tabla 1.

El órgano mas parasitado por microquistes, sobre un total de 200 ovejas analizadas, ha sido la lengua (88,5%) seguido del corazón (75%), diafragma y esófago. En cuanto a macroquistes se ha encontrado un 26,5% de esófagos positivos y un 1,5% de diafrámas. La frecuencia más alta de micro y macroquistes se ha observado en lengua y esófago (22,5%) cuando se analiza la presencia de ambos quistes en un mismo animal.

Con los resultados obtenidos de presencia de macro y microquistes en la necropsia y los datos de IFI de anticuerpos anti Sarcocystis en sus sueros, se ha elaborado la tabla 2, en la que se expresa la concordancia o discordancia entre ambos valores.

La concordancia de muestras positivas a microquistes es total cuando la dilución del suero es de 1/40 o mayor. A diluciones menores (1/20) la concordancia entre los resultados de la necropsia y los de IFI es de un 98,88%. Resultados de IFI negativos concuerdan con necropsias negativas en un 92,31% de los casos.

Cuando se analiza presencia de macroquistes los resultados de digestión e IFI coinciden totalmente.

La incidencia de sueros positivos y negativos, sobre un total de 336 muestras estudiadas, se detalla en la tabla 3.

En la tabla 4 se distribuyen los resultados obtenidos, según la edad de los animales. Se ha detectado un 100% de positividad cuando las ovejas tienen más de tres años de edad, 94,44% para ovejas mayores de dos años, del 92,31% cuando tienen mas de un año, del 58,40% cuando tienen un año de vida y del 13,4 para corderos de hasta 12 meses.

## **5.2. PATOGENIA**

### **5.2.1. HOSPEDADOR DEFINITIVO**

En la gráfica 1 se expresa la cinética de eliminación de esporquistes en las heces del hospedador definitivo.

El período prepatente en el perro, infestado con carne de oveja parasitada con microquistes, fue de 11 días. Los días 12, y 13 p.i. empezó a detectarse un número muy bajo de esporquistes en heces, sin embargo a partir de este momento hubo una rápida subida del número de formas infestivas, llegando a eliminarse 10 millones de esporquistes en un solo día, de los cuales un 5% aproximadamente eran ooquistes. El período de patencia observado fue de 30 días, momento en el que se interrumpieron los análisis fecales sin que la eliminación de esporquistes hubiera finalizado.

La medida de 100 esporquistes recogidos de las heces del perro dió una media de 13,30 x 9,01 micras y una desviación típica de 0,35 y 0,26 respectivamente.

### **5.2.2. HOSPEDADOR INTERMEDIARIO**

#### **5.2.2.1. DESARROLLO DE LA GESTACION**

En la tabla 5 se sumarizan los detalles del período de gestación y el número y peso de las corderas nacidas de las ovejas inoculadas y de los controles.

Las ovejas números 53, 60, 72 y 89, que en un principio se incluyeron en el experimento, no quedaron preñadas y por lo tanto se excluyeron de sus grupos respectivos.

Las ovejas números 16 y 100 murieron a los 92 y 32 d.p.i. respectivamente, sin que se pudiera realizar la necropsia de estos animales.

Ninguna de las ovejas inoculadas presentó síntomas clínicos manifiestos de enfermedad (fiebre, hipertermia, debilidad, etc.), permaneciendo todas ellas junto con el grupo control, durante los 5 meses de gestación, en un estado que podría calificarse de clínicamente normal, si bien las ovejas números 87, 90, 91 y 60, todas ellas de dos años de edad, fueron las mas delgadas y desmedradas.

En ningún caso se presentaron abortos ni nacimiento de fetos muertos, y tampoco se dieron partos prematuros, pudiendo calificarse el proceso de la gestación y del parto de normales.

Las ovejas números 14 y 24, tuvieron un parto gemelar, mientras que todas las demás tuvieron un único cordero, de apariencia normal en todos los casos.

Las medidas obtenidas de los pesos de los corderos al nacimiento para cada uno de los tres grupos, no fue significativamente distinta de la media del grupo control. Sin embargo en los subgrupos 2-A y 2-B el valor medio del peso de los corderos (3,43 Kg y 2,55 Kg respectivamente), fue muy inferior al del grupo control (4,53 Kg).

## 5.2.2.2. HEMATOLOGIA

### 5.2.2.2.1. CONSTANTES HEMATICAS

#### A. NUMERO DE ERITROCITOS

Los valores obtenidos del recuento de eritrocitos, que se dan en la tabla 6, se representan en las gráficas 2 (grupo 1), 3 (grupo 2) y 4 (grupo 3).

En los grupos 1 y 2 el valor del número de hematies está por debajo del valor del grupo control desde las 2 s.p.i. para el grupo 1, y desde las 4 s.p.i. para el grupo 2, manteniéndose así hasta el final de la experiencia.

Dentro del grupo 1 siempre se han obtenido valores mas bajos del número de eritrocitos, en las ovejas inoculadas con la dosis mayor (subgrupo 1-B); no siempre se ha cumplido esto en el grupo 2.

#### B. NUMERO DE LEUCOCITOS

Estos valores se representan en las gráficas 5 (grupo 1), 6 (grupo 2) y 7 (grupo 3) y se dan en la tabla 7.

En el grupo 1 se ha observado un descenso del número de glóbulos blancos entre la tercera y septima s.p.i., y en el grupo 2 la 5, 6 y 8 s.p.i. En el grupo 3 no se han observado variaciones.

En general y salvo casos puntuales, los valores obtenidos para los tres grupos son similares a los valores del grupo control.

#### C. HEMATOCRITO

En las gráficas 8, 9 y 10 se representan los valores de hematocrito obtenidos para los tres grupos, que se dan en la tabla 8.

Los valores de esta constante sanguínea fueron mas bajos que los del grupo control a las 2 s.p.i. en los grupos 1 y 2, manteniéndose de esta forma 8 y 7 semanas (subgrupos 1-A y 1-B respectivamente) en el grupo 1, y 5 y 6 semanas (subgrupos 2-A y 2-B) en el grupo 2, mientras que en el grupo 3 a pesar de que se obtuvieron valores por debajo del grupo control a las 3 s.p.i. en el subgrupo 3-A y a la semana p.i. en el subgrupo 3-B, los resultados fueron muy similares al grupo control.

Las reducciones del valor hematocrito han sido mayores en los subgrupos inoculados con la dosis mas alta, habiendo una reducción máxima de 5% y 6% del valor la tercera semana de febrero y segunda de marzo respectivamente en el subgrupo 1-B, y del 4,5% la segunda semana de marzo y 4% la primera de abril para el subgrupo 2-B, mientras que los subgrupos inoculados con la dosis más baja presentan reducciones del 4,3% la tercera semana de febrero y segunda de marzo en el subgrupo 1-A y del 4,34% y 2,34% la segunda y cuarta semana de marzo respectivamente en el subgrupo 2-A.

**D. HEMOGLOBINA**

Los valores de hemoglobina obtenidos para los tres grupos de ovejas inoculadas se dan en la tabla 9 y se presentan en las gráficas 11, 12 y 13.

En el grupo 1 se obtienen resultados mas bajos que en el grupo 0 a partir de la primera s.p.i. y hasta la 5 s.p.i. En el grupo 2 a partir de la 5 s.p.i. y hasta la 9 s.p.i. (subgrupo 2-B), y en el grupo 3 a partir de la 4 s.p.i. (subgrupo 3-B).

**5.2.2.2.2. INDICES HEMATICOS****A. VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO**

Los valores obtenidos se representan en las gráficas 14, 15 y 16 y se dan en la tabla 10.

Tanto en el grupo A como en el B los valores aumentan considerablemente respecto del control a las 5 s.p.i. en el subgrupo 1-B y a las 4. s.p.i. en el grupo 2.

**B. HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA**

Los resultados obtenidos que se dan en la tabla 11, se representan en las gráficas 17, 18 y 19.

No se han encontrado valores que difieran significativamente del grupo control.

**C. CONTENIDO CORPUSCULAR MEDIO DE HEMOGLOBINA**

Los resultados obtenidos se dan en la tabla 12 y se representan en las gráficas 20, 21 y 22.

Unicamente se ha observado para este índice un aumento en los dos subgrupos del grupo 1 a la 6 s.p.i., permaneciendo los valores elevados durante tres semanas.

**5.2.2.3. SEROLOGIA****5.2.2.3.1. PROTEINAS Y PROTEINOGRAMAS****A. PROTEINA**

Los valores medios de proteína, obtenidos para el grupo 0 y los tres grupos inoculados se representan en las gráficas 23, 24 y 25 y se dan en la tabla 13.

No se han detectado variaciones de este valor respecto a los controles a lo largo de la experiencia.

**B. PROTEINOGRAMA****COCIENTE A/G:**

Los resultados obtenidos para este cociente se dan en la tabla 14 y se representan en las gráficas 26, 27 y 28.

Los valores obtenidos han disminuido claramente en los tres grupos inoculados, respecto al grupo control.

En el grupo 1 esta disminución comienza a la 4 s.p.i., alcanzándose a las 6 s.p.i. valores de 0,73 y 0,68 en los subgrupos 1-A y 1-B respectivamente, frente a un valor de

1,01 para el grupo control en esta misma semana. A las 11 s.p.i. empieza una lenta y progresiva recuperación del cociente A/G, sin que se lleguen a alcanzar en ningún momento los niveles del grupo control.

En los grupos 2 y 3 se observa, al igual que en el grupo 1, una clara disminución del cociente a las 4 s.p.i., este cociente empieza a recuperarse a las 8 y 10 s.p.i. (2-A y 2-B respectivamente) en el grupo 2, mientras que en el grupo 3, al realizarse la necropsia de los animales a las 7 s.p.i., no se pudo detectar la recuperación de los valores vista en los grupos 1 y 2.

En los tres subgrupos inoculados con 100.000 esporoquistes (1-B, 2-B y 3-B) el descenso del cociente A/G ha sido mayor, que en los subgrupos inoculados con 50.000 esporoquistes (1-A, 2-A y 3-A).

#### ALBUMINA:

Los valores obtenidos para este parámetro (tabla 15), representados en las gráficas 29, 30, y 31, dan una distribución muy similar a los resultados obtenidos para el cociente A/G, observándose una clara disminución respecto al grupo control a partir de las 4 s.p.i. en los tres grupos, y una lenta recuperación que en el grupo 1 empieza a las 10 s.p.i., en el grupo 2 a las 8 y las 10 s.p.i. (2-A y 2-B respectivamente) y en el grupo 3 no llega a detectarse.

Igualmente se observa una correlación entre la disminución del valor y la dosis de inóculo.

#### GLOBULINAS ALFA:

Los valores medios obtenidos se dan en la tabla 16 y se representan en las gráficas 32, 33 y 34.

Dado que no se han detectado diferencias entre los valores de los grupos inoculados y el control, no se ha considerado necesario desglosar los resultados de las distintas fracciones de la globulina alfa, a pesar de que en el proteinograma se detectaron en la mayoría de los casos tres fracciones bien diferenciadas, alfa 1, alfa 2 y alfa 3.

#### GLOBULINAS BETA:

En las gráficas 35, 36 y 37 se representan los resultados obtenidos para esta globulina (tabla 17). Al igual que en el caso anterior se han separado en los proteinogramas las bandas correspondientes a la globulina beta 1 y beta 2, sin embargo por las mismas razones expuestas con anterioridad, los valores representados en las gráficas son cada uno de ellos la suma de beta 1 y beta 2.

#### GLOBULINAS GAMMA:

En todos los proteinogramas realizados se ha obtenido una banda cargada negativamente que migra hacia el ánodo (gamma 1), y una banda cargada positivamente que migra hacia el cátodo (gamma 2). La suma de los valores obtenidos para

estas dos bandas, con el suero de cada una de las ovejas de los grupos inoculados y control, es lo que se representa en las gráficas 38, 39 y 40 y se da en la tabla 18.

Los resultados obtenidos para esta fracción sérica están inversamente relacionados con los resultados dados para el cociente A/G y la albúmina. A partir de la 4 s.p.i. los valores aumentan en los grupos 1 y 2, mientras que en el grupo 3 el aumento respecto al grupo control se detecta a las 2 s.p.i.

En el grupo 1 este aumento es máximo a las 9 s.p.i. obteniéndose valores de 36,50% y 39,27% (subgrupos 1-A y 1-B respectivamente) frente a 27,27% del grupo control, a partir de este momento empieza una lenta disminución, sin que al final de la experiencia los valores se hayan igualado a los del grupo control. En el grupo 2 las diferencias mayores entre el grupo control y los grupos inoculados se obtienen también a las 9 s.p.i.

En los tres grupos experimentales se obtienen valores más altos de globulina gamma con inóculos de 100.000 esporquistes, que con inóculos de 50.000.

#### **5.2.2.3.2. PARAMETROS BIOQUIMICOS**

##### **GLUTAMICO OXALACETICO TRANSAMINASA:**

Los resultados que se dan en la tabla 19 y se representan en las gráficas 41, 42 y 43, muestran una elevación de la actividad sérica de esta enzima en los grupos 1 y 2 a partir de los dos m.p.i., y a partir de las 2 s.p.i. en el subgrupo 3-B que a las 7 s.p.i. ha alcanzado un valor de 123,96 U.I.

##### **LACTICO DESHIDROGENASA**

Los resultados (tabla 20) representados en las gráficas 44, 45 y 46, muestran que los valores para esta enzima en los tres grupos de ovejas inoculadas se mantienen muy similares a los valores del grupo control, habiéndose detectado únicamente aumento de actividad enzimática a partir de la décima s.p.i. en los grupos inoculados con la dosis mayor.

##### **FOSFATASA ALCALINA:**

Los resultados obtenidos para éste parámetro se representan en las gráficas 47, 48 y 49 y se dan en la tabla 21.

La fosfatasa alcalina disminuye en los subgrupos 1-A, 1-B, 2-B y 3-B a las 4 s.p.i., manteniéndose así durante dos semanas, después de las cuales se vuelven a obtener valores muy próximos al grupo control.

##### **GLUCOSA:**

Los resultados se representan en las gráficas 50, 51 y 52 y se dan en la tabla 22.

Los valores séricos de glucosa obtenidos en las ovejas

inoculadas son muy similares a los del grupo control.

**NITROGENO UREICO:**

Los valores obtenidos de BUN, tabla 23, se representan en las gráficas 53, 54, y 55.

Los resultados de los tres grupos inoculados son muy similares al grupo control.

**CALCIO:**

En las gráficas 56, 57 y 58 se representan los valores obtenidos para éste parámetro que se dan en la tabla 24.

A la semana p.i. se detecta en el grupo 1 disminución de los valores de calcio respecto del grupo control, éste valor se iguala al del grupo control a las 5 s.p.i. (subgrupo 1-A) y a las 6 s.p.i. (subgrupo 1-B), volviendo a disminuir en los dos subgrupos pocas semanas después, y de forma mas notoria en el subgrupo 1-A.

En el subgrupo 2-A se observa disminución de la 1 a la 4 s.p.i. y de la 6 a la 12 s.p.i., mientras que en el subgrupo 2-B la bajada del valor se aprecia entre la 6 y la 8 s.p.i.

En grupo 3 se aprecia disminución para los dos subgrupos desde la 2 s.p.i. hasta el final de la experiencia un mes después.

**FOSFORO:**

Los resultados obtenidos que se dan en la tabla 25, se representan en las gráficas números 59, 60 y 61.

Los niveles medios de fósforo de los animales inoculados a pesar de sufrir ligeras variaciones, son muy similares a los del grupo control.

**5.2.2.3.3. DETECCION DE ANTICUERPOS**

**GRUPO CONTROL**

Las ovejas números 5, 11 y 44 que formaron el grupo 0 mantuvieron durante toda la experiencia un título de anticuerpos del 1/20, respecto a los sueros de referencia utilizados como control negativo.

**GRUPO 1.**

La cinética de aparición de anticuerpos para el subgrupo 1-A se da en la gráfica 62.

En el subgrupo 1-A los niveles de anticuerpos pre-inoculación fueron de 1/40 (oveja número 14), 1/20 (27) y negativo (87). A las dos semanas p.i. las ovejas seropositivas empezaron a aumentar su nivel de anticuerpos mientras que la seronegativa (87) no lo hizo hasta las 4 s.p.i.

Entre la 9 y 11 s.p.i. se alcanzó el título máximo que en la oveja 27 llegó a ser de 1/1280, al final de la

experiencia los títulos permanecían elevados y estacionarios.

En la gráfica 63 se representa la evolución del título de anticuerpos para el subgrupo 1-B, en el que las tres ovejas fueron seropositivas antes de la inoculación, dos de ellas a una dilución 1/20 (16 y 79) y la otra a 1/40 (30).

Los niveles de anticuerpos después de la infestación con esporoquistes empezaron a aumentar entre la primera y la tercera semana, alcanzando a la 9 s.p.i. el título máximo de 1/640 (ovejas números 16 y 79) y 1/1280 (30).

#### **GRUPO 2.**

En la gráfica 64 se representa la cinética de aparición de anticuerpos para el subgrupo 2-A. Las ovejas de éste subgrupo números 10 y 48 tenían anticuerpos anti-Sarcocystis antes de la inoculación (1/40 y 1/20 respectivamente), mientras que la número 82 fue seronegativa.

El aumento del título de anticuerpos se detectó primero en las dos ovejas positivas por IFI antes de la inoculación (primera y segunda semana), que en la oveja negativa (cuarta semana), sin embargo en ésta última el título de 1/1280 que alcanzó a las 8 s.p.i. fue mayor que el de los otros dos animales (640).

En el subgrupo 2-B, cuyos resultados se representan en la gráfica 65, una oveja fue seropositiva a una dilución 1/20 (90), y otra seronegativa (91) antes de la inoculación, los niveles de anticuerpos a las 8 s.p.i. eran de 1/320 para ambas ovejas.

#### **GRUPO 3.**

En las gráficas 66 y 67 se representan los niveles de anti-inmunoglobulinas para los subgrupos 3-A y 3-B respectivamente.

En el subgrupo 3-A las dos ovejas fueron positivas al 1/20 (24 y 40) antes de la infestación, aumentando el título de anticuerpos entre la primera y segunda s.p.i.

En el subgrupo 3-B la oveja número 100 dió un título pre-inoculación de 1/20 mientras que la número 120 fue negativa, la primera de ellas alcanzó un título de anticuerpos en suero de 1/640 a las 4 s.p.i., cuando murió.

#### **5.2.2.4. DESARROLLO DE QUISTES MUSCULARES**

En la tabla 26 se detallan los resultados histológicos obtenidos de la parasitación por microquistes de Sarcocystis, así como los datos del número de cistozoitos por gramo de carne digerida al realizar la necropsia de 10 de las ovejas utilizadas en éste estudio. Así mismo se dan los valores obtenidos del índice de correlación entre el número de quistes y número de bradizoitos para cada una de las ovejas necropsiadas y para cada uno de los órganos estudiados.

El número de microquistes observado en las ovejas 11 y 44 del grupo control, ha estado muy por debajo del recuento de quistes de las ovejas de los grupos inoculados.

El análisis de la estructura morfológica de la pared de los quistes (objetivo 100x), ha permitido diferenciar dos especies S. tenella y S. arieticanis (fotografías 1 y 2).

En todas las ovejas incluidos los controles, se ha observado la presencia de ambas especies, habiéndose encontrado un cociente tenella/arieticanis que ha variado entre 1,1 y 3,5 (tabla 27) obteniéndose una media de 2,5, sin que en ninguno de los cuatro órganos estudiados se haya observado una variación significativa de éste cociente.

Al igual que se había observado en la digestión muscular de las muestras de matadero, el número mayor de quistes se ha encontrado generalmente en lengua seguido de corazón, esófago y diafragma.

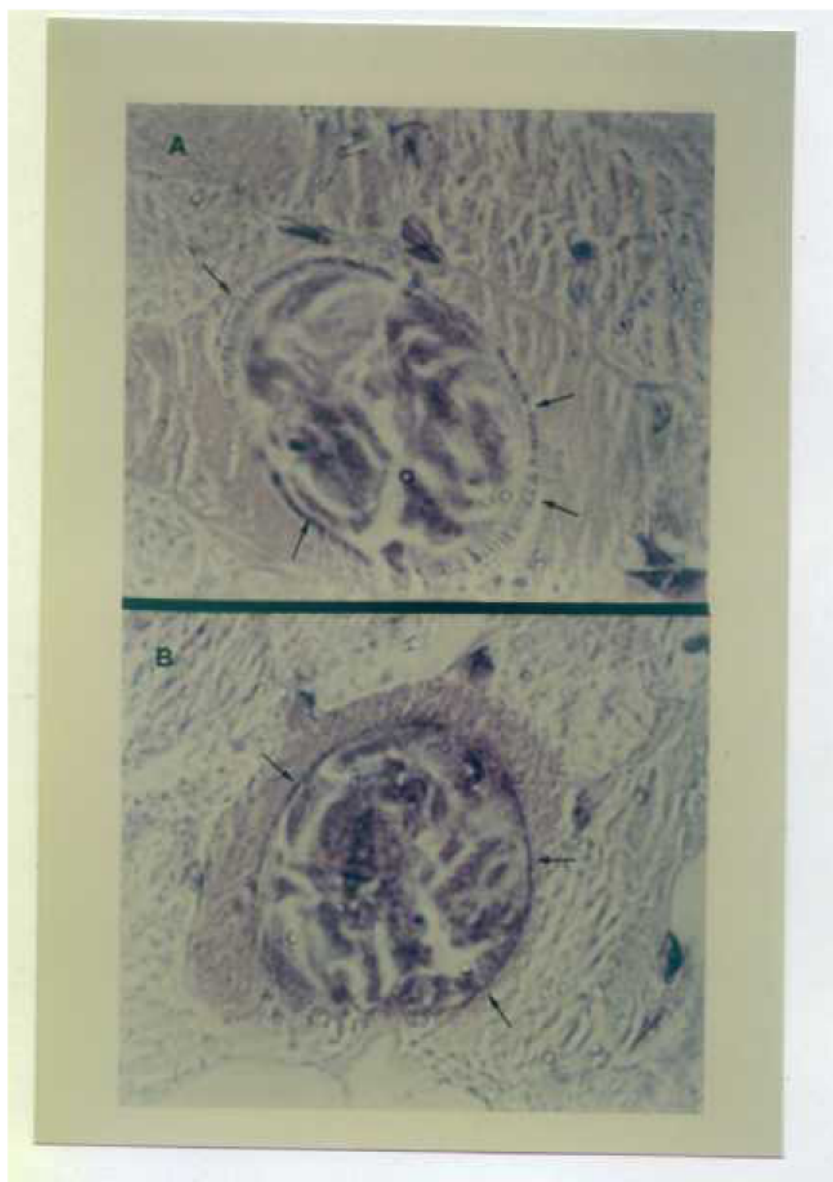


Foto 1.- Corte transversal. A) S. tenella; B) S. arieticanis.

→ Estructura de la pared.

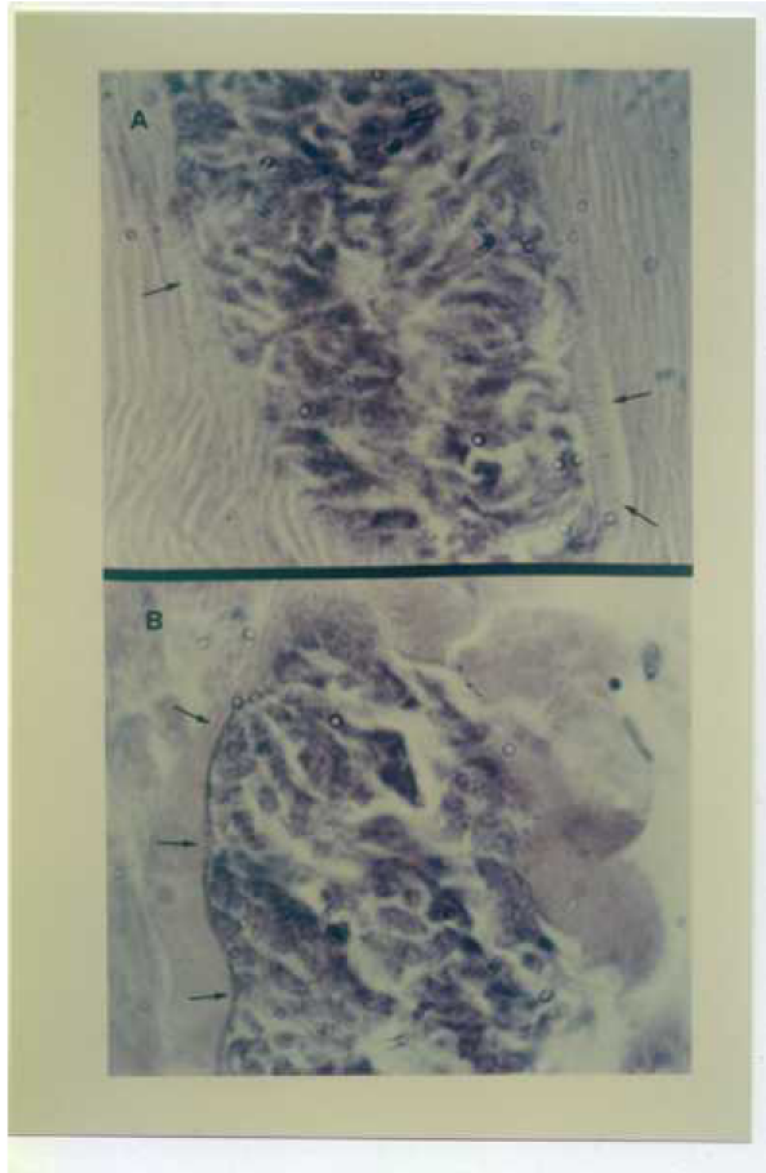


Foto 2.- Corte longitudinal. A) S. tenella; B) S. arieticanis.

→ Estructura de la pared.

CUADRO 1

ESPECIES DE SARCOCYSTIS DE LA OVEJA

| ESPECIE         | H.D.  | H.I.  | ESPOROQUISTES | QUISTES        |         | REFEREN. |
|-----------------|-------|-------|---------------|----------------|---------|----------|
|                 |       |       |               | TAMAÑO         | PARED   |          |
| S. tenella      | perro | oveja | 12,8-15x9-9,8 | <100%          | gruesa  | 62       |
| S. arieticanis  | perro | oveja | 15-16,5x9,8-  | 300-650x20-50* | delgada | 64       |
| S. gigantea     | gato  | oveja | 10,5          | 4,5-7,5x2-5#   | gruesa  | 46,54    |
| S. Medusiformis | gato  | oveja | 13-8,9        | 4x0,5#         | delgada | 54,65    |

H.D. - Hospedador definitivo

H.I. - Hospedador intermedio

\* - micras

# - mm

CUADRO 2

INOCULACIONES EXPERIMENTALES

| Nº  | EDAD | CRUPO | SUBGR. | D. I.   | INOC. * |
|-----|------|-------|--------|---------|---------|
| 5   | 6    | C     | -      | -       | -       |
| 11  | 5    | C     | -      | -       | -       |
| 44  | 5    | C     | -      | -       | -       |
| 14  | 5    | 1     | 1-A    | 50.000  | 47      |
| 27  | 5    | 1     | 1-A    | 50.000  | 47      |
| 87  | 2    | 1     | 1-A    | 50.000  | 47      |
| 16  | 6    | 1     | 1-B    | 100.000 | 47      |
| 30  | 5    | 1     | 1-B    | 100.000 | 47      |
| 79  | 2    | 1     | 1-B    | 100.000 | 47      |
| 10  | 4    | 2     | 2-A    | 50.000  | 75      |
| 48  | 6    | 2     | 2-A    | 50.000  | 75      |
| 82  | 2    | 2     | 2-A    | 50.000  | 75      |
| 53  | 6    | 2     | 2-A    | -       | #       |
| 72  | 4    | 2     | 2-B    | -       | #       |
| 89  | 2    | 2     | 2-B    | -       | #       |
| 90  | 2    | 2     | 2-B    | 100.000 | 75      |
| 91  | 2    | 2     | 2-B    | 100.000 | 75      |
| 24  | 4    | 3     | 3-A    | 50.000  | 117     |
| 40  | 4    | 3     | 3-A    | 50.000  | 117     |
| 60  | 2    | 3     | 3-A    | -       | #       |
| 100 | 6    | 3     | 3-B    | 100.000 | 117     |
| 120 | 5    | 3     | 3-B    | 100.000 | 117     |

D.I. - Dosis de inóculo

\* - Días de gestación en el momento de inoculación

# - Oveja no gestante

TABLA 6

VALORES MEDIOS DE ERITROCITOS x 1000000/ml

| SEMANA     | CONTROL   |          | 1-A       |          | 1-B       |          | 2-A       |          | 2-B       |          | 3-A       |          | 3-B       |          |
|------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
|            | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ |
| Enero 2a.  | 9,12      | 0,14     | 10,97     | 2,57     | 8,46      | 0,12     | 8,57      | 0,00     | 9,87      | 0,89     | 9,09      | 0,31     | 8,97      | 1,55     |
| " 3a.      | 9,17      | 1,39     | 10,38     | 1,03     | 9,31      | 1,10     | 9,25      | 1,56     | 10,12     | 1,13     | 9,22      | 0,63     | 9,07      | 0,98     |
| " 4a.      | 10,20     | 2,50     | 19,69     | 0,20     | 18,64     | 2,26     | 8,91      | 0,44     | 9,02      | 0,00     | 9,47      | 0,15     | 8,55      | 1,45     |
| Febre. 1a. | 9,73      | 1,74     | 9,63      | 1,09     | 9,40      | 1,29     | 9,06      | 0,63     | 9,95      | 1,36     | 9,48      | 0,40     | 8,52      | 0,67     |
| " 2a.      | 10,78     | 0,81     | 9,78      | 0,79     | 8,61      | 0,60     | 10,15     | 0,51     | 9,99      | 2,13     | 10,24     | 1,55     | 10,83     | 1,45     |
| " 3a.      | 10,65     | 0,79     | 9,54      | 0,64     | 9,34      | 1,33     | 9,18      | 0,40     | 9,59      | 0,18     | 10,07     | 1,11     | 8,90      | 0,31     |
| " 4a.      | 11,46     | 1,43     | 9,54      | 0,27     | 9,39      | 1,51     | 19,60     | 1,72     | 19,06     | 0,85     | 8,83      | 0,43     | 9,66      | 0,33     |
| Marzo 1a.  | 10,71     | 1,00     | 9,16      | 0,41     | 8,90      | 0,00     | 11,06     | 1,75     | 10,24     | 0,79     | 8,77      | 0,10     | 10,44     | 2,13     |
| " 2a.      | 8,15      | 0,65     | 8,07      | 0,62     | 7,18      | 0,15     | 6,85      | 2,13     | 9,14      | 0,88     | 9,00      | 0,29     | 8,08      | 2,18     |
| " 3a.      | 8,96      | 1,02     | 8,63      | 0,74     | 8,38      | 1,43     | 8,67      | 1,00     | 7,58      | 1,88     | 8,05      | 2,16     | 7,81      | 1,01     |
| " 4a.      | 8,93      | 0,21     | 8,24      | 0,92     | 7,11      | 1,15     | 7,39      | 1,48     | 8,77      | 0,04     | 9,28      | 0,96     | 7,84      | 2,49     |
| Abril 1a.  | 9,01      | 0,81     | 7,01      | 2,27     | 8,38      | 1,24     | 7,16      | 0,78     | 8,18      | 0,48     | 19,64     | 0,31     | 18,11     | 0,03     |
| " 2a.      | 8,95      | 1,19     | 7,83      | 0,60     | 7,35      | 1,85     | 7,04      | 1,57     | 6,64      | 0,61     | 6,68      | 0,24     | 6,34      | 0,40     |
| " 3a.      | 8,20      | 1,15     | 7,98      | 0,66     | 7,35      | 0,58     | 6,18      | 2,48     | 6,85      | 0,45     | 8,48      | 1,27     | 7,81      | 0,94     |
| " 4a.      | 9,39      | 0,46     | 8,08      | 1,51     | 8,18      | 0,79     | 8,46      | 1,33     | 7,19      | 2,02     | 8,70      | 0,33     | 7,46      | 1,30     |
| Mayo 2a.   | 8,51      | 1,11     | 8,41      | 0,28     | 8,00      | 0,53     | 7,56      | 1,19     | 8,09      | 0,89     | 8,58      | 0,17     | 9,33      | 0,00     |
| " 4a.      | 9,14      | 0,79     | 8,86      | 0,98     | 8,67      | 0,09     | 8,79      | 1,45     | 9,62      | 0,82     | 9,51      | 0,43     | 8,48      | 0,00     |

\*Infección

TABLA 7

VALDRES MEDIOS DE LEUCOCITOS x 1000/ml

| SEMANA     | CONTROL   |          | 1-A       |          | 1-B       |          | 2-A       |          | 2-B       |          | 3-A       |          | 3-B       |          |
|------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
|            | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ |
| Enero 2a.  | 11.10     | 2,12     | 11.06     | 2,79     | 8.85      | 0,07     | 11.3      | 0,00     | 9,20      | 0,69     | 8.57      | 2,15     | 12.6      | 1,97     |
| " 3a.      | 8.46      | 1,35     | 11.20     | 1,37     | 9.43      | 0,72     | 10.76     | 1,85     | 7.90      | 1,13     | 9.35      | 0,91     | 13.25     | 2,12     |
| " 4a.      | 10.03     | 0,76     | 19.50     | 0,60     | 18.23     | 0,68     | 8.13      | 0,70     | 9.50      | 0,00     | 9.70      | 1,90     | 7.41      | 0,54     |
| Febre. 1a. | 10.00     | 1,08     | 7.60      | 1,41     | 7.76      | 1,45     | 9.26      | 1,19     | 10.25     | 0,28     | 8.55      | 2,19     | 6.75      | 0,91     |
| " 2a.      | 8.63      | 1,19     | 9.16      | 2,82     | 9.03      | 0,98     | 12.00     | 0,85     | 9.00      | 0,70     | 7.80      | 0,00     | 6.95      | 1,62     |
| " 3a.      | 9.43      | 1,77     | 6.93      | 1,86     | 8.45      | 0,91     | 12.13     | 1,67     | 9.00      | 0,42     | 11.10     | 1,27     | 8.20      | 1,27     |
| " 4a.      | 10.00     | 2,27     | 8.76      | 1,61     | 7.33      | 1,55     | 19.12     | 1,81     | 110.10    | 1,27     | 8.90      | 2,12     | 9.45      | 1,20     |
| Marzo 1a.  | 9.55      | 0,49     | 8.73      | 0,60     | 8.33      | 0,30     | 9.63      | 0,58     | 8.65      | 1,20     | 8.10      | 0,56     | 9.00      | 0,28     |
| " 2a.      | 9.50      | 0,00     | 8.70      | 2,26     | 8.46      | 1,35     | 11.45     | 1,34     | 11.40     | 1,69     | 8.30      | 1,14     | 9.60      | 1,97     |
| " 3a.      | 11.46     | 2,43     | 9.25      | 1,06     | 9.93      | 1,28     | 10.16     | 1,18     | 12.65     | 0,35     | 12.10     | 2,19     | 12.35     | 2,05     |
| " 4a.      | 9.00      | 0,55     | 8.16      | 0,20     | 8.80      | 1,27     | 8.53      | 1,55     | 9.25      | 0,21     | 8.70      | 1,13     | 8.80      | 1,13     |
| Abril 1a.  | 11.03     | 2,10     | 8.45      | 1,20     | 10.30     | 1,65     | 9.77      | 1,61     | 7.95      | 0,63     | 18.05     | 0,49     | 11.50     | 1,97     |
| " 2a.      | 9.80      | 1,96     | 7.53      | 1,67     | 11.13     | 1,95     | 9.40      | 1,05     | 8.75      | 0,07     | 7.45      | 0,96     | 11.15     | 1,20     |
| " 3a.      | 9.10      | 2,00     | 8.93      | 2,50     | 10.70     | 1,55     | 9.06      | 1,72     | 9.05      | 0,91     | 7.85      | 0,21     | 8.75      | 0,07     |
| " 4a.      | 11.93     | 2,94     | 12.76     | 1,45     | 10.86     | 1,05     | 8.66      | 0,75     | 9.90      | 1,13     | 9.10      | 1,90     | 10.00     | 0,42     |
| Mayo 2a.   | 11.10     | 0,56     | 11.36     | 1,19     | 10.15     | 0,91     | 10.76     | 0,60     | 11.30     | 0,56     | 10.90     | 1,97     | 11.20     | 0,00     |
| " 4a.      | 10.43     | 2,75     | 10.30     | 2,95     | 10.05     | 0,07     | 10.40     | 0,85     | 9.80      | 0,14     | 10.75     | 1,90     | 9.95      | 0,00     |

‡Infección

TABLA 8

VALORES MEDIOS DE Hcto. %

| SEMANA     | CONTROL   |          | 1-A       |          | 1-B       |          | 2-A       |          | 2-B       |          | 3-A       |          | 3-B       |          |
|------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
|            | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ |
| Enero 2a.  | 24.66     | 0,57     | 25.33     | 2,30     | 24.50     | 2,53     | 24.00     | 0,00     | 26,50     | 1,04     | 26.00     | 1,41     | 25.00     | 2,82     |
| • 3a.      | 27.66     | 2,51     | 26.33     | 0,57     | 27.00     | 2,64     | 28.66     | 1,15     | 30.50     | 0,70     | 25.50     | 2,12     | 30.00     | 0,00     |
| • 4a.      | 28.33     | 2,01     | 27.66     | 3,21     | 27.33     | 2,08     | 27.33     | 3,21     | 34.00     | 0,00     | 28.00     | 1,41     | 28.50     | 2,12     |
| Febre. 1a. | 27.66     | 2,88     | 28.00     | 2,00     | 29.33     | 1,15     | 27.33     | 0,57     | 31.50     | 0,70     | 26.00     | 1,41     | 27.00     | 1,41     |
| • 2a.      | 27.33     | 3,05     | 26.33     | 1,52     | 25.66     | 2,08     | 26.00     | 1,00     | 28.00     | 2,82     | 25.50     | 0,70     | 26.50     | 2,12     |
| • 3a.      | 31.66     | 3,78     | 27.33     | 4,16     | 26.66     | 3,21     | 28.00     | 1,00     | 29.00     | 2,82     | 26.00     | 1,41     | 28.00     | 2,82     |
| • 4a.      | 29.00     | 3,00     | 26.00     | 2,00     | 25.66     | 0,57     | 30.00     | 1,00     | 28.50     | 2,12     | 28.50     | 2,12     | 25.00     | 1,41     |
| Marzo 1a.  | 30.50     | 0,70     | 27.66     | 2,30     | 27.33     | 2,08     | 29.33     | 1,15     | 28.50     | 2,12     | 26.50     | 2,16     | 30.50     | 2,12     |
| • 2a.      | 29.00     | 0,00     | 24.66     | 2,78     | 23.00     | 2,64     | 24.66     | 2,51     | 24.50     | 2,12     | 26.50     | 2,12     | 28.00     | 1,41     |
| • 3a.      | 30.00     | 1,00     | 29.33     | 1,15     | 30.00     | 2,00     | 28.66     | 0,57     | 28.50     | 0,70     | 29.00     | 1,41     | 28.50     | 0,70     |
| • 4a.      | 26.00     | 2,82     | 22.33     | 1,52     | 24.00     | 2,82     | 23.66     | 1,15     | 27.50     | 0,70     | 26.00     | 1,41     | 27.50     | 2,12     |
| Abril 1a.  | 30.00     | 1,73     | 27.33     | 2,51     | 29.66     | 1,52     | 29.33     | 1,15     | 26.00     | 1,41     | 29.50     | 0,70     | 26.00     | 1,41     |
| • 2a.      | 29.33     | 1,15     | 28.33     | 0,57     | 30.00     | 1,00     | 27.33     | 1,15     | 28.50     | 0,70     | 30.50     | 1,41     | 28.00     | 0,00     |
| • 3a.      | 28.33     | 2,08     | 28.00     | 0,00     | 27.33     | 1,15     | 30.00     | 2,00     | 28.00     | 2,82     | 28.50     | 0,70     | 30.50     | 0,70     |
| • 4a.      | 28.33     | 1,52     | 28.66     | 1,15     | 28.33     | 2,08     | 29.33     | 1,52     | 28.50     | 0,70     | 28.00     | 1,41     | 30.00     | 0,00     |
| Mayo 2a.   | 28.33     | 2,88     | 29.66     | 1,52     | 28.00     | 0,00     | 29.00     | 1,73     | 29.00     | 0,00     | 28.50     | 0,70     | 30.00     | 0,00     |
| • 4a.      | 31.66     | 2,88     | 29.00     | 1,73     | 32.00     | 2,82     | 29.33     | 2,08     | 34.00     | 1,41     | 32.50     | 0,70     | 30.00     | 0,00     |

†Infección

TABLA 9

VALORES MEDIDOS DE Hb gr/100ml

| SEMANA     | CONTROL   |          | 1-A       |          | 1-B       |          | 2-A       |          | 2-B       |          | 3-A       |          | 3-B       |          |
|------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
|            | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ |
| Enero 2a.  | 9.66      | 0,57     | 10.00     | 1,73     | 9.05      | 0,07     | 9.00      | 0,00     | 9,45      | 0,70     | 9.50      | 0,00     | 10.00     | 0,70     |
| " 3a.      | 10.43     | 1,40     | 10.16     | 1,15     | 9.90      | 0,79     | 9.83      | 1,25     | 9.75      | 1,06     | 8.75      | 0,35     | 10.75     | 1,06     |
| " 4a.      | 9.36      | 0,55     | 10.66     | 0,28     | 10.33     | 1,52     | 9.26      | 0,75     | 12.00     | 0,00     | 10.25     | 0,35     | 10.40     | 0,14     |
| Febre. 1a. | 10.93     | 0,40     | 10.16     | 0,57     | 9.93      | 1,28     | 8.83      | 1,04     | 10.50     | 0,70     | 10.25     | 0,35     | 11.50     | 0,70     |
| " 2a.      | 9.20      | 0,26     | 9.20      | 0,75     | 8.96      | 0,23     | 9.20      | 0,75     | 9.05      | 0,21     | 9.40      | 0,84     | 9.30      | 0,14     |
| " 3a.      | 10.46     | 1,50     | 9.66      | 0,28     | 10.00     | 0,50     | 10.33     | 0,57     | 9.25      | 1,06     | 10.40     | 0,14     | 11.10     | 0,56     |
| " 4a.      | 11.16     | 1,25     | 10.50     | 0,86     | 9.33      | 1,04     | 10.83     | 1,44     | 10.50     | 0,70     | 10.00     | 0,70     | 11.25     | 1,76     |
| Marzo 1a.  | 10.10     | 1,27     | 9.66      | 0,30     | 9.76      | 1,09     | 9.46      | 0,50     | 9.55      | 0,63     | 8.75      | 0,91     | 10.25     | 0,21     |
| " 2a.      | 8.90      | 0,52     | 8.93      | 0,05     | 10.20     | 0,98     | 9.16      | 1,32     | 9.05      | 0,21     | 10.10     | 0,14     | 10.20     | 0,28     |
| " 3a.      | 9.30      | 0,75     | 10.80     | 0,81     | 10.06     | 1,00     | 9.43      | 0,66     | 9.85      | 1,20     | 9.45      | 0,77     | 8.95      | 0,07     |
| " 4a.      | 8.00      | 0,86     | 8.50      | 0,86     | 9.25      | 1,76     | 8.00      | 1,32     | 9.25      | 0,35     | 9.25      | 1,06     | 8.75      | 1,06     |
| Abril 1a.  | 11.03     | 1,70     | 10.06     | 0,75     | 11.23     | 1,25     | 10.56     | 1,24     | 10.35     | 0,21     | 12.65     | 1,20     | 10.96     | 0,91     |
| " 2a.      | 9.33      | 0,57     | 8.96      | 0,11     | 9.40      | 0,62     | 8.70      | 0,43     | 9.10      | 0,14     | 9.10      | 0,14     | 8.65      | 0,49     |
| " 3a.      | 8.76      | 0,70     | 9.13      | 0,41     | 9.13      | 0,55     | 9.36      | 0,55     | 8.55      | 0,77     | 9.30      | 0,98     | 9.75      | 0,35     |
| " 4a.      | 9.46      | 0,50     | 9.10      | 0,95     | 9.13      | 0,58     | 9.10      | 0,55     | 9.45      | 0,63     | 9.60      | 0,84     | 10.05     | 0,07     |
| Mayo 2a.   | 9.60      | 0,69     | 9.80      | 0,75     | 8.35      | 0,49     | 9.83      | 1,02     | 9.05      | 0,07     | 9.35      | 0,91     | 8.70      | 0,00     |
| " 4a.      | 9.20      | 0,72     | 9.66      | 0,57     | 9.10      | 0,56     | 9.80      | 0,34     | 9.70      | 0,42     | 9.70      | 0,42     | 9.00      | 0,00     |

Infección

TABLA 10

VALORES MEDIOS DEL VCM micras cúbicas

| SEMANA     | CONTROL   |          | 1-A       |          | 1-B       |          | 2-A       |          | 2-B       |          | 3-A       |          | 3-B       |          |
|------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
|            | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ |
| Enero 2a.  | 27,0      | 0,5      | 23,5      | 3,1      | 28,9      | 4,5      | 28,0      | 0,0      | 24,3      | 3,2      | 28,6      | 2,5      | 28,5      | 4,2      |
| " 3a.      | 28,9      | 5,3      | 24,4      | 2,6      | 29,4      | 5,2      | 33,2      | 4,7      | 30,3      | 4,0      | 27,6      | 0,3      | 36,2      | 4,6      |
| " 4a.      | 29,0      | 6,0      | 28,5      | 3,7      | 32,6      | 5,9      | 30,5      | 2,5      | 27,6      | 0,0      | 29,5      | 2,0      | 34,2      | 1,7      |
| Febre. 1a. | 28,9      | 5,2      | 29,1      | 2,1      | 31,6      | 5,2      | 30,2      | 2,1      | 31,9      | 5,0      | 27,4      | 2,6      | 31,8      | 5,8      |
| " 2a.      | 25,5      | 4,6      | 26,9      | 2,8      | 29,8      | 1,6      | 25,6      | 1,4      | 28,9      | 5,9      | 25,2      | 4,5      | 24,3      | 1,3      |
| " 3a.      | 29,6      | 1,6      | 28,8      | 5,5      | 28,8      | 5,1      | 30,4      | 1,2      | 30,2      | 3,4      | 25,7      | 2,2      | 28,2      | 5,7      |
| " 4a.      | 27,4      | 2,7      | 26,1      | 0,7      | 27,7      | 3,9      | 31,6      | 4,2      | 30,9      | 3,7      | 32,2      | 0,8      | 26,0      | 2,1      |
| Marzo 1a.  | 28,6      | 3,3      | 30,2      | 3,2      | 32,5      | 0,0      | 26,8      | 3,3      | 27,9      | 4,2      | 30,1      | 5,3      | 30,4      | 5,6      |
| " 2a.      | 34,0      | 1,1      | 30,9      | 4,4      | 31,9      | 5,6      | 36,3      | 2,9      | 26,7      | 2,0      | 29,4      | 4,9      | 36,1      | 1,4      |
| " 3a.      | 33,7      | 4,0      | 34,0      | 1,8      | 36,8      | 6,3      | 33,3      | 4,1      | 32,8      | 2,2      | 37,7      | 1,9      | 36,6      | 3,8      |
| " 4a.      | 29,0      | 2,2      | 27,3      | 4,2      | 33,8      | 1,5      | 32,1      | 2,2      | 31,2      | 0,4      | 28,0      | 0,1      | 36,4      | 0,8      |
| Abril 1a.  | 33,5      | 4,8      | 41,9      | 1,5      | 35,8      | 5,4      | 40,5      | 2,5      | 31,8      | 3,6      | 30,6      | 1,6      | 32,0      | 1,8      |
| " 2a.      | 33,2      | 5,5      | 36,2      | 2,3      | 42,1      | 4,8      | 40,3      | 1,9      | 43,0      | 4,9      | 37,7      | 6,8      | 34,2      | 2,8      |
| " 3a.      | 35,1      | 5,8      | 35,2      | 3,0      | 39,7      | 6,5      | 45,3      | 1,5      | 41,0      | 6,8      | 36,5      | 6,4      | 37,8      | 3,9      |
| " 4a.      | 30,2      | 1,9      | 36,2      | 6,6      | 38,0      | 5,7      | 35,2      | 6,2      | 43,0      | 8,2      | 35,4      | 6,7      | 37,4      | 4,1      |
| Mayo 2a.   | 34,0      | 5,9      | 35,2      | 2,9      | 35,0      | 2,3      | 38,7      | 4,4      | 36,0      | 4,0      | 34,9      | 6,0      | 32,1      | 0,0      |
| " 4a.      | 34,9      | 3,6      | 32,7      | 1,7      | 36,9      | 3,7      | 33,6      | 4,7      | 35,4      | 1,5      | 36,1      | 2,2      | 39,7      | 0,0      |

\*Infección

TABLA 11

VALORES MEDIOS DE HCM micromicrogr.

| SEMANA     | CONTROL   |          | 1-A       |          | 1-B       |          | 2-A       |          | 2-B       |          | 3-A       |          | 3-B       |          |
|------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
|            | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ |
| Enero 2a.  | 10,5      | 0,5      | 9,2       | 2,1      | 10,6      | 0,2      | 10,5      | 0,0      | 10,4      | 1,0      | 10,4      | 0,4      | 12,3      | 0,6      |
| " 3a.      | 11,3      | 0,8      | 9,7       | 0,9      | 10,7      | 2,1      | 10,7      | 1,8      | 9,6       | 0,1      | 9,4       | 0,2      | 12,1      | 4,2      |
| " 4a.      | 9,4       | 1,7      | *10,9     | 0,3      | *12,3     | 3,0      | 10,3      | 1,3      | 13,3      | 0,0      | 10,8      | 0,5      | 12,3      | 2,3      |
| Febre. 1a. | 11,4      | 2,2      | 10,5      | 1,1      | 10,6      | 2,0      | 9,6       | 0,7      | 10,7      | 3,5      | 10,7      | 0,1      | 13,6      | 3,5      |
| " 2a.      | 8,5       | 0,8      | 9,4       | 1,1      | 10,4      | 0,4      | 9,0       | 1,0      | 10,0      | 2,5      | 9,3       | 2,2      | 8,6       | 0,9      |
| " 3a.      | 9,8       | 2,0      | 10,1      | 1,0      | 10,8      | 2,0      | 11,2      | 1,1      | 9,5       | 0,9      | 10,3      | 0,9      | 9,7       | 2,3      |
| " 4a.      | 9,5       | 0,6      | 11,4      | 0,2      | 9,9       | 0,8      | *10,5     | 1,9      | *11,7     | 3,4      | 11,2      | 0,2      | 11,6      | 2,2      |
| Marzo 1a.  | 9,5       | 2,0      | 10,5      | 0,6      | 10,0      | 0,1      | 8,6       | 1,5      | 9,3       | 1,3      | 9,9       | 1,1      | 10,3      | 3,4      |
| " 2a.      | 10,7      | 0,2      | 11,0      | 0,9      | 14,1      | 1,3      | 14,2      | 2,8      | 9,9       | 0,7      | 11,0      | 1,1      | 12,9      | 1,3      |
| " 3a.      | 10,5      | 2,0      | 12,4      | 0,2      | 12,3      | 2,4      | 10,9      | 1,8      | 13,5      | 2,9      | 12,0      | 2,3      | 11,5      | 1,5      |
| " 4a.      | 8,9       | 1,0      | 10,2      | 0,1      | 12,9      | 0,3      | 10,8      | 0,7      | 10,2      | 0,2      | 9,9       | 0,1      | 11,4      | 2,2      |
| Abril 1a.  | 12,1      | 1,0      | 15,6      | 0,6      | 13,4      | 1,3      | 15,1      | 0,4      | 12,6      | 1,0      | *13,0     | 0,8      | *11,3     | 0,5      |
| " 2a.      | 10,5      | 1,2      | 11,4      | 0,7      | 13,1      | 2,5      | 12,8      | 2,1      | 13,7      | 1,4      | 13,6      | 0,7      | 13,6      | 1,6      |
| " 3a.      | 10,8      | 2,1      | 11,4      | 0,9      | 12,5      | 1,6      | 13,9      | 2,6      | 12,5      | 2,0      | 12,3      | 2,1      | 12,4      | 1,1      |
| " 4a.      | 10,0      | 0,4      | 11,5      | 3,0      | 11,1      | 0,7      | 10,9      | 1,9      | 13,5      | 2,9      | 11,0      | 1,3      | 13,6      | 2,2      |
| Mayo 2a.   | 11,4      | 2,4      | 11,6      | 1,2      | 10,3      | 0,1      | 13,1      | 2,4      | 11,2      | 1,1      | 10,8      | 0,9      | 9,3       | 0,0      |
| " 4a.      | 10,9      | 2,5      | 10,9      | 1,3      | 10,4      | 0,8      | 11,3      | 1,8      | 10,1      | 1,2      | 10,4      | 0,8      | 10,6      | 0,0      |

\*Infección

TABLA 12

VALORES MEDIOS DE CCMH volumen X

| SEMANA     | CONTROL   |          | 1-A       |          | 1-B       |          | 2-A       |          | 2-B       |          | 3-A       |          | 3-B       |          |
|------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
|            | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ |
| Enero 2a.  | 39        | 3,42     | 39        | 5,24     | 36        | 4,36     | 37        | 0,91     | 33        | 2,10     | 32        | 5,03     | 41        | 1,80     |
| " 3a.      | 38        | 1,81     | 38        | 3,49     | 35        | 2,14     | 39        | 5,41     | 32        | 4,25     | 34        | 1,25     | 32        | 0,87     |
| " 4a.      | 33        | 2,47     | 38        | 3,82     | 37        | 3,89     | 34        | 5,02     | 35        | 0,89     | 36        | 0,40     | 36        | 2,86     |
| Febre. 1a. | 39        | 2,95     | 35        | 1,87     | 33        | 4,67     | 32        | 4,58     | 33        | 5,10     | 37        | 3,27     | 42        | 3,56     |
| " 2a.      | 33        | 3,42     | 35        | 4,89     | 34        | 2,34     | 35        | 2,31     | 32        | 2,46     | 36        | 2,53     | 35        | 4,29     |
| " 3a.      | 33        | 4,21     | 35        | 3,24     | 37        | 5,02     | 36        | 2,65     | 32        | 4,23     | 39        | 3,21     | 39        | 0,78     |
| " 4a.      | 38        | 0,90     | 40        | 3,58     | 36        | 3,96     | 35        | 4,97     | 36        | 4,56     | 35        | 0,42     | 44        | 5,03     |
| Marzo 1a.  | 32        | 3,65     | 35        | 4,36     | 35        | 3,80     | 32        | 1,50     | 33        | 1,00     | 33        | 5,45     | 33        | 3,21     |
| " 2a.      | 31        | 2,91     | 36        | 4,12     | 44        | 5,21     | 38        | 4,90     | 36        | 2,30     | 38        | 5,01     | 36        | 3,35     |
| " 3a.      | 30        | 2,52     | 36        | 1,69     | 38        | 1,21     | 32        | 1,50     | 34        | 2,10     | 32        | 3,61     | 31        | 0,51     |
| " 4a.      | 32        | 3,06     | 38        | 4,78     | 38        | 2,58     | 33        | 0,87     | 33        | 0,28     | 35        | 0,82     | 31        | 1,96     |
| Abril 1a.  | 36        | 4,82     | 36        | 1,08     | 37        | 3,26     | 36        | 3,98     | 39        | 0,65     | 40        | 5,16     | 32        | 1,18     |
| " 2a.      | 31        | 1,36     | 31        | 0,32     | 31        | 1,47     | 31        | 0,61     | 31        | 0,78     | 30        | 0,84     | 30        | 1,60     |
| " 3a.      | 29        | 0,88     | 32        | 1,53     | 32        | 0,49     | 31        | 2,65     | 30        | 0,39     | 32        | 2,10     | 31        | 0,53     |
| " 4a.      | 31        | 2,14     | 31        | 2,40     | 32        | 2,67     | 30        | 2,87     | 33        | 3,54     | 34        | 0,97     | 33        | 0,89     |
| Mayo 2a.   | 33        | 1,37     | 32        | 0,99     | 29        | 1,36     | 33        | 2,14     | 31        | 0,95     | 32        | 4,21     | 29        | 0,00     |
| " 4a.      | 28        | 4,26     | 32        | 3,29     | 28        | 0,58     | 34        | 5,68     | 28        | 2,43     | 29        | 0,57     | 25        | 0,00     |

‡Infección

TABLA 13

VALORES MEDIOS DE PROTEINA gr/100ml

| SEMANA     | CONTROL   |          | 1-A       |          | 1-B       |          | 2-A       |          | 2-B       |          | 3-A       |          | 3-B       |          |
|------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
|            | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ |
| Enero 2a.  | 6,57      | 0,18     | 6,49      | 0,83     | 6,94      | 0,16     | 7,68      | 0,63     | 7,24      | 0,20     | 7,18      | 0,12     | 6,96      | 0,94     |
| " 3a.      | 6,46      | 0,07     | 6,65      | 0,84     | 6,33      | 0,23     | 6,70      | 0,69     | 6,33      | 0,22     | 6,41      | 0,67     | 6,07      | 0,45     |
| " 4a.      | 6,53      | 0,13     | 6,79      | 0,66     | 6,91      | 0,21     | 7,68      | 0,38     | 6,99      | 0,63     | 7,25      | 0,30     | 6,56      | 1,06     |
| Febre. 1a. | 7,50      | 0,26     | 7,23      | 0,83     | 7,03      | 0,58     | 7,67      | 0,18     | 6,34      | 0,72     | 7,80      | 0,51     | 6,28      | 0,20     |
| " 2a.      | 6,95      | 0,80     | 6,79      | 0,95     | 6,11      | 0,39     | 6,38      | 1,65     | 5,72      | 0,61     | 7,23      | 0,94     | 4,53      | 0,07     |
| " 3a.      | 7,14      | 0,39     | 7,06      | 0,76     | 7,01      | 0,79     | 7,17      | 0,48     | 7,03      | 0,45     | 7,16      | 0,77     | 6,35      | 0,15     |
| " 4a.      | 6,88      | 0,56     | 6,55      | 0,71     | 6,61      | 0,42     | 6,00      | 0,42     | 6,80      | 0,35     | 6,76      | 0,66     | 6,34      | 0,03     |
| Marzo 1a.  | 7,03      | 0,68     | 6,97      | 0,90     | 6,89      | 0,79     | 7,34      | 0,35     | 7,16      | 0,07     | 7,00      | 0,46     | 6,83      | 0,38     |
| " 2a.      | 7,08      | 0,71     | 7,63      | 0,87     | 7,36      | 0,94     | 7,51      | 0,34     | 7,07      | 0,27     | 7,40      | 0,60     | 6,56      | 0,02     |
| " 3a.      | 7,36      | 0,69     | 7,31      | 0,90     | 7,04      | 1,08     | 7,04      | 0,24     | 6,02      | 1,55     | 7,11      | 0,19     | 6,33      | 0,03     |
| " 4a.      | 7,19      | 0,39     | 8,04      | 1,12     | 7,91      | 0,41     | 7,00      | 0,478    | 7,43      | 0,57     | 7,35      | 0,48     | 6,58      | 0,84     |
| Abril 1a.  | 7,49      | 0,39     | 8,02      | 1,14     | 7,79      | 0,54     | 6,93      | 1,13     | 6,60      | 0,96     | 6,51      | 0,35     | 6,73      | 0,16     |
| " 2a.      | 7,36      | 0,21     | 7,24      | 1,12     | 7,14      | 1,24     | 7,58      | 0,35     | 7,72      | 0,09     | 6,90      | 0,16     | 6,51      | 0,45     |
| " 3a.      | 6,81      | 0,45     | 6,86      | 0,75     | 7,16      | 0,49     | 7,31      | 0,35     | 7,23      | 0,53     | 6,96      | 0,13     | 6,40      | 0,49     |
| " 4a.      | 6,72      | 0,61     | 6,99      | 1,12     | 6,73      | 0,39     | 7,14      | 0,15     | 7,04      | 0,04     | 6,78      | 0,16     | 6,54      | 0,47     |
| Mayo 2a.   | 6,95      | 0,55     | 6,51      | 0,92     | 7,13      | 0,09     | 6,90      | 0,53     | 7,54      | 0,85     | 7,54      | 0,50     | 7,52      | 0,00     |
| " 4a.      | 7,53      | 0,67     | 7,63      | 0,53     | 6,86      | 0,63     | 8,44      | 1,65     | 8,76      | 0,69     | 8,11      | 0,98     | 8,84      | 0,00     |

‡Infección

TABLA 14

## VALORES MEDIOS COCIENTE A/G

| SEMANA     | CONTROL   |          | 1-A       |          | 1-B       |          | 2-A       |          | 2-B       |          | 3-A       |          | 3-B       |          |
|------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
|            | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ |
| Enero 2a.  | 1,08      | 0,03     | 0,99      | 0,06     | 0,98      | 0,07     | 0,99      | 0,02     | 0,92      | 0,04     | 0,94      | 0,12     | 0,94      | 0,28     |
| " 3a.      | 0,97      | 0,13     | 0,92      | 0,01     | 0,94      | 0,19     | 0,98      | 0,06     | 0,92      | 0,00     | 0,88      | 0,06     | 0,86      | 0,27     |
| " 4a.      | 1,01      | 0,16     | 1,05      | 0,07     | 1,03      | 0,13     | 0,90      | 0,16     | 0,88      | 0,13     | 0,87      | 0,07     | 0,80      | 0,24     |
| Febre. 1a. | 0,98      | 0,08     | 0,88      | 0,12     | 0,91      | 0,20     | 0,83      | 0,12     | 0,91      | 0,10     | 0,91      | 0,20     | 0,93      | 0,28     |
| " 2a.      | 1,18      | 0,04     | 1,03      | 0,13     | 0,94      | 0,16     | 0,91      | 0,02     | 1,07      | 0,01     | 1,00      | 0,09     | 1,03      | 0,19     |
| " 3a.      | 1,00      | 0,09     | 1,03      | 0,20     | 0,91      | 0,12     | 0,84      | 0,01     | 1,02      | 0,00     | 0,97      | 0,04     | 1,03      | 0,14     |
| " 4a.      | 0,90      | 0,10     | 0,92      | 0,19     | 0,81      | 0,17     | 1,083     | 0,09     | 1,087     | 0,21     | 0,91      | 0,07     | 0,93      | 0,21     |
| Marzo 1a.  | 0,96      | 0,15     | 0,79      | 0,08     | 0,73      | 0,13     | 0,79      | 0,02     | 0,88      | 0,17     | 1,01      | 0,07     | 0,94      | 0,26     |
| " 2a.      | 1,01      | 0,08     | 0,73      | 0,14     | 0,68      | 0,16     | 0,81      | 0,07     | 0,94      | 0,06     | 0,96      | 0,14     | 0,80      | 0,20     |
| " 3a.      | 0,97      | 0,22     | 0,75      | 0,09     | 0,62      | 0,08     | 0,79      | 0,01     | 0,95      | 0,04     | 0,98      | 0,04     | 0,93      | 0,22     |
| " 4a.      | 0,93      | 0,13     | 0,76      | 0,10     | 0,64      | 0,08     | 0,76      | 0,01     | 0,90      | 0,07     | 0,98      | 0,13     | 0,85      | 0,26     |
| Abril 1a.  | 0,95      | 0,12     | 0,73      | 0,14     | 0,62      | 0,11     | 0,61      | 0,13     | 0,77      | 0,10     | 1,093     | 0,24     | 1,065     | 0,08     |
| " 2a.      | 1,03      | 0,10     | 0,80      | 0,10     | 0,70      | 0,09     | 0,67      | 0,26     | 0,72      | 0,09     | 0,93      | 0,07     | 0,67      | 0,70     |
| " 3a.      | 1,05      | 0,16     | 0,91      | 0,11     | 0,80      | 0,09     | 0,63      | 0,10     | 0,63      | 0,09     | 0,99      | 0,14     | 0,80      | 0,19     |
| " 4a.      | 1,22      | 0,22     | 1,04      | 0,15     | 0,90      | 0,20     | 0,79      | 0,06     | 0,64      | 0,13     | 0,92      | 0,03     | 0,86      | 0,14     |
| Mayo 2a.   | 1,27      | 0,21     | 1,13      | 0,06     | 0,91      | 0,14     | 0,79      | 0,12     | 0,64      | 0,00     | 0,82      | 0,00     | 0,83      | 0,00     |
| " 4a.      | 1,01      | 0,27     | 0,88      | 0,02     | 0,87      | 0,14     | 0,76      | 0,04     | 0,71      | 0,01     | 0,63      | 0,08     | 0,62      | 0,00     |

†Infección

TABLA 15

VALORES MEDIOS DE ALBUMINA %

| SEMANA     | CONTROL   |          | 1-A       |          | 1-B       |          | 2-A       |          | 2-B       |          | 3-A       |          | 3-B       |          |
|------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
|            | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ |
| Enero 2a.  | 52,01     | 1,02     | 49,84     | 2,20     | 49,54     | 1,17     | 49,75     | 1,01     | 48,06     | 0,06     | 48,48     | 2,20     | 48,58     | 1,80     |
| " 3a.      | 49,38     | 2,40     | 48,17     | 0,53     | 48,57     | 2,16     | 49,62     | 2,36     | 47,96     | 0,15     | 46,96     | 1,76     | 46,33     | 2,39     |
| " 4a.      | 50,43     | 2,79     | 48,83     | 2,12     | 48,36     | 2,53     | 47,41     | 2,80     | 47,00     | 2,38     | 46,70     | 2,39     | 44,54     | 1,21     |
| Febre. 1a. | 49,62     | 2,22     | 46,93     | 2,43     | 47,81     | 2,20     | 45,56     | 2,38     | 47,65     | 2,95     | 47,69     | 2,80     | 48,35     | 2,37     |
| " 2a.      | 54,18     | 1,17     | 50,96     | 2,48     | 48,53     | 3,05     | 47,72     | 0,74     | 51,74     | 0,27     | 50,24     | 2,38     | 50,77     | 1,73     |
| " 3a.      | 50,04     | 1,93     | 50,75     | 2,77     | 47,74     | 3,20     | 45,75     | 1,71     | 50,54     | 0,13     | 49,45     | 1,21     | 50,98     | 2,37     |
| " 4a.      | 47,39     | 1,73     | 47,96     | 2,09     | 44,76     | 2,10     | 45,55     | 2,95     | 46,76     | 2,80     | 47,66     | 1,73     | 48,28     | 2,80     |
| Marzo 1a.  | 48,99     | 2,76     | 44,38     | 2,50     | 42,21     | 2,63     | 44,16     | 0,82     | 46,81     | 2,38     | 50,44     | 1,73     | 48,46     | 1,76     |
| " 2a.      | 50,45     | 2,85     | 42,26     | 2,68     | 40,60     | 2,49     | 44,95     | 2,51     | 48,61     | 1,63     | 49,07     | 0,67     | 44,56     | 2,18     |
| " 3a.      | 49,34     | 2,76     | 42,98     | 3,17     | 38,63     | 2,01     | 44,36     | 0,45     | 48,97     | 0,21     | 49,74     | 1,06     | 48,28     | 2,37     |
| " 4a.      | 48,29     | 2,50     | 43,23     | 2,50     | 39,19     | 2,30     | 43,49     | 0,38     | 47,37     | 2,05     | 49,68     | 2,37     | 46,08     | 1,80     |
| Abril 1a.  | 48,92     | 2,57     | 42,21     | 2,15     | 38,52     | 2,45     | 38,14     | 0,77     | 43,60     | 2,37     | 48,33     | 2,80     | 39,55     | 2,80     |
| " 2a.      | 50,93     | 2,59     | 44,70     | 2,16     | 41,28     | 2,30     | 40,27     | 1,17     | 41,88     | 2,80     | 48,28     | 0,22     | 40,21     | 1,21     |
| " 3a.      | 51,44     | 2,80     | 47,85     | 3,09     | 44,47     | 2,46     | 38,78     | 0,24     | 38,78     | 2,99     | 49,85     | 0,26     | 44,66     | 2,37     |
| " 4a.      | 55,14     | 2,98     | 51,08     | 2,83     | 47,39     | 2,43     | 44,29     | 0,74     | 39,26     | 1,21     | 48,10     | 0,79     | 46,43     | 2,80     |
| Mayo 2a.   | 55,95     | 3,05     | 53,16     | 2,26     | 47,74     | 3,02     | 44,28     | 0,38     | 39,15     | 0,79     | 45,23     | 0,00     | 45,58     | 0,00     |
| " 4a.      | 50,40     | 2,81     | 47,02     | 0,84     | 46,54     | 2,22     | 43,49     | 1,00     | 41,82     | 0,37     | 38,76     | 2,18     | 38,41     | 0,00     |

‡Infección

TABLA 16

VALORES MEDIOS GLOBULINAS ALFA X

| SEMANA     | CONTROL   |          | 1-A       |          | 1-B       |          | 2-A       |          | 2-B       |          | 3-A       |          | 3-B       |          |
|------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
|            | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ |
| Enero 2a.  | 10,35     | 1,20     | 11,32     | 1,09     | 11,56     | 1,64     | 10,40     | 2,43     | 13,41     | 1,06     | 11,69     | 2,43     | 11,20     | 1,24     |
| " 3a.      | 12,40     | 0,77     | 12,24     | 2,56     | 11,80     | 2,37     | 10,30     | 2,65     | 13,24     | 0,90     | 11,94     | 0,49     | 12,91     | 1,02     |
| " 4a.      | 12,19     | 2,08     | 11,95     | 2,14     | 11,41     | 2,21     | 11,63     | 2,36     | 14,28     | 2,05     | 10,46     | 0,18     | 14,57     | 0,93     |
| Febre. 1a. | 12,39     | 1,51     | 12,71     | 1,77     | 11,96     | 0,21     | 13,32     | 2,54     | 14,00     | 1,61     | 11,50     | 2,53     | 13,85     | 1,59     |
| " 2a.      | 12,60     | 1,48     | 12,57     | 2,46     | 13,70     | 1,78     | 13,85     | 2,25     | 14,44     | 2,10     | 13,69     | 0,88     | 13,21     | 0,95     |
| " 3a.      | 13,93     | 2,33     | 11,02     | 2,19     | 11,50     | 1,71     | 12,68     | 2,90     | 12,17     | 1,78     | 10,37     | 1,24     | 13,00     | 1,01     |
| " 4a.      | 12,53     | 1,28     | 11,37     | 0,20     | 11,52     | 1,54     | 13,03     | 2,89     | 14,00     | 1,28     | 11,22     | 0,49     | 13,97     | 0,02     |
| Marzo 1a.  | 12,71     | 2,90     | 10,14     | 2,71     | 9,74      | 1,22     | 12,73     | 2,53     | 12,97     | 1,68     | 9,54      | 1,57     | 11,64     | 1,54     |
| " 2a.      | 11,20     | 0,62     | 10,82     | 2,97     | 10,47     | 1,27     | 12,12     | 2,05     | 12,14     | 1,11     | 10,41     | 2,53     | 13,49     | 0,07     |
| " 3a.      | 11,63     | 1,23     | 11,66     | 2,69     | 10,33     | 0,70     | 11,89     | 2,90     | 13,24     | 2,01     | 9,67      | 0,98     | 13,47     | 1,14     |
| " 4a.      | 10,97     | 1,36     | 10,57     | 2,25     | 9,58      | 1,88     | 12,44     | 1,51     | 13,38     | 2,43     | 9,79      | 0,91     | 14,89     | 2,53     |
| Abril 1a.  | 11,86     | 2,02     | 9,52      | 2,57     | 8,71      | 2,20     | 11,14     | 2,70     | 9,01      | 0,38     | 18,22     | 0,09     | 13,37     | 2,43     |
| " 2a.      | 10,12     | 1,10     | 10,67     | 3,25     | 10,14     | 2,06     | 12,47     | 2,65     | 10,76     | 1,90     | 10,05     | 1,81     | 13,80     | 2,03     |
| " 3a.      | 11,36     | 0,37     | 11,17     | 2,96     | 9,92      | 2,07     | 11,51     | 0,64     | 10,79     | 1,36     | 9,95      | 0,36     | 14,02     | 1,03     |
| " 4a.      | 12,02     | 1,52     | 11,57     | 2,36     | 10,79     | 2,76     | 11,80     | 1,85     | 10,89     | 0,17     | 11,89     | 0,26     | 14,42     | 2,10     |
| Mayo 2a.   | 12,03     | 2,51     | 10,62     | 2,57     | 9,80      | 2,61     | 9,88      | 1,56     | 10,78     | 0,88     | 10,91     | 0,00     | 13,07     | 0,00     |
| " 4a.      | 11,21     | 1,57     | 11,64     | 2,11     | 10,30     | 2,16     | 10,42     | 1,35     | 11,28     | 1,48     | 9,38      | 0,44     | 8,92      | 0,00     |

infección

TABLA 17

## VALORES MEDIOS GLOBULINAS BETA 1

| SEMANA     | CONTROL   |          | 1-A       |          | 1-B       |          | 2-A       |          | 2-B       |          | 3-A       |          | 3-B       |          |
|------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
|            | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ |
| Enero 2a.  | 9,90      | 1,60     | 10,83     | 1,24     | 11,01     | 1,83     | 10,35     | 0,04     | 10,29     | 0,66     | 10,78     | 1,39     | 9,85      | 0,38     |
| " 3a.      | 11,61     | 0,78     | 10,94     | 1,47     | 10,90     | 1,07     | 10,21     | 1,51     | 10,34     | 2,01     | 11,91     | 1,59     | 9,21      | 0,41     |
| " 4a.      | 11,15     | 1,13     | 11,37     | 0,69     | 10,90     | 1,98     | 10,04     | 1,83     | 10,22     | 1,95     | 13,27     | 1,38     | 11,99     | 1,03     |
| Febre. 1a. | 11,84     | 1,09     | 10,89     | 0,75     | 12,05     | 1,84     | 10,01     | 1,64     | 10,44     | 1,21     | 11,28     | 1,64     | 10,70     | 0,45     |
| " 2a.      | 10,23     | 1,15     | 10,26     | 1,51     | 10,12     | 2,32     | 10,19     | 0,97     | 8,73      | 1,31     | 11,62     | 1,44     | 10,90     | 1,52     |
| " 3a.      | 11,78     | 1,29     | 10,71     | 0,92     | 11,17     | 1,65     | 11,65     | 0,60     | 11,13     | 1,23     | 13,45     | 0,53     | 12,32     | 0,51     |
| " 4a.      | 12,82     | 1,64     | 11,19     | 1,11     | 12,67     | 1,85     | 10,66     | 1,06     | 11,12     | 1,64     | 12,42     | 1,50     | 11,49     | 0,76     |
| Marzo 1a.  | 10,71     | 1,93     | 11,01     | 0,72     | 12,05     | 1,13     | 10,14     | 1,25     | 12,16     | 1,83     | 12,03     | 1,00     | 11,21     | 0,38     |
| " 2a.      | 11,75     | 1,59     | 11,11     | 1,61     | 11,93     | 1,50     | 12,04     | 1,11     | 11,25     | 1,25     | 12,31     | 1,96     | 14,31     | 1,59     |
| " 3a.      | 11,11     | 1,65     | 9,83      | 1,72     | 13,25     | 1,15     | 9,25      | 1,64     | 10,19     | 1,21     | 11,92     | 0,38     | 11,04     | 1,03     |
| " 4a.      | 11,56     | 1,31     | 10,71     | 1,28     | 11,84     | 0,70     | 10,11     | 2,11     | 9,64      | 1,46     | 11,65     | 1,03     | 10,41     | 0,69     |
| Abril 1a.  | 11,95     | 1,56     | 11,77     | 1,07     | 13,50     | 1,40     | 11,28     | 1,21     | 12,48     | 0,01     | 12,96     | 1,60     | 14,70     | 1,64     |
| " 2a.      | 12,43     | 1,32     | 12,12     | 1,12     | 12,43     | 1,08     | 11,55     | 1,46     | 11,67     | 1,85     | 12,32     | 1,39     | 14,65     | 0,53     |
| " 3a.      | 11,28     | 1,39     | 10,55     | 1,32     | 12,02     | 1,15     | 13,86     | 0,61     | 12,40     | 1,51     | 12,05     | 0,50     | 12,30     | 0,58     |
| " 4a.      | 10,59     | 1,61     | 10,47     | 1,49     | 12,43     | 1,06     | 10,72     | 0,39     | 12,29     | 0,72     | 11,84     | 1,44     | 10,61     | 0,61     |
| Mayo 2a.   | 10,61     | 1,58     | 11,23     | 0,54     | 12,01     | 1,38     | 10,85     | 1,01     | 11,50     | 0,31     | 12,12     | 0,00     | 9,42      | 0,00     |
| " 4a.      | 12,85     | 1,86     | 12,99     | 0,64     | 11,84     | 1,43     | 11,39     | 1,85     | 11,11     | 1,64     | 13,55     | 1,40     | 10,26     | 0,00     |

\*Infección

TABLA 18

## VALORES MEDIOS GLOBULINA GAMMA %

| SEMANA    | CONTROL   |          | 1-A       |          | 1-B       |          | 2-A       |          | 2-B       |          | 3-A       |          | 3-B       |          |
|-----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
|           | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ |
| Enero 2a. | 27,74     | 1,50     | 28,01     | 0,84     | 27,89     | 1,93     | 29,50     | 0,70     | 28,24     | 0,64     | 29,05     | 1,91     | 30,37     | 2,50     |
| " 3a.     | 26,61     | 2,03     | 28,65     | 2,09     | 28,73     | 2,13     | 29,87     | 2,60     | 28,46     | 0,97     | 29,19     | 2,60     | 31,55     | 2,55     |
| " 4a.     | 26,22     | 2,38     | 27,85     | 3,16     | 29,33     | 2,74     | 30,92     | 1,81     | 28,50     | 1,81     | 29,57     | 0,35     | 28,90     | 2,60     |
| Febr. 1a. | 26,15     | 3,03     | 29,47     | 3,12     | 28,18     | 2,32     | 31,11     | 1,61     | 27,91     | 2,91     | 29,53     | 2,43     | 27,10     | 1,97     |
| " 2a.     | 22,99     | 2,11     | 26,21     | 1,20     | 27,65     | 2,51     | 28,24     | 1,57     | 25,09     | 1,47     | 24,45     | 0,03     | 25,12     | 2,43     |
| " 3a.     | 24,25     | 2,54     | 27,52     | 3,56     | 29,59     | 2,70     | 29,92     | 0,48     | 26,16     | 1,37     | 26,73     | 1,91     | 26,40     | 2,60     |
| " 4a.     | 27,26     | 0,85     | 29,48     | 3,09     | 31,05     | 2,06     | 30,76     | 0,83     | 28,12     | 2,44     | 28,70     | 1,30     | 26,26     | 1,91     |
| Marzo 1a. | 27,58     | 3,67     | 34,47     | 3,18     | 36,00     | 3,08     | 32,97     | 1,52     | 28,06     | 1,97     | 27,99     | 2,31     | 28,65     | 2,43     |
| " 2a.     | 26,78     | 3,51     | 35,81     | 3,05     | 37,00     | 2,57     | 30,89     | 2,34     | 28,00     | 1,93     | 28,21     | 1,25     | 27,64     | 2,60     |
| " 3a.     | 27,92     | 3,59     | 35,53     | 2,13     | 37,79     | 2,25     | 34,49     | 2,56     | 27,60     | 1,31     | 26,67     | 2,43     | 27,21     | 2,31     |
| " 4a.     | 29,18     | 2,03     | 35,49     | 3,48     | 39,39     | 0,77     | 33,96     | 2,17     | 29,61     | 2,15     | 28,88     | 2,60     | 28,62     | 2,55     |
| Abril 1a. | 27,27     | 2,62     | 36,50     | 1,90     | 39,27     | 2,81     | 39,44     | 2,40     | 34,91     | 2,17     | 30,49     | 2,31     | 32,38     | 1,45     |
| " 2a.     | 26,52     | 3,43     | 32,51     | 3,87     | 36,15     | 2,15     | 35,71     | 2,33     | 35,69     | 2,37     | 29,35     | 0,64     | 31,34     | 0,80     |
| " 3a.     | 25,92     | 1,35     | 30,43     | 1,25     | 33,59     | 2,56     | 35,85     | 2,44     | 38,03     | 2,55     | 28,15     | 0,38     | 29,02     | 2,86     |
| " 4a.     | 22,25     | 3,45     | 26,88     | 2,81     | 29,39     | 2,74     | 33,19     | 2,42     | 37,56     | 2,73     | 28,17     | 0,35     | 28,54     | 2,55     |
| Mayo 2a.  | 21,41     | 3,21     | 24,99     | 2,32     | 30,45     | 1,90     | 34,99     | 2,36     | 38,57     | 2,03     | 31,74     | 0,00     | 31,93     | 0,00     |
| " 4a.     | 25,54     | 3,23     | 28,35     | 2,90     | 31,32     | 2,37     | 34,70     | 2,73     | 35,79     | 1,30     | 38,31     | 1,97     | 42,41     | 0,00     |

\*Infección

TABLA 19

VALORES MEDIOS DE G.O.T. (U.I.)

| SEMANA     | CONTROL   |          | 1-A       |          | 1-B       |          | 2-A       |          | 2-B       |          | 3-A       |          | 3-B       |          |
|------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
|            | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ |
| Enero 2a.  | 68,09     | 11,45    | 60,52     | 3,52     | 63,14     | 13,59    | 52,99     | 9,25     | 55,87     | 8,64     | 54,12     | 2,46     | 81,18     | 23,21    |
| " 3a.      | 71,58     | 6,29     | 61,11     | 0,00     | 62,27     | 9,23     | 61,11     | 0,00     | 61,11     | 10,34    | 52,81     | 11,73    | 87,30     | 0,00     |
| " 4a.      | 45,10     | 3,63     | 53,10     | 0,25     | 49,75     | 11,45    | 49,46     | 3,93     | 41,46     | 10,96    | 54,56     | 6,78     | 59,79     | 11,73    |
| Febre. 1a. | 40,59     | 1,57     | 48,59     | 6,19     | 43,64     | 6,29     | 41,31     | 5,80     | 48,88     | 4,94     | 47,57     | 5,55     | 58,48     | 12,22    |
| " 2a.      | 50,34     | 10,42    | 37,24     | 9,61     | 44,22     | 4,12     | 37,82     | 7,87     | 45,82     | 0,61     | 47,14     | 8,64     | 39,28     | 2,47     |
| " 3a.      | 42,38     | 14,59    | 38,66     | 10,85    | 42,47     | 4,96     | 45,30     | 4,84     | 37,15     | 7,28     | 47,19     | 2,55     | 50,92     | 12,80    |
| " 4a.      | 31,88     | 8,54     | 32,33     | 7,09     | 34,00     | 4,00     | 25,54     | 1,78     | 26,28     | 3,83     | 38,10     | 7,21     | 35,76     | 2,49     |
| Marzo 1a.  | 31,52     | 4,74     | 32,29     | 2,30     | 35,20     | 1,81     | 28,71     | 8,90     | 21,82     | 0,00     | 48,01     | 11,11    | 45,39     | 8,64     |
| " 2a.      | 48,44     | 6,77     | 23,85     | 1,33     | 36,66     | 9,44     | 44,08     | 10,66    | 18,76     | 3,09     | 45,99     | 6,17     | 49,32     | 6,78     |
| " 3a.      | 55,29     | 7,62     | 42,12     | 4,02     | 39,73     | 17,11    | 40,15     | 6,81     | 41,02     | 1,23     | 40,59     | 0,62     | 56,30     | 0,61     |
| " 4a.      | 54,70     | 2,19     | 54,41     | 5,81     | 54,12     | 7,41     | 48,01     | 3,49     | 51,93     | 4,32     | 49,76     | 8,64     | 68,52     | 6,79     |
| Abril 1a.  | 47,72     | 4,96     | 59,35     | 8,86     | 66,65     | 24,79    | 41,90     | 1,51     | 52,81     | 5,55     | 37,97     | 0,62     | 47,14     | 10,98    |
| " 2a.      | 41,17     | 6,11     | 50,92     | 8,29     | 57,61     | 17,97    | 45,68     | 6,55     | 40,15     | 2,46     | 41,89     | 4,94     | 46,7      | 14,06    |
| " 3a.      | 40,15     | 5,23     | 44,52     | 8,41     | 86,13     | 23,05    | 42,48     | 9,33     | 41,46     | 0,61     | 36,22     | 4,32     | 53,68     | 6,66     |
| " 4a.      | 34,62     | 8,29     | 45,10     | 7,11     | 90,20     | 4,45     | 39,28     | 5,45     | 39,28     | 10,82    | 36,22     | 1,84     | 74,64     | 1,85     |
| Mayo 2a.   | 38,99     | 4,39     | 43,93     | 10,23    | 36,22     | 6,79     | 46,85     | 13,81    | 36,66     | 4,93     | 37,97     | 6,66     | 68,09     | 0,00     |
| " 4a.      | 43,79     | 6,11     | 50,33     | 5,37     | 42,77     | 6,17     | 70,71     | 20,82    | 51,94     | 9,26     | 34,04     | 3,70     | 123,96    | 0,00     |

†Infección

TABLA 20

VALORES MEDIOS DE L.D.H. (U.I.)

| SEMANA     | CONTROL   |          | 1- A      |          | 1-B       |          | 2-A       |          | 2-B       |          | 3-A       |          | 3-B       |          |
|------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
|            | $\bar{X}$ | $\sigma$ | $\bar{X}$ | $\sigma$ | $\bar{X}$ | $\sigma$ | $\bar{X}$ | $\sigma$ | $\bar{X}$ | $\sigma$ | $\bar{X}$ | $\sigma$ | $\bar{X}$ | $\sigma$ |
| Enero 2a.  | 588       | 123      | 619       | 97       | 541       | 106      | 624       | 97       | 524       | 109      | 552       | 71       | 657       | 77       |
| " 3a.      | 620       | 130      | 620       | 123      | 521       | 109      | 674       | 102      | 667       | 85       | 627       | 28       | 566       | 114      |
| " 4a.      | 536       | 85       | 489       | 52       | 488       | 106      | 558       | 28       | 556       | 128      | 513       | 51       | 558       | 62       |
| Febre. 1a. | 427       | 52       | 454       | 30       | 437       | 95       | 469       | 75       | 521       | 96       | 459       | 117      | 477       | 62       |
| " 2a.      | 432       | 56       | 352       | 73       | 390       | 37       | 358       | 34       | 440       | 140      | 404       | 34       | 351       | 32       |
| " 3a.      | 496       | 50       | 391       | 85       | 370       | 108      | 417       | 55       | 431       | 21       | 504       | 96       | 420       | 34       |
| " 4a.      | 373       | 43       | 377       | 81       | 337       | 54       | 377       | 15       | 424       | 19       | 354       | 12       | 468       | 104      |
| Marzo 1a.  | 373       | 43       | 365       | 58       | 318       | 106      | 535       | 154      | 351       | 91       | 394       | 89       | 396       | 60       |
| " 2a.      | 421       | 81       | 344       | 32       | 295       | 100      | 389       | 63       | 375       | 30       | 409       | 37       | 378       | 30       |
| " 3a.      | 511       | 106      | 471       | 38       | 495       | 27       | 445       | 42       | 437       | 48       | 416       | 55       | 500       | 103      |
| " 4a.      | 525       | 96       | 555       | 94       | 471       | 7        | 493       | 103      | 582       | 87       | 494       | 22       | 596       | 107      |
| Abril 1a.  | 598       | 104      | 529       | 57       | 501       | 67       | 569       | 17       | 556       | 14       | 358       | 36       | 292       | 45       |
| " 2a.      | 348       | 56       | 413       | 63       | 367       | 86       | 428       | 43       | 416       | 41       | 292       | 13       | 355       | 106      |
| " 3a.      | 345       | 69       | 399       | 48       | 407       | 62       | 444       | 103      | 414       | 57       | 325       | 4        | 429       | 32       |
| " 4a.      | 343       | 39       | 382       | 39       | 454       | 95       | 392       | 32       | 326       | 71       | 390       | 9        | 474       | 9        |
| Mayo 2a.   | 390       | 45       | 370       | 46       | 450       | 43       | 420       | 27       | 462       | 93       | 425       | 15       | 540       | 0        |
| " 4a.      | 436       | 106      | 466       | 59       | 463       | 71       | 574       | 102      | 585       | 105      | 510       | 4        | 657       | 0        |

†Infección

TABLA 21

VALORES MEDIOS DE F.A. (U.I.)

| SEMANA     | CONTROL   |          | 1-A       |          | 1-B       |          | 2-A       |          | 2-B       |          | 3-A       |          | 3-B       |          |
|------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
|            | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ |
| Enero 2a.  | 44,17     | 14,16    | 77,49     | 14,43    | 69,57     | 12,74    | 43,79     | 6,22     | 78,67     | 0,00     | 54,00     | 0,93     | 48,36     | 4,28     |
| " 3a.      | 39,24     | 6,30     | 69,43     | 12,23    | 68,02     | 16,86    | 44,79     | 4,75     | 42,67     | 0,00     | 57,99     | 12,7     | 48,65     | 8,50     |
| " 4a.      | 39,38     | 9,90     | 61,64     | 17,10    | 72,47     | 18,95    | 50,44     | 10,84    | 52,85     | 8,74     | 40,04     | 5,60     | 55,43     | 11,29    |
| Febre. 1a. | 33,60     | 7,48     | 56,66     | 16,89    | 53,37     | 10,78    | 36,63     | 5,57     | 42,00     | 4,70     | 40,67     | 4,14     | 38,00     | 4,70     |
| " 2a.      | 31,28     | 9,14     | 60,77     | 18,69    | 38,87     | 12,53    | 34,29     | 5,95     | 42,00     | 2,82     | 45,79     | 7,64     | 29,66     | 3,30     |
| " 3a.      | 43,08     | 3,25     | 58,62     | 12,55    | 25,13     | 4,61     | 44,46     | 2,76     | 41,79     | 7,38     | 67,95     | 18,32    | 44,63     | 9,00     |
| " 4a.      | 31,41     | 7,66     | 23,77     | 9,51     | 15,66     | 4,22     | 32,30     | 3,00     | 38,49     | 4,95     | 39,36     | 4,74     | 47,01     | 2,36     |
| Marzo 1a.  | 30,29     | 9,15     | 18,33     | 2,56     | 16,66     | 3,49     | 27,99     | 4,59     | 34,71     | 5,85     | 40,05     | 13,35    | 47,02     | 0,00     |
| " 2a.      | 30,24     | 4,76     | 17,30     | 6,28     | 10,93     | 4,76     | 28,06     | 4,68     | 35,53     | 6,24     | 39,9      | 12,42    | 36,63     | 4,69     |
| " 3a.      | 29,88     | 9,78     | 31,34     | 10,95    | 10,93     | 2,18     | 27,69     | 3,18     | 52,48     | 10,82    | 42,09     | 7,06     | 37,17     | 1,54     |
| " 4a.      | 29,52     | 8,41     | 33,53     | 11,23    | 45,37     | 12,53    | 34,25     | 4,10     | 44,01     | 8,16     | 74,35     | 17,32    | 30,61     | 9,27     |
| Abril 1a.  | 26,24     | 5,78     | 21,50     | 7,90     | 32,07     | 12,14    | 29,88     | 6,12     | 12,02     | 1,54     | 35,53     | 3,14     | 54,67     | 0,00     |
| " 2a.      | 26,60     | 9,16     | 31,70     | 1,89     | 42,64     | 10,72    | 29,52     | 5,19     | 14,75     | 3,86     | 49,75     | 15,51    | 32,25     | 3,97     |
| " 3a.      | 25,51     | 9,92     | 27,69     | 7,11     | 41,73     | 18,67    | 22,95     | 5,01     | 19,67     | 6,18     | 37,17     | 9,28     | 32,25     | 7,06     |
| " 4a.      | 28,79     | 6,68     | 27,94     | 4,58     | 42,27     | 14,58    | 29,15     | 1,06     | 25,14     | 3,09     | 48,65     | 15,51    | 48,65     | 2,42     |
| Mayo 2a.   | 28,42     | 10,09    | 29,88     | 5,60     | 69,43     | 16,33    | 29,52     | 1,57     | 25,14     | 6,18     | 31,71     | 6,29     | 21,87     | 0,00     |
| " 4a.      | 27,88     | 10,99    | 20,04     | 4,55     | 65,37     | 15,08    | 26,96     | 3,63     | 18,95     | 4,12     | 42,64     | 0,77     | 16,40     | 0,00     |

‡Infección

TABLA 22

VALORES MEDIOS DE GLUCOSA mg/100ml

| SEMANA     | CONTROL   |          | 1-A       |          | 1-B       |          | 2-A       |          | 2-B       |          | 3-A       |          | 3-B       |          |
|------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
|            | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ |
| Enero 2a.  | 46,01     | 5,93     | 47,61     | 7,58     | 52,06     | 8,59     | 50,63     | 3,16     | 55,93     | 4,47     | 52,76     | 2,99     | 47,03     | 4,92     |
| " 3a.      | 42,99     | 9,52     | 41,81     | 6,66     | 47,32     | 7,54     | 42,53     | 7,98     | 39,90     | 9,18     | 41,85     | 3,41     | 33,02     | 4,48     |
| " 4a.      | 34,71     | 2,98     | *38,67    | 2,19     | *36,62    | 10,48    | 30,61     | 2,29     | 27,29     | 3,01     | 30,36     | 10,02    | 29,19     | 4,87     |
| Febre. 1a. | 41,32     | 3,51     | 45,23     | 4,75     | 36,46     | 9,00     | 34,84     | 5,60     | 31,52     | 0,29     | 34,44     | 7,74     | 29,01     | 0,52     |
| " 2a.      | 34,43     | 3,05     | 37,91     | 5,98     | 36,31     | 8,39     | 33,30     | 10,27    | 37,29     | 0,23     | 33,28     | 2,92     | 28,47     | 2,08     |
| " 3a.      | 34,29     | 6,29     | 36,70     | 6,02     | 35,95     | 9,37     | 32,55     | 5,96     | 37,46     | 4,31     | 34,06     | 10,06    | 30,25     | 1,69     |
| " 4a.      | 32,32     | 3,71     | 41,06     | 3,48     | 43,42     | 5,21     | *25,67    | 5,18     | *31,55    | 8,71     | 30,56     | 9,29     | 29,99     | 4,44     |
| Marzo 1a.  | 29,37     | 2,36     | 34,02     | 0,92     | 39,99     | 10,54    | 23,43     | 4,11     | 29,65     | 1,62     | 29,19     | 0,32     | 25,74     | 1,30     |
| " 2a.      | 24,85     | 4,64     | 31,06     | 2,07     | 38,03     | 9,41     | 22,26     | 0,36     | 32,23     | 7,79     | 25,66     | 4,49     | 22,05     | 3,19     |
| " 3a.      | 16,98     | 5,98     | 22,73     | 1,55     | 24,26     | 3,28     | 25,10     | 1,02     | 18,88     | 3,23     | 21,70     | 1,25     | 17,27     | 2,64     |
| " 4a.      | 21,19     | 4,20     | 17,60     | 3,60     | 27,75     | 4,49     | 17,46     | 2,18     | 30,07     | 5,67     | 22,70     | 4,66     | 13,79     | 4,08     |
| Abril 1a.  | 22,07     | 5,60     | 17,42     | 2,72     | 27,15     | 2,45     | 16,23     | 1,76     | 26,79     | 2,15     | *17,79    | 2,29     | *14,81    | 5,54     |
| " 2a.      | 26,74     | 6,45     | 18,90     | 2,42     | 27,79     | 3,53     | 18,16     | 2,80     | 27,79     | 2,53     | 25,10     | 9,51     | 14,75     | 2,17     |
| " 3a.      | 14,59     | 6,05     | 16,21     | 1,29     | 20,71     | 5,22     | 18,48     | 3,73     | 19,02     | 0,82     | 12,51     | 4,12     | 12,30     | 0,21     |
| " 4a.      | 22,60     | 6,45     | 26,81     | 6,01     | 34,40     | 9,92     | 30,99     | 6,70     | 36,70     | 6,54     | 31,47     | 2,00     | 28,98     | 3,79     |
| Mayo 2a.   | 19,64     | 5,02     | 18,22     | 2,45     | 20,84     | 4,65     | 22,85     | 4,80     | 20,45     | 3,25     | 18,15     | 2,45     | 22,14     | 0,00     |
| " 4a.      | 11,34     | 5,67     | 14,60     | 5,78     | 16,66     | 2,90     | 16,02     | 3,78     | 10,85     | 0,59     | 14,88     | 3,21     | 17,53     | 0,00     |

\*Infección

TABLA 23

VALORES MEDIOS DE B.U.N.  $\mu\text{g}/100\text{ml}$

| SEMANA |       | CONTROL   |          | 1-A       |          | 1-B       |          | 2-A       |          | 2-B       |          | 3-A       |          | 3-B       |          |
|--------|-------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
|        |       | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ |
| Enero  | 2a.   | 20,79     | 2,31     | 19,09     | 1,01     | 20,24     | 2,97     | 20,77     | 2,44     | 21,37     | 2,54     | 23,80     | 1,53     | 17,84     | 2,67     |
|        | * 3a. | 16,97     | 2,87     | 19,44     | 2,81     | 19,42     | 0,36     | 16,19     | 2,46     | 16,63     | 0,35     | 13,33     | 2,86     | 15,90     | 1,49     |
|        | * 4a. | 15,46     | 1,22     | 18,56     | 2,72     | 17,83     | 1,71     | 19,44     | 0,04     | 19,86     | 1,14     | 18,61     | 0,21     | 14,65     | 2,20     |
| Febre. | 1a.   | 13,04     | 0,69     | 12,00     | 0,70     | 14,50     | 0,31     | 13,65     | 1,70     | 14,11     | 0,43     | 14,91     | 0,16     | 12,26     | 1,20     |
|        | * 2a. | 16,63     | 1,98     | 13,61     | 3,01     | 13,08     | 3,68     | 15,66     | 2,16     | 19,48     | 2,07     | 16,07     | 1,35     | 16,10     | 0,47     |
|        | * 3a. | 13,49     | 1,39     | 11,76     | 1,88     | 14,86     | 2,44     | 14,52     | 2,76     | 16,73     | 0,59     | 15,60     | 2,55     | 12,96     | 0,12     |
|        | * 4a. | 14,23     | 2,02     | 12,76     | 2,60     | 14,63     | 2,29     | 12,88     | 2,66     | 13,45     | 0,79     | 12,25     | 1,21     | 11,68     | 2,01     |
| Marzo  | 1a.   | 10,64     | 1,34     | 9,37      | 1,38     | 10,76     | 2,41     | 13,12     | 2,91     | 10,72     | 1,20     | 9,36      | 1,18     | 11,51     | 2,74     |
|        | * 2a. | 15,41     | 0,44     | 11,53     | 1,51     | 15,13     | 2,94     | 13,26     | 0,85     | 11,65     | 0,33     | 11,31     | 1,91     | 9,75      | 2,90     |
|        | * 3a. | 11,13     | 3,19     | 9,90      | 2,38     | 10,31     | 1,11     | 10,55     | 2,93     | 9,90      | 2,04     | 10,34     | 1,38     | 11,12     | 1,10     |
|        | * 4a. | 14,84     | 1,98     | 15,02     | 2,29     | 10,49     | 2,86     | 13,52     | 3,11     | 15,39     | 0,93     | 14,42     | 0,31     | 17,20     | 1,37     |
| Abril  | 1a.   | 17,10     | 3,40     | 19,67     | 0,83     | 17,10     | 2,43     | 18,33     | 2,11     | 17,59     | 2,88     | 19,28     | 2,50     | 19,95     | 3,44     |
|        | * 2a. | 20,47     | 2,87     | 13,34     | 2,32     | 16,26     | 3,45     | 16,61     | 2,51     | 14,27     | 2,28     | 16,00     | 1,93     | 20,58     | 3,03     |
|        | * 3a. | 16,61     | 3,29     | 16,53     | 3,03     | 17,53     | 1,29     | 19,50     | 3,28     | 16,26     | 2,46     | 18,01     | 0,24     | 20,04     | 3,12     |
|        | * 4a. | 15,93     | 3,04     | 10,10     | 1,71     | 10,90     | 2,10     | 13,81     | 2,85     | 17,11     | 0,05     | 12,16     | 0,38     | 23,62     | 2,10     |
| Mayo   | 2a.   | 17,52     | 2,54     | 20,49     | 3,14     | 20,31     | 0,11     | 19,34     | 2,91     | 15,27     | 2,78     | 20,26     | 1,19     | 19,19     | 0,00     |
|        | * 4a. | 19,24     | 2,03     | 18,89     | 2,52     | 20,66     | 1,80     | 17,08     | 2,46     | 18,20     | 2,04     | 17,01     | 2,02     | 16,43     | 0,00     |

\*Infección

TABLA 24

VALORES MEDIOS DE CALCIO mg/100ml

| SEMANA     | CONTROL   |          | -1-A      |          | 1-B       |          | 2-A       |          | 2-B       |          | 3-A       |          | 3-B       |          |
|------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
|            | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ |
| Enero 2a.  | 9,92      | 1,22     | 8,85      | 0,92     | 8,19      | 1,31     | 7,89      | 0,37     | 7,17      | 0,88     | 7,73      | 1,76     | 6,28      | 1,31     |
| " 3a.      | 9,72      | 0,88     | 8,44      | 1,18     | 10,53     | 1,49     | 8,00      | 1,06     | 9,01      | 0,97     | 8,09      | 1,22     | 6,43      | 1,23     |
| " 4a.      | 8,34      | 1,45     | 17,42     | 0,81     | 17,80     | 0,15     | 6,74      | 0,95     | 7,95      | 0,74     | 7,17      | 1,65     | 7,11      | 0,51     |
| Febre. 1a. | 9,06      | 2,88     | 6,98      | 0,29     | 7,41      | 1,34     | 6,18      | 0,77     | 8,76      | 1,16     | 6,98      | 0,67     | 5,73      | 0,91     |
| " 2a.      | 8,38      | 1,39     | 7,29      | 0,76     | 7,66      | 0,61     | 6,20      | 0,60     | 7,83      | 0,34     | 7,95      | 0,65     | 6,69      | 0,46     |
| " 3a.      | 9,48      | 3,27     | 7,53      | 1,71     | 6,78      | 0,30     | 6,59      | 0,70     | 8,12      | 0,71     | 7,00      | 1,67     | 6,35      | 0,17     |
| " 4a.      | 9,43      | 1,73     | 7,43      | 1,21     | 6,41      | 0,34     | 16,32     | 0,96     | 18,20     | 1,59     | 8,09      | 1,11     | 7,01      | 0,26     |
| Marzo 1a.  | 8,63      | 0,79     | 8,46      | 0,35     | 7,62      | 0,74     | 7,79      | 0,57     | 9,23      | 1,07     | 8,09      | 0,75     | 7,73      | 2,07     |
| " 2a.      | 8,35      | 1,07     | 8,09      | 1,50     | 8,11      | 1,44     | 7,49      | 0,92     | 8,33      | 0,20     | 7,01      | 1,07     | 7,10      | 1,87     |
| " 3a.      | 7,43      | 0,54     | 6,33      | 0,89     | 7,42      | 1,03     | 7,26      | 0,74     | 8,01      | 0,25     | 5,52      | 1,36     | 6,23      | 1,23     |
| " 4a.      | 7,23      | 1,26     | 5,48      | 1,11     | 7,62      | 0,71     | 6,31      | 1,31     | 7,51      | 0,15     | 6,31      | 1,68     | 7,36      | 0,95     |
| Abril 1a.  | 7,19      | 0,47     | 7,18      | 1,38     | 7,50      | 1,26     | 7,63      | 0,23     | 8,31      | 1,51     | 17,82     | 0,77     | 15,83     | 0,77     |
| " 2a.      | 7,97      | 0,62     | 6,94      | 1,02     | 6,95      | 0,60     | 7,14      | 0,62     | 7,56      | 0,55     | 7,97      | 0,61     | 6,93      | 1,43     |
| " 3a.      | 7,42      | 0,35     | 6,06      | 0,43     | 6,23      | 0,91     | 5,96      | 0,37     | 6,63      | 0,60     | 5,89      | 0,11     | 6,29      | 1,36     |
| " 4a.      | 7,27      | 0,71     | 4,94      | 0,27     | 5,95      | 1,28     | 5,68      | 1,09     | 6,89      | 0,65     | 5,73      | 1,23     | 5,96      | 0,99     |
| Mayo 2a.   | 7,03      | 0,38     | 5,32      | 0,74     | 6,20      | 0,82     | 5,70      | 0,82     | 7,19      | 0,32     | 5,80      | 1,09     | 5,50      | 0,00     |
| " 4a.      | 6,97      | 0,5      | 5,79      | 1,52     | 6,49      | 1,03     | 5,50      | 0,26     | 7,45      | 1,20     | 5,99      | 0,06     | 5,67      | 0,00     |

‡ Infección

TABLA 25

VALORES MEDIOS DE FOSFORO mg/100ml

| SEMANA     | CONTROL   |          | 1-A       |          | 1-B       |          | 2-A       |          | 2-B       |          | 3-A       |          | 3-B       |          |
|------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
|            | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ | $\bar{x}$ | $\sigma$ |
| Enero 2a.  | 5,10      | 0,74     | 5,19      | 0,47     | 4,55      | 1,04     | 5,16      | 1,14     | 5,94      | 0,86     | 4,99      | 1,29     | 6,79      | 1,27     |
| " 3a.      | 5,79      | 0,70     | 7,28      | 0,80     | 5,58      | 0,73     | 6,64      | 0,70     | 7,14      | 0,61     | 4,88      | 0,00     | 8,98      | 1,96     |
| " 4a.      | 5,33      | 0,96     | 45,79     | 0,38     | 43,95     | 0,72     | 5,83      | 1,19     | 6,22      | 0,54     | 5,94      | 1,96     | 8,52      | 1,39     |
| Febre. 1a. | 5,45      | 1,02     | 5,81      | 0,55     | 3,99      | 0,48     | 5,23      | 0,42     | 4,75      | 0,78     | 5,56      | 1,00     | 7,07      | 1,95     |
| " 2a.      | 5,74      | 1,09     | 5,46      | 0,19     | 5,04      | 0,76     | 6,45      | 0,41     | 5,63      | 0,26     | 6,39      | 1,07     | 7,13      | 1,18     |
| " 3a.      | 5,13      | 1,38     | 4,00      | 1,36     | 4,29      | 0,68     | 5,78      | 1,69     | 5,01      | 0,04     | 4,81      | 1,30     | 6,72      | 1,83     |
| " 4a.      | 5,03      | 1,59     | 4,08      | 1,18     | 3,76      | 0,66     | 45,68     | 1,45     | 44,53     | 0,10     | 3,41      | 0,07     | 5,20      | 0,71     |
| Marzo 1a.  | 4,28      | 1,09     | 3,87      | 0,80     | 4,14      | 0,99     | 4,21      | 0,86     | 4,72      | 1,41     | 4,38      | 1,10     | 5,82      | 1,44     |
| " 2a.      | 4,71      | 1,64     | 3,77      | 0,12     | 3,79      | 0,33     | 5,07      | 1,02     | 5,45      | 0,01     | 3,97      | 0,88     | 5,52      | 1,01     |
| " 3a.      | 5,46      | 1,43     | 6,05      | 0,70     | 4,94      | 0,27     | 6,42      | 0,87     | 4,65      | 0,67     | 5,12      | 0,79     | 6,24      | 1,34     |
| " 4a.      | 5,21      | 1,28     | 5,20      | 0,38     | 4,51      | 1,42     | 5,00      | 0,89     | 5,11      | 0,04     | 4,91      | 0,79     | 7,45      | 1,20     |
| Abril 1a.  | 4,55      | 1,88     | 5,89      | 1,21     | 6,11      | 0,93     | 6,31      | 1,00     | 7,47      | 0,25     | 43,90     | 0,02     | 46,10     | 1,02     |
| " 2a.      | 5,36      | 1,76     | 6,57      | 0,54     | 5,15      | 1,05     | 5,94      | 0,51     | 6,85      | 0,19     | 5,63      | 1,29     | 7,71      | 0,71     |
| " 3a.      | 4,62      | 1,35     | 5,11      | 1,64     | 5,39      | 1,15     | 5,69      | 0,86     | 5,97      | 1,48     | 5,03      | 1,07     | 6,76      | 0,32     |
| " 4a.      | 3,77      | 0,53     | 4,43      | 0,71     | 4,36      | 1,27     | 4,99      | 1,55     | 3,58      | 0,68     | 5,53      | 0,58     | 6,86      | 0,46     |
| Mayo 2a.   | 4,50      | 0,25     | 4,89      | 0,50     | 5,02      | 1,04     | 5,40      | 0,25     | 4,28      | 0,50     | 5,50      | 0,90     | 6,45      | 0,00     |
| " 4a.      | 5,61      | 0,75     | 6,50      | 0,84     | 6,39      | 1,84     | 7,69      | 0,91     | 5,44      | 1,70     | 4,93      | 0,67     | 6,32      | 0,00     |

‡Infección

TABLA 26

RESULTADOS PARASITACION POR MICROQUISTES EN OVEJAS INOCULADAS EXPERIMENTALMENTE

| Nº    | GRUPO   | D.I.    | LENG. | CORA. | ESOF. | DIAFR. | LENG.  | CORA.  | ESOF.  | DIAFR. | C.C.1 |
|-------|---------|---------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|
| 5     | Control | -       | -     | -     | -     | -      | -      | -      | -      | -      |       |
| 11    | Control | -       | 2     | 4     | 1     | 1      | 47     | 60     | 20     | 15     | 0,861 |
| 44    | Control | -       | 9     | 5     | 4     | 3      | 120    | 90     | 71     | 26     | 0,814 |
| 14    | 1-A     | 50.000  | -     | -     | -     | -      | -      | -      | -      | -      | -     |
| 27    | 1-A     | 50.000  | -     | -     | -     | -      | -      | -      | -      | -      | -     |
| 87    | 1-A     | 50.000  | 34    | 31    | 10    | 14     | 600    | 558    | 170    | 259    | 0,998 |
| 16    | 1-B     | 100.000 | -     | -     | -     | -      | -      | -      | -      | -      | -     |
| 30    | 1-B     | 100.000 | -     | -     | -     | -      | -      | -      | -      | -      | -     |
| 79    | 1-B     | 100.000 | 42    | 25    | 12    | 7      | 709    | 430    | 185    | 125    | 0,998 |
| 10    | 2-A     | 50.000  | 53    | 45    | 16    | 18     | 946    | 679    | 276    | 321    | 0,969 |
| 48    | 2-A     | 50.000  | -     | -     | -     | -      | -      | -      | -      | -      | -     |
| 82    | 2-A     | 50.000  | 40    | 12    | 10    | 6      | 714    | 284    | 178    | 89     | 0,980 |
| 90    | 2-B     | 100.000 | 15    | 16    | 9     | 7      | 267    | 285    | 160    | 130    | 0,999 |
| 91    | 2-B     | 100.000 | 35    | 22    | 8     | 7      | 694    | 392    | 170    | 125    | 0,991 |
| 24    | 3-A     | 50.000  | 12    | 12    | 6     | 8      | 243    | 332    | 53     | 149    | 0,902 |
| 40    | 3-A     | 50.000  | 16    | 20    | 10    | 13     | 282    | 357    | 208    | 323    | 0,973 |
| 100   | 3-B     | 100.000 | -     | -     | -     | -      | -      | -      | -      | -      | -     |
| 120   | 3-B     | 100.000 | -     | -     | -     | -      | -      | -      | -      | -      | -     |
| C.C.2 |         |         |       |       |       |        | 0,9891 | 0,9362 | 0,9009 | 0,9874 |       |

D.I. Dosis infectiva

C.C.1 Coeficiente de correlación para cada oveja

C.C.2 Coeficiente de correlación para cada órgano



TABLA 27

ESPECIES DE SARCOCYSTIS EN CORTES HISTOLOGICOS

| Oveja N <sup>o</sup> | S. tenella | S. ariet. | S.t/S.a |
|----------------------|------------|-----------|---------|
| 5                    | -          | -         | -       |
| 11                   | 5          | 3         | 1,6     |
| 44                   | 15         | 7         | 2,1     |
| 14                   | -          | -         | -       |
| 27                   | -          | -         | -       |
| 87                   | 70         | 19        | 3,6     |
| 16                   | -          | -         | -       |
| 30                   | -          | -         | -       |
| 79                   | 60         | 26        | 2,3     |
| 10                   | 99         | 33        | 3,0     |
| 48                   | -          | -         | -       |
| 82                   | 51         | 17        | 3,0     |
| 90                   | 34         | 13        | 2,6     |
| 91                   | 53         | 19        | 2,7     |
| 24                   | 20         | 18        | 1,1     |
| 40                   | 44         | 15        | 2,9     |
| 100                  | -          | -         | -       |
| 120                  | -          | -         | -       |

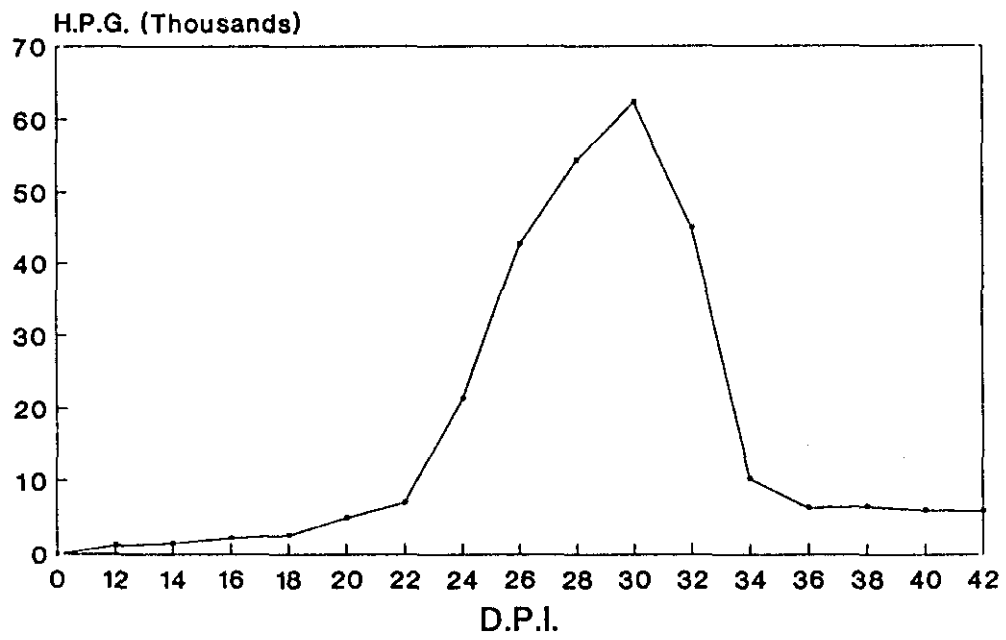
TABLA 28

RESULTADOS PARASITACION EN LA NECROPSIA

| OVEJA No | TREMATODOS | CESTODOS | NEMATODOS |
|----------|------------|----------|-----------|
| 5        | N.D.       | N.D.     | N.D.      |
| 11       | 61         | negativo | negativo  |
| 44       | 37         | negativo | negativo  |
| 14       | N.D.       | N.D.     | N.D.      |
| 27       | N.D.       | N.D.     | N.D.      |
| 97       | negativo   | Negativo | 200       |
| 16       | N.D.       | N.D.     | N.D.      |
| 30       | N.D.       | N.D.     | N.D.      |
| 73       | negativo   | negativo | 160       |
| 10       | 50         | 2        | 360       |
| 48       | N.D.       | N.D.     | N.D.      |
| 82       | 27         | negativo | 80        |
| 90       | negativo   | negativo | 80        |
| 91       | negativo   | negativo | 120       |
| 24       | 15         | negativo | 440       |
| 40       | 8          | negativo | 280       |
| 100      | N.D.       | N.D.     | N.D.      |
| 120      | N.D.       | N.D.     | N.D.      |

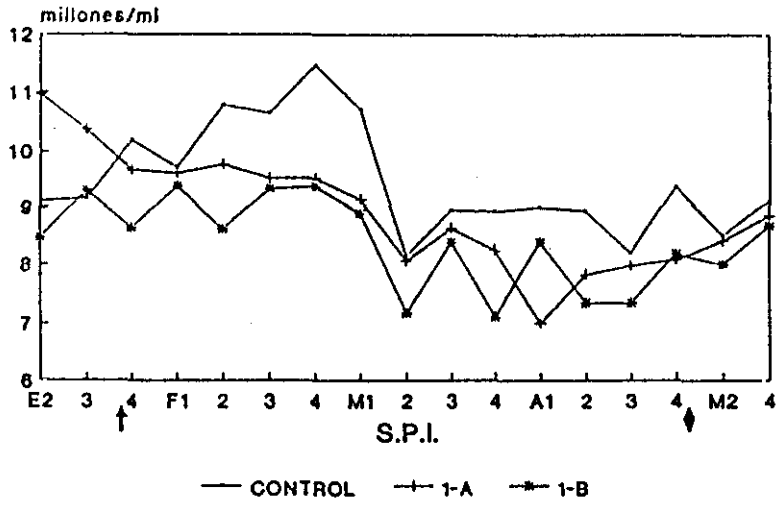
N.D. = No determinado

## GRF. 1 - Elim. espor.

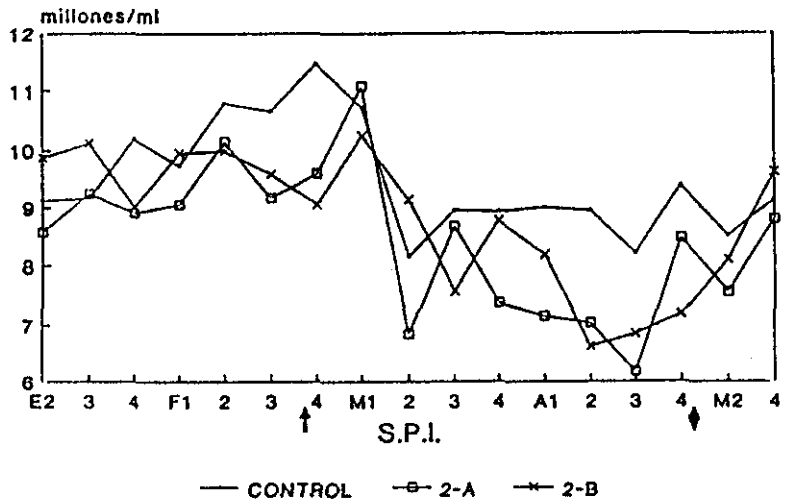


D.P.I. - Días postinfección  
H.P.G. - Huevos/gr heces

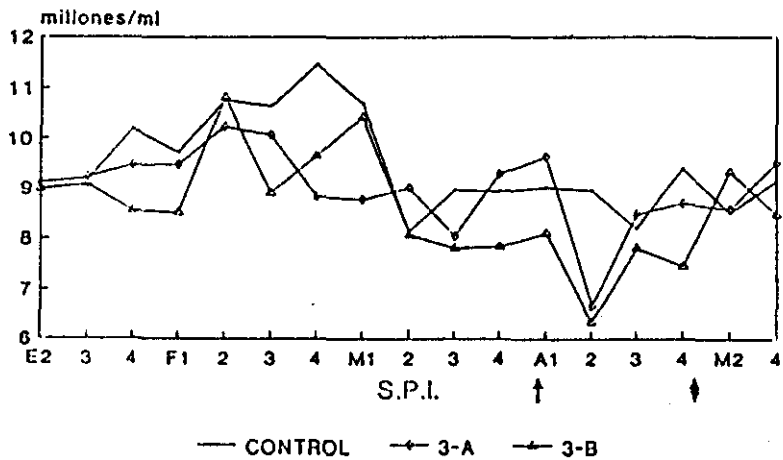
## Grf.2 - Eritro. 1



## Grf.3 - Eritro. 2

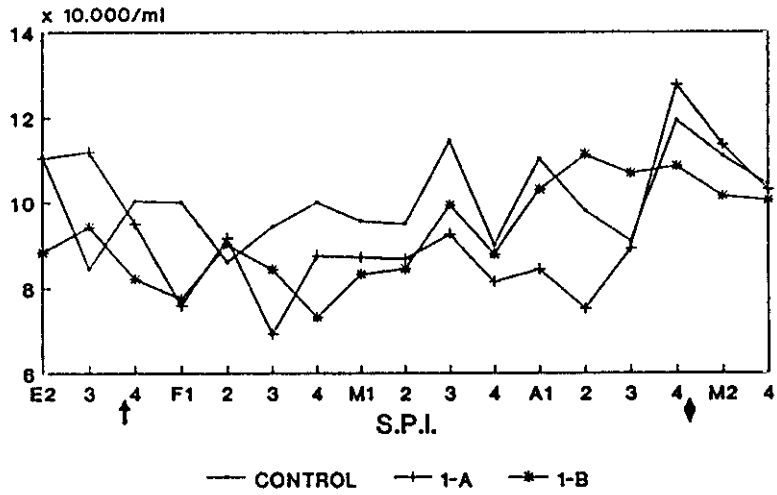


## Grf.4 - Eritro. 3

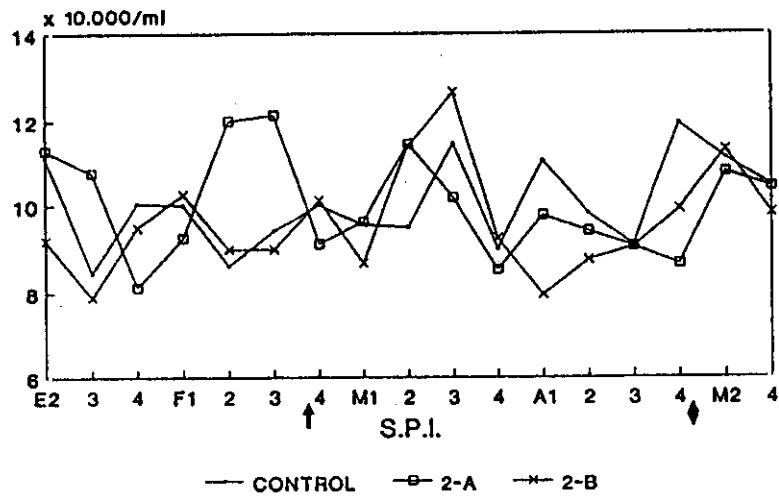


Semanas postinfección - S.P.I.  
 Inoculación →  
 Partos ↓

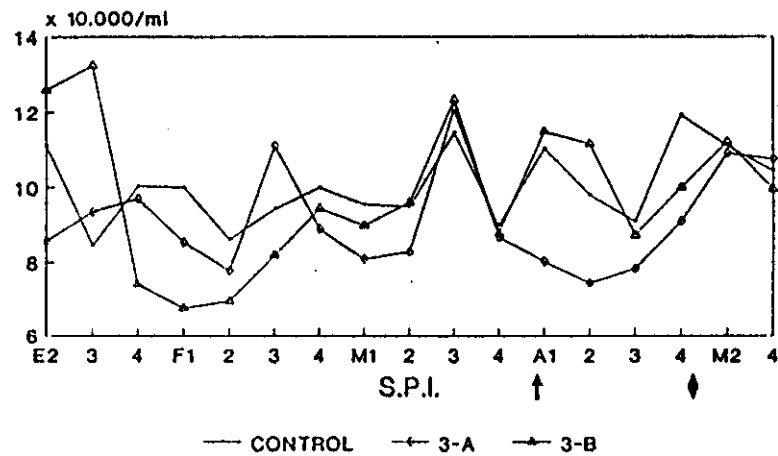
## Grf.5 - Leuco. 1



## Grf.6 - Leuco. 2

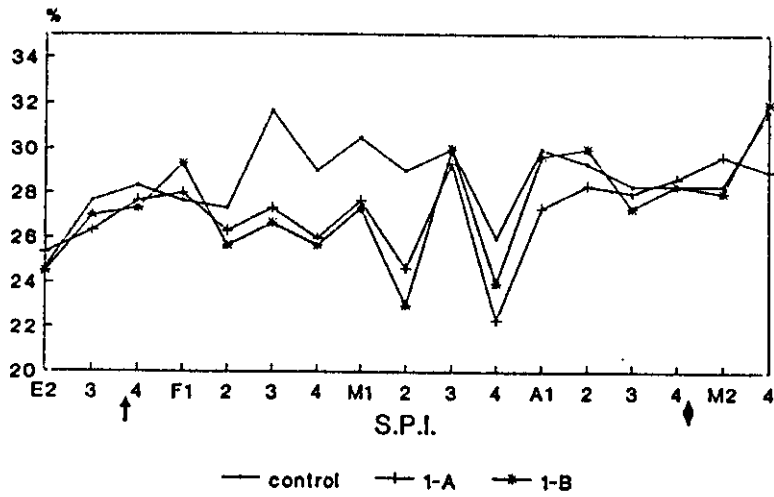


## Grf.7 - Leuco. 3

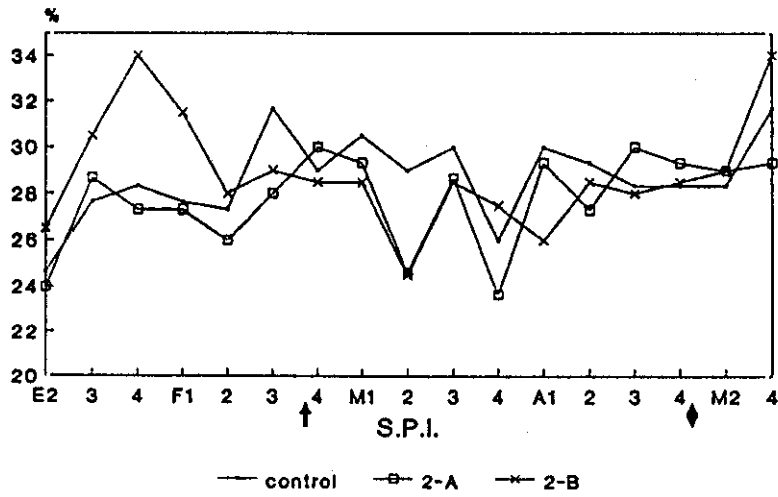


S.P.I. - Semanas postinfección  
 - Inoculación →  
 - Partos ◆

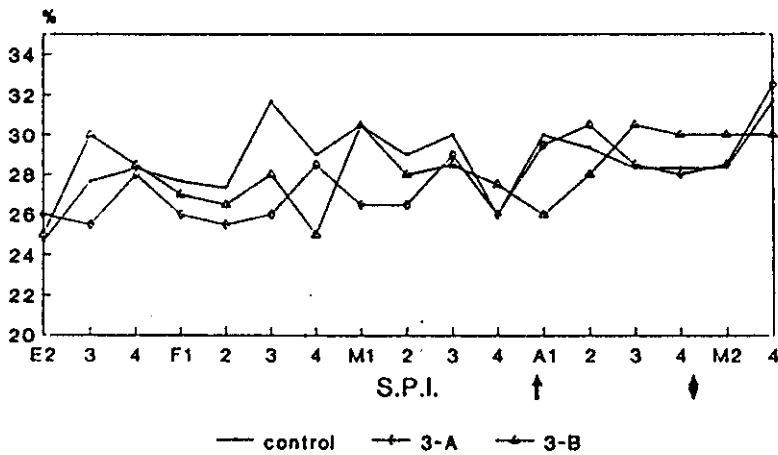
### Grf.8 - Hcto. 1



### Grf.9 - Hcto. 2

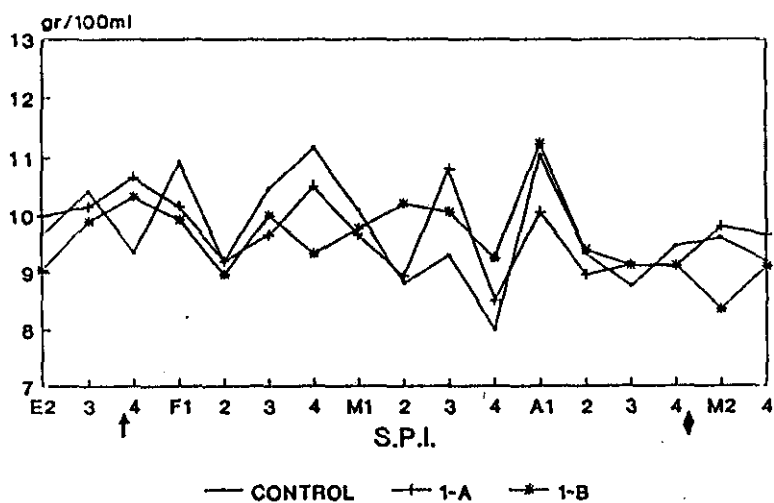


### Grf.10 - Hcto. 3

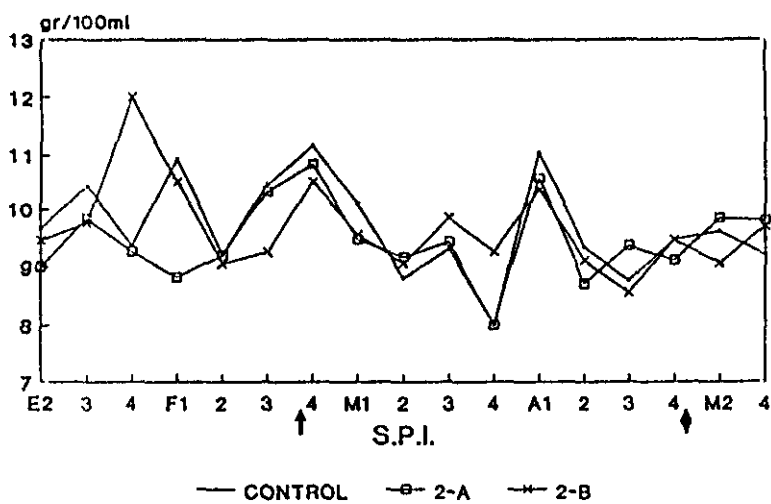


Semanas postinfección - S.P.I.  
 Inoculación →  
 Partos ◆

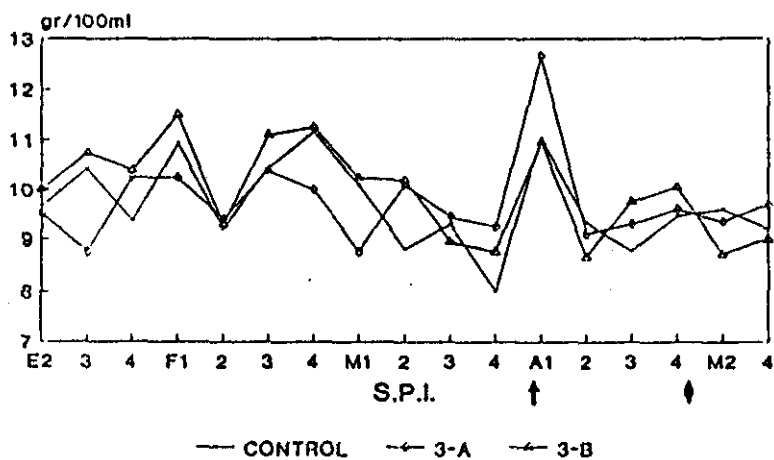
## Grf.11 - Hb 1



## Grf.12 - Hb 2

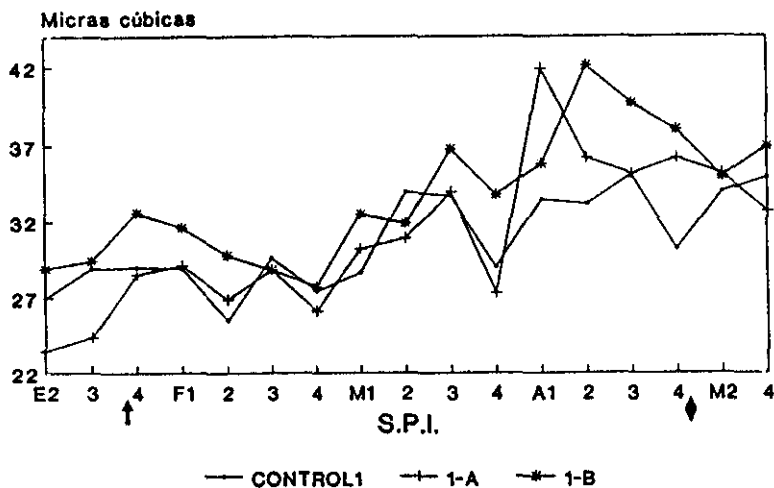


## Grf.13 - Hb 3

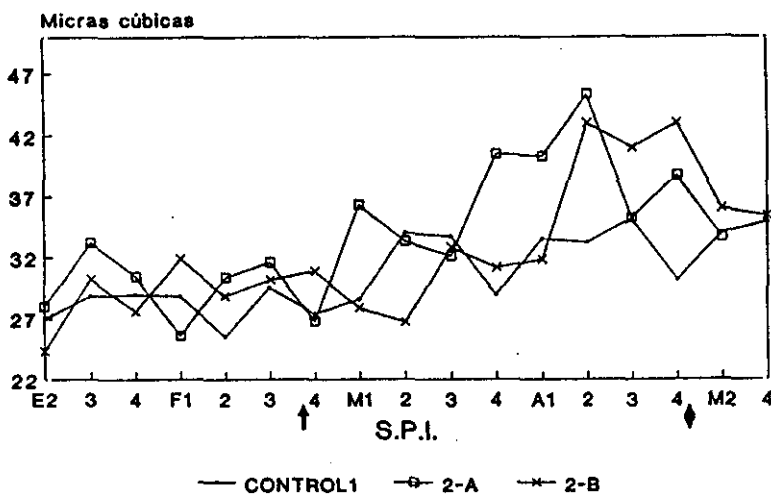


Semanas postinoculación  
 Inoculación →  
 Partos ↓

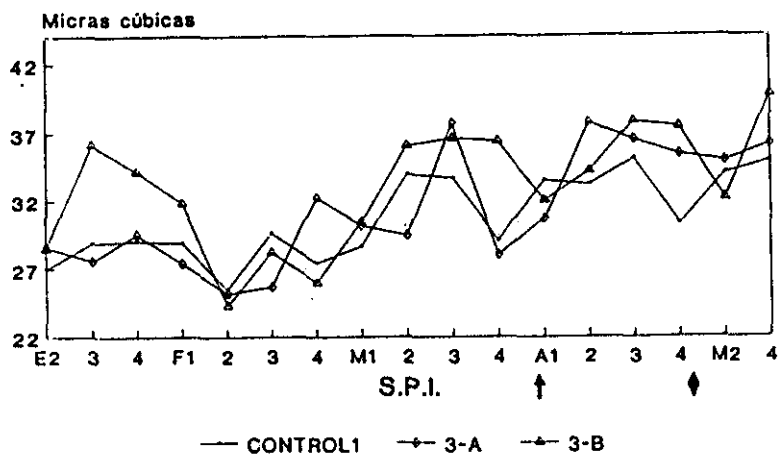
### Grf.14 - V.C.M. 1



### Grf.15 - V.C.M. 2

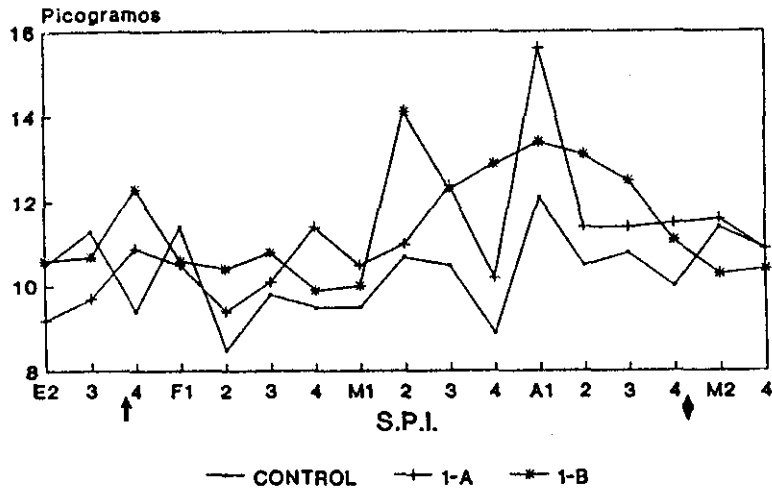


### Grf.16 - V.C.M. 3

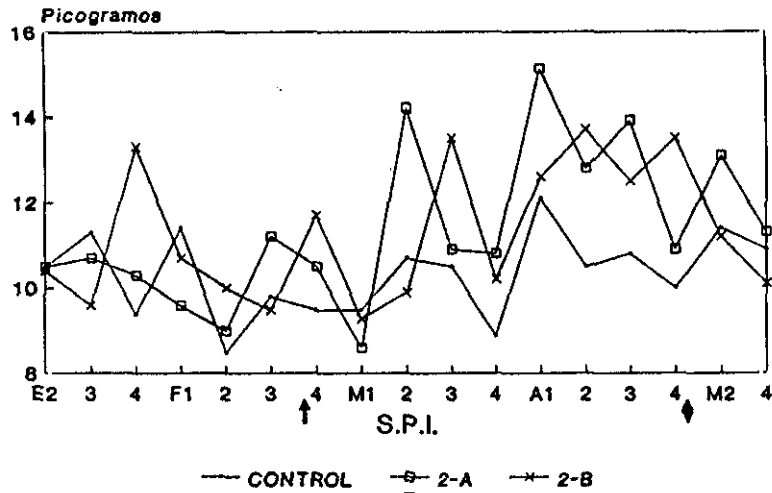


Semanas postinfección - S.P.I.  
 Inoculación →  
 Partos ◆

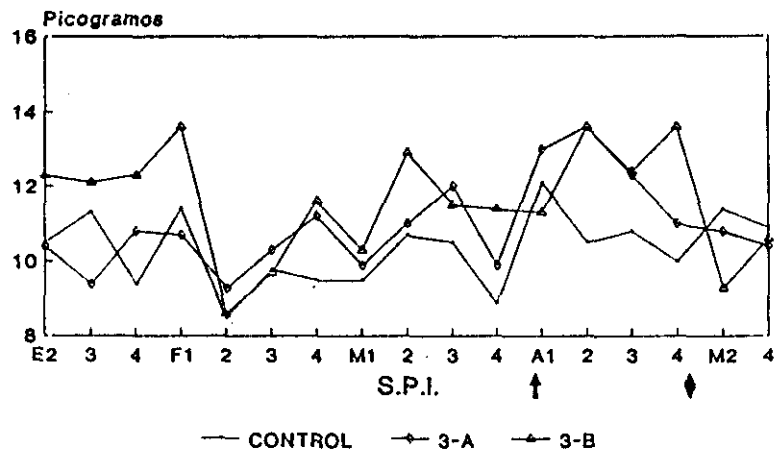
## Grf.17 - H.C.M. 1



## Grf.18 - H.C.M. 2

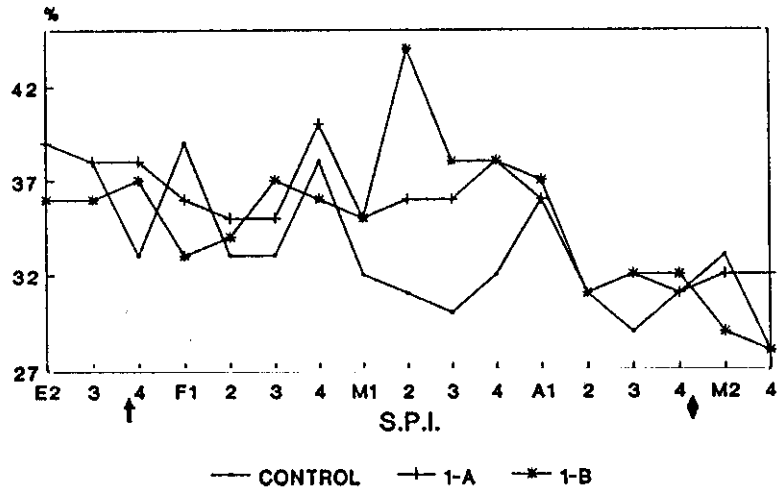


## Grf.19 - H.C.M. 3

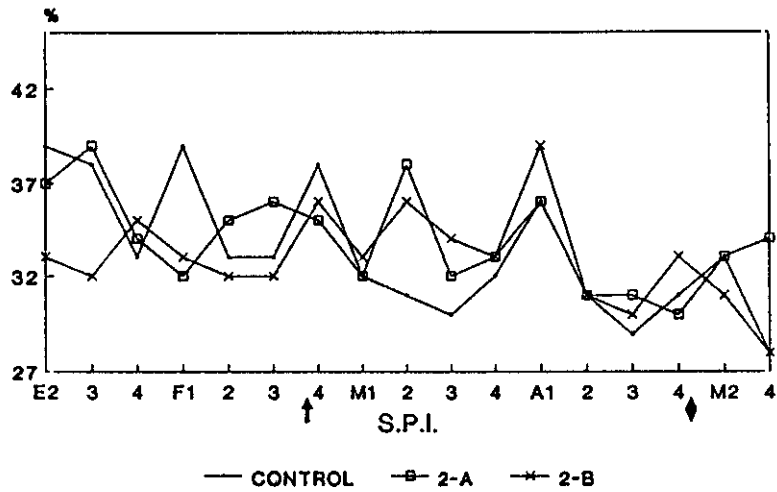


Semanas postinfección - S.P.I.  
 Inoculación →  
 Partos ↓

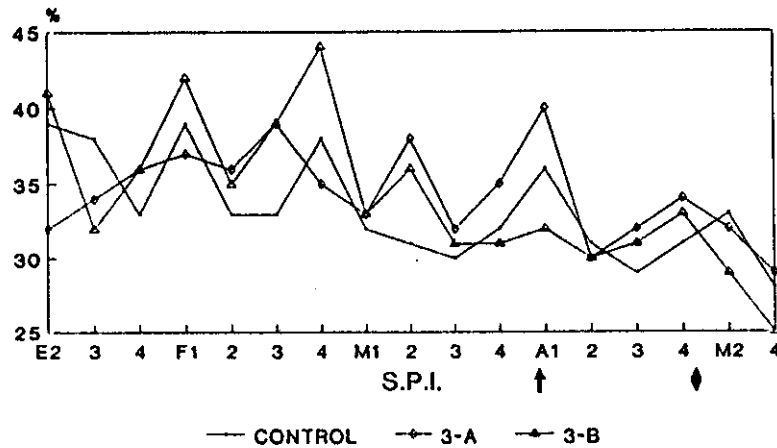
## Grf.20 - C.C.M.H. 1



## Grf.21 - C.C.M.H. 2

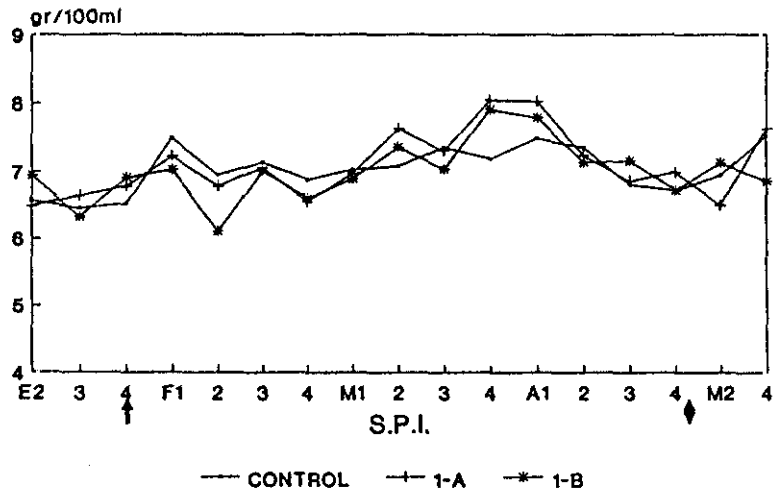


## Grf.22 - C.C.M.H. 3

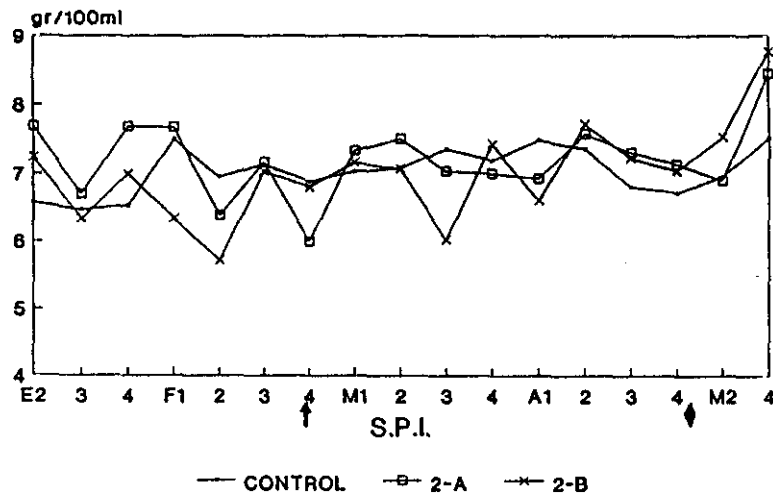


Semanas postinfección - S.P.I.  
 Inoculación →  
 Partos ◆

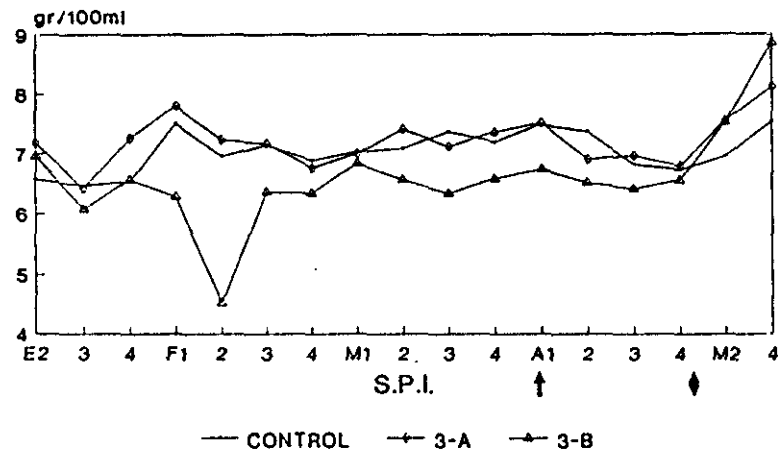
## Grf.23 - Prot. 1



## Grf.24 - Prot. 2

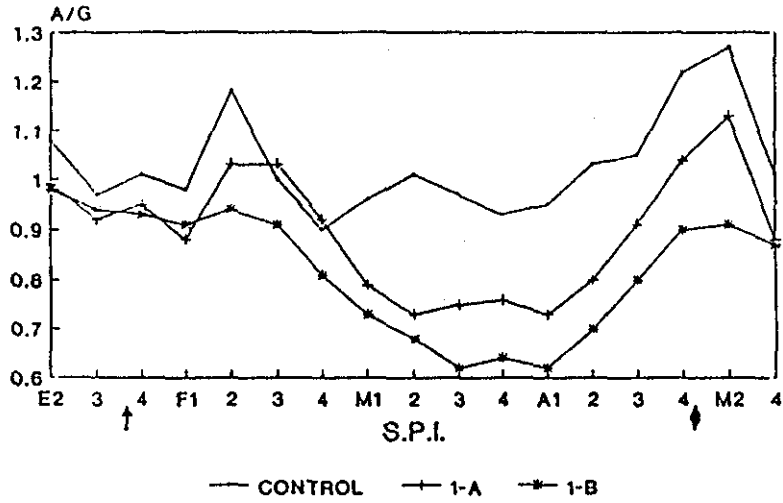


## Grf.25 - Prot. 3

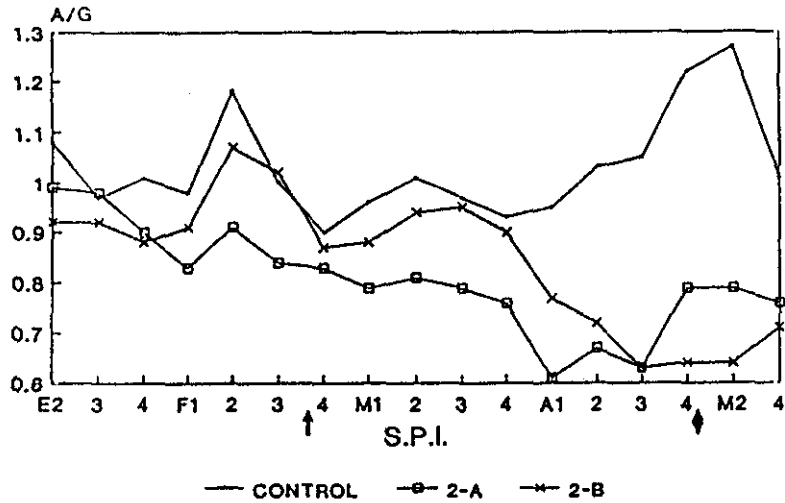


Semanas postinfección - S.P.I.  
 Inoculación →  
 Partos ◆

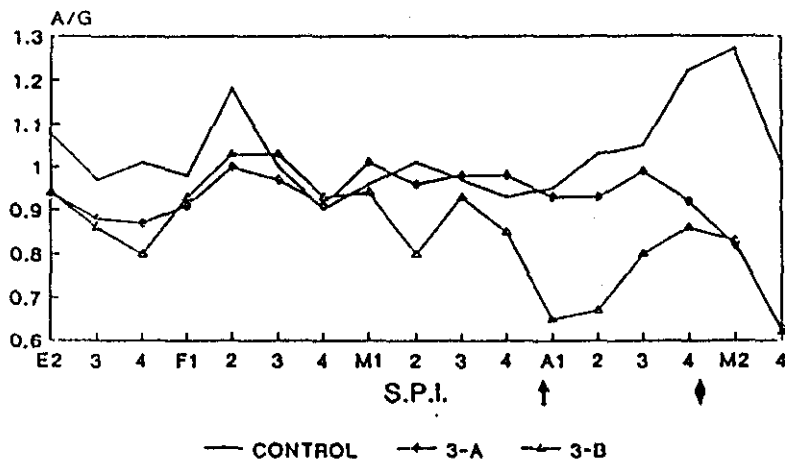
### Grf.26 - Cociente A/G 1



### Grf.27 - Cociente A/G 2

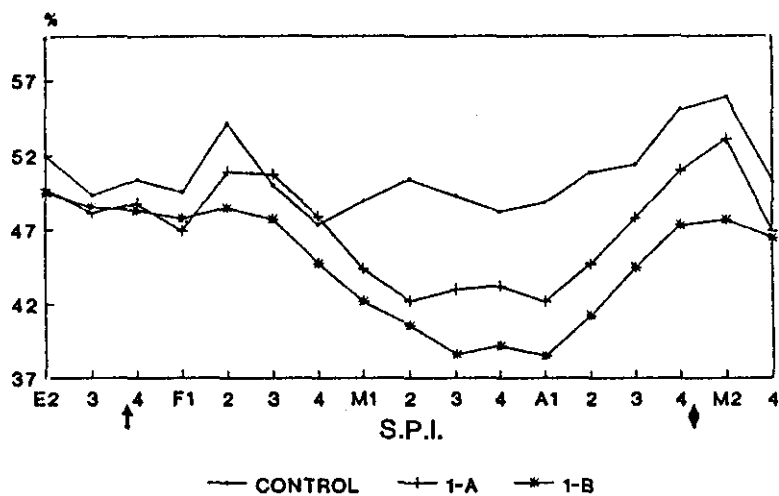


### Grf.28 - Cociente A/G 3

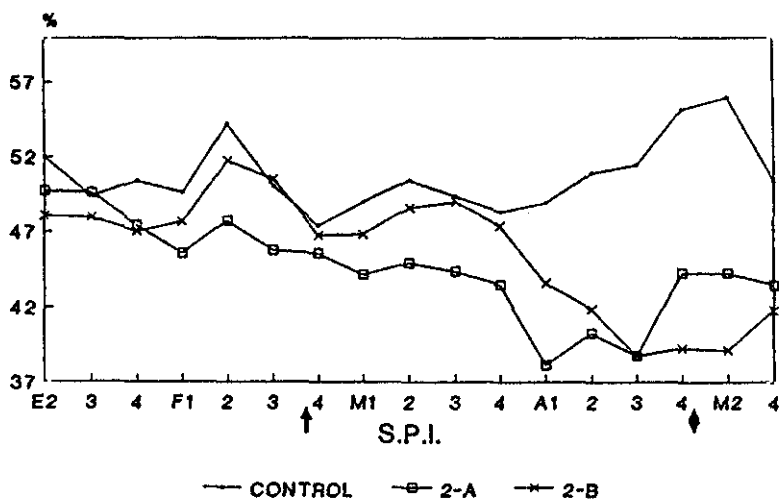


Semanas postinoculación - S.P.I.  
 Inoculación →  
 Partos ↓

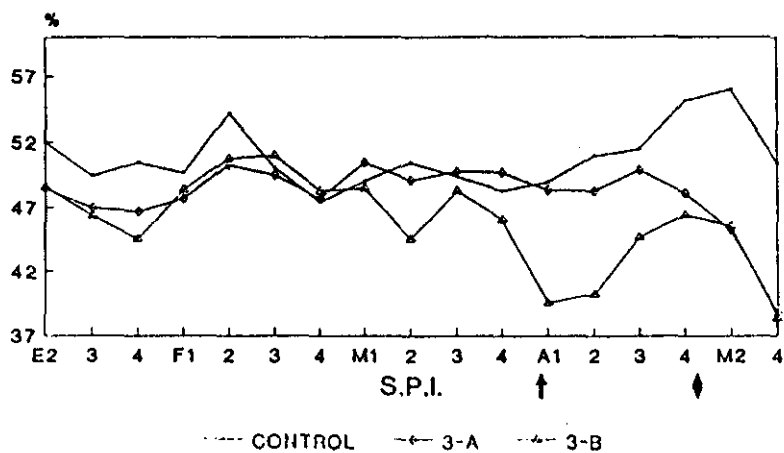
### Grf.29 - Albúm. 1



### Grf.30 - Albúm. 2

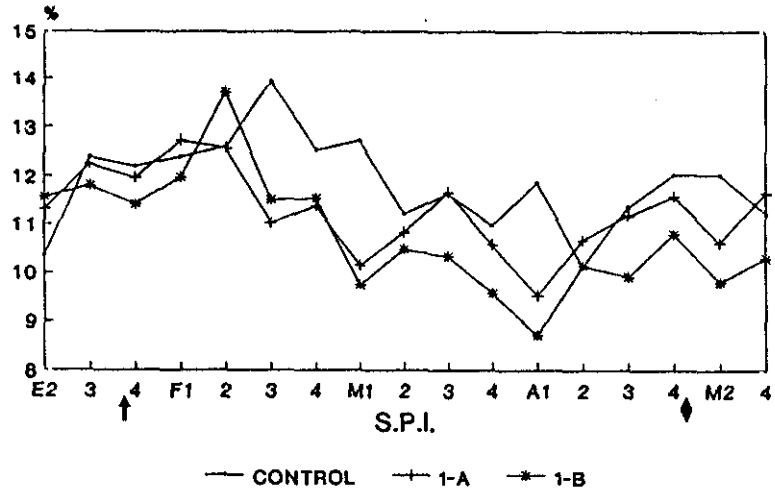


### Grf.31 - Albúm. 3

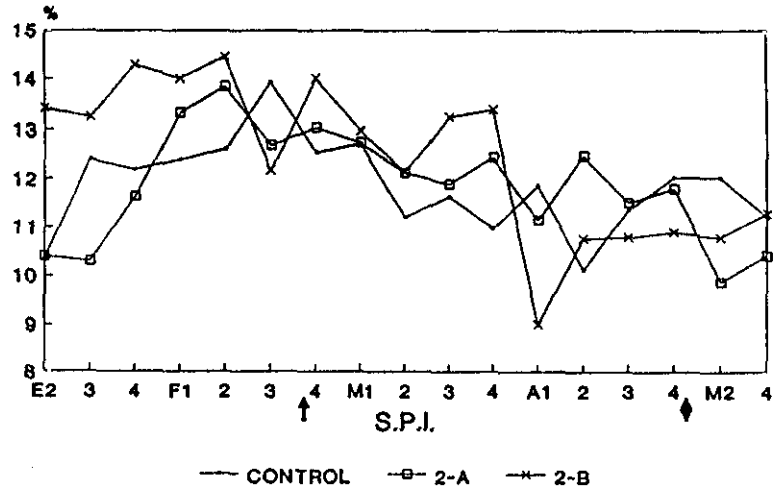


Semanas postinfección - S.P.I.  
 Inoculación →  
 Partos ◆

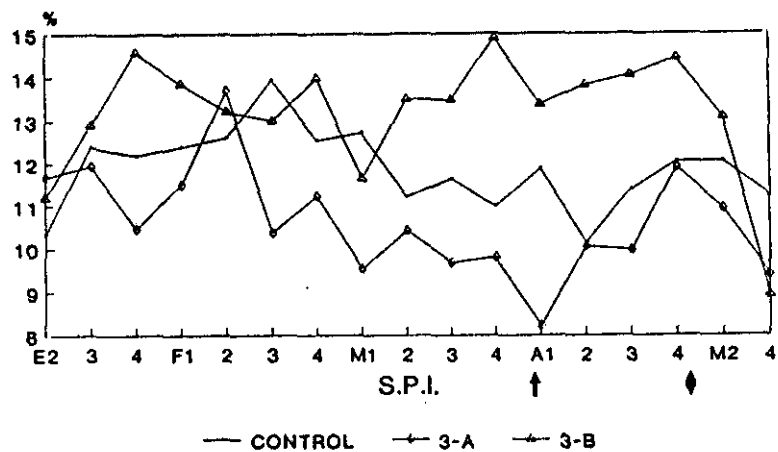
### Grf.32 - Alfas 1



### Grf.33 - Alfas 2

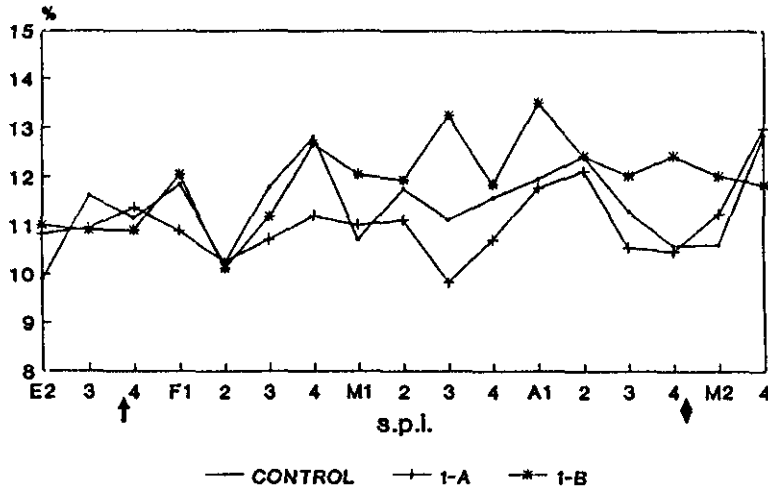


### Grf.34 - Alfas 3

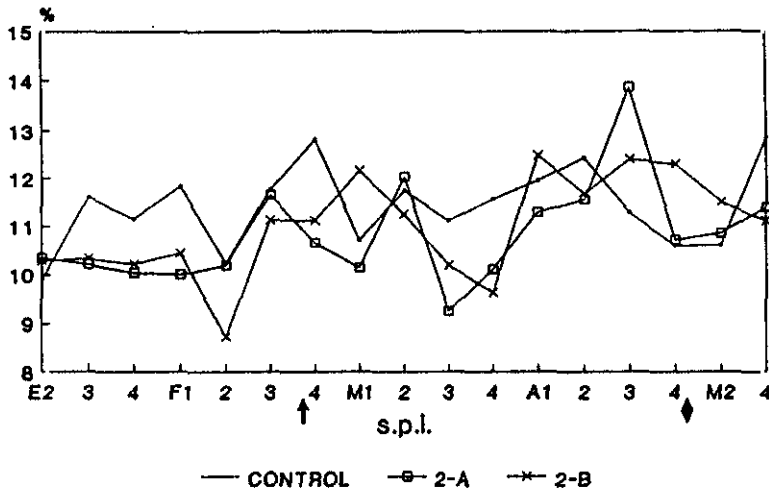


Semanas postinfección - S.P.I.  
 Inoculación →  
 Partos ◆

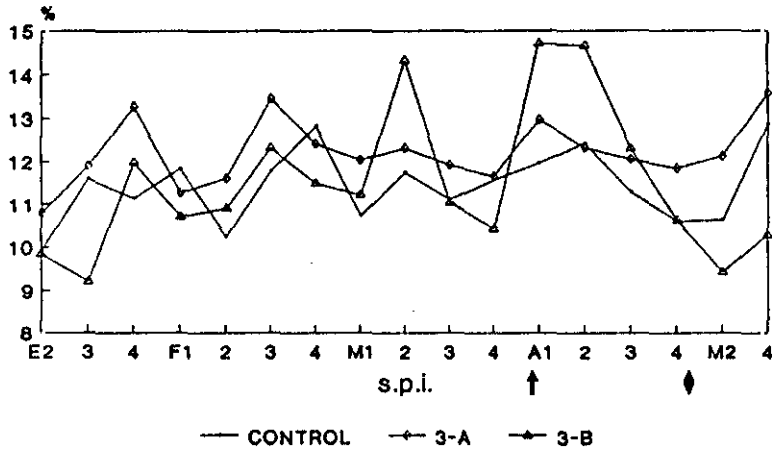
### Grf.35 - Betas 1



### Grf.36 - Betas 2

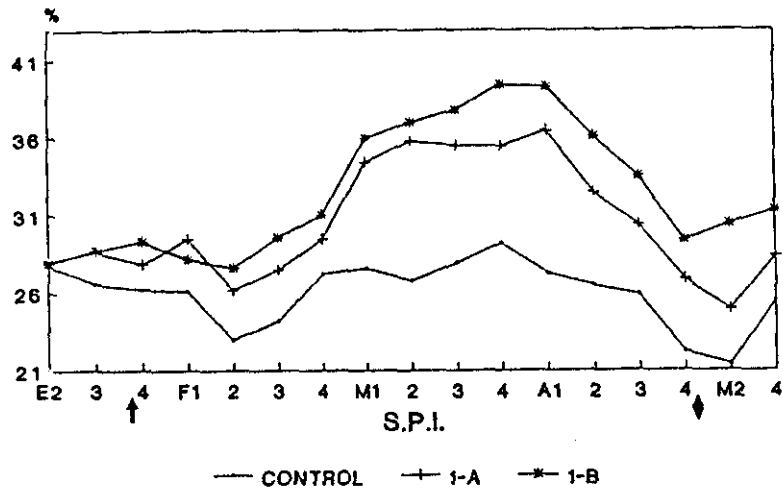


### Grf.37 - Betas 3

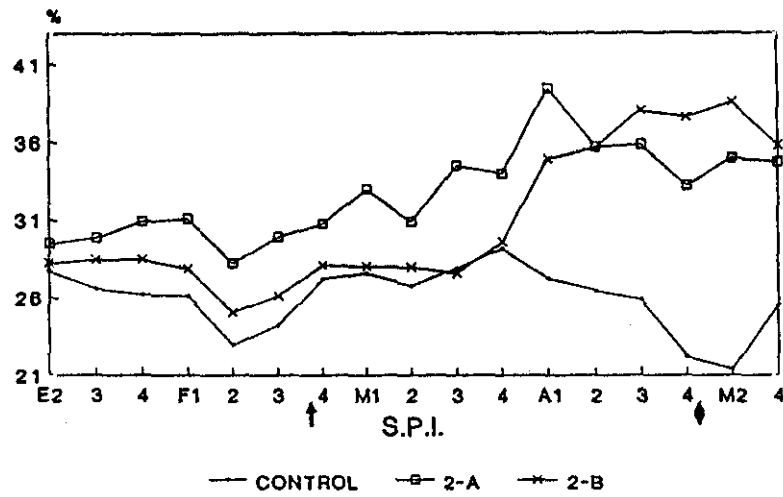


Semanas postinfección - S.P.I.  
 Inoculación →  
 Partos ◆

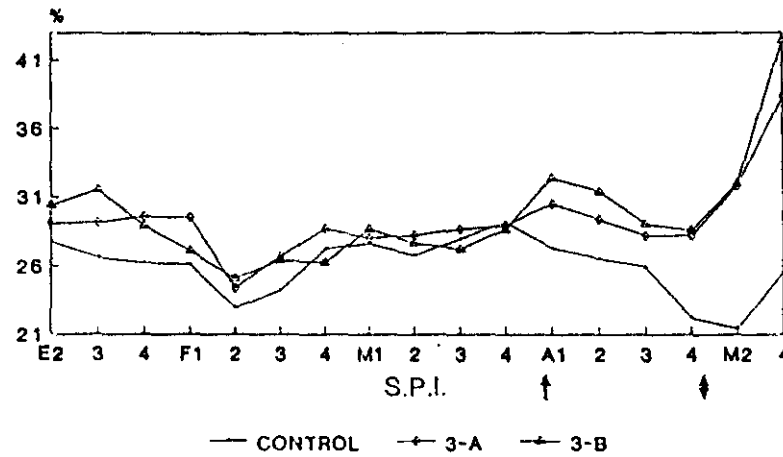
### Grf.38 - Gammas 1



### Grf.39 - Gammas 2

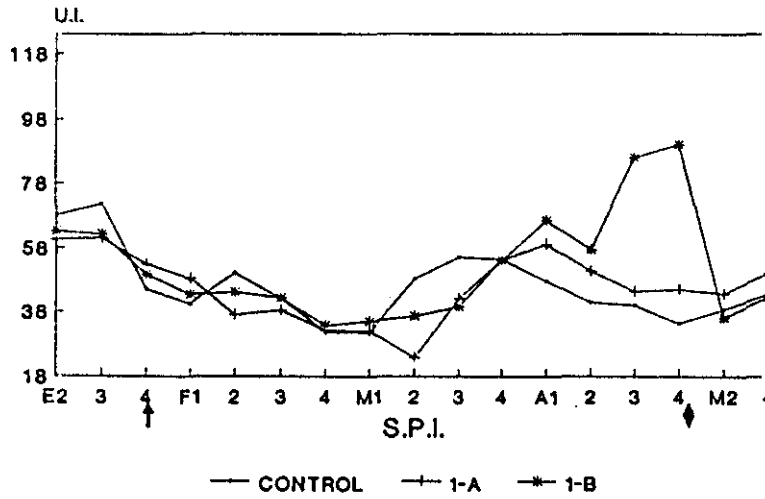


### Grf.40 - Gammas 3

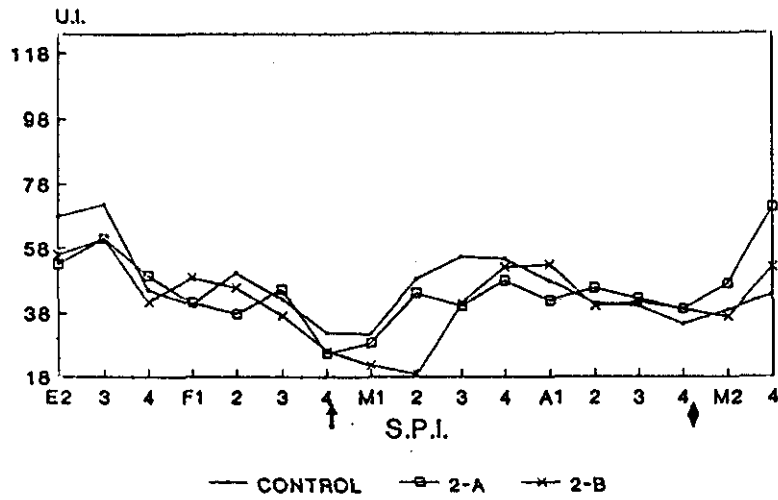


Semanas postinfección  
 Inoculación →  
 Partos ◆

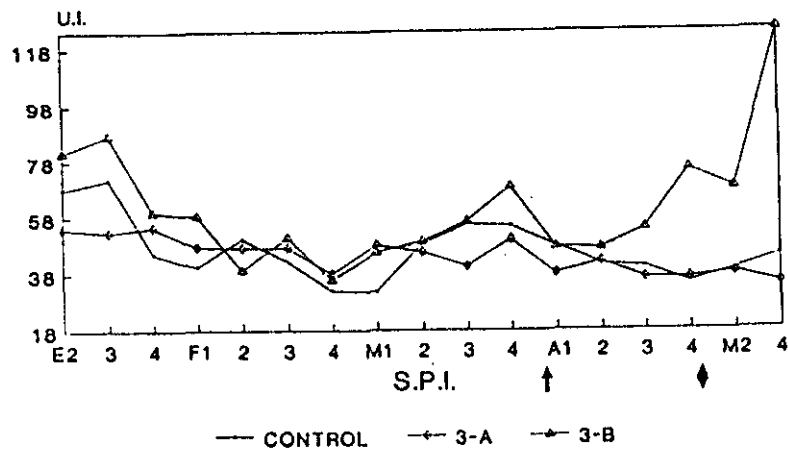
### Grf.41 - G.O.T. 1



### Grf.42 - G.O.T. 2

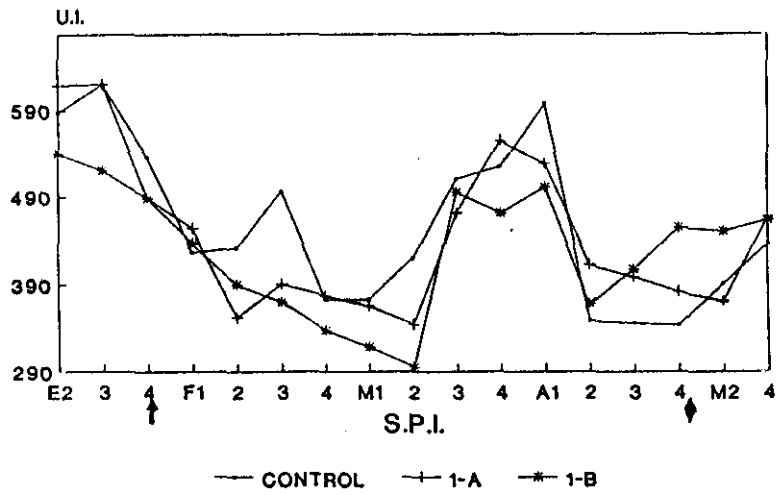


### Grf.43 - G.O.T. 3

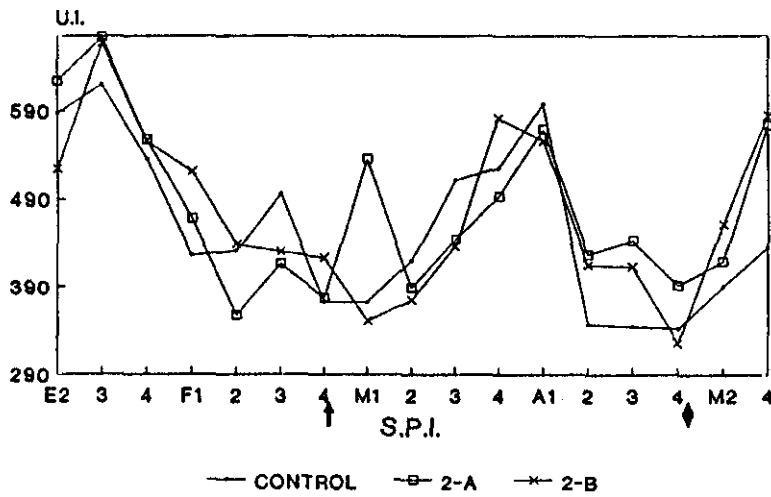


Semanas postinoculación - S.P.I.  
 Inoculación →  
 Partos ◆

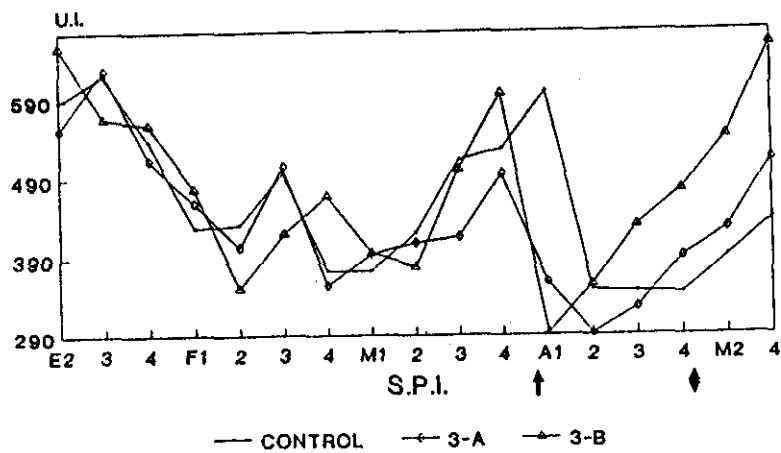
## Grf.44 - L.D.H. 1



## Grf.45 - L.D.H. 2

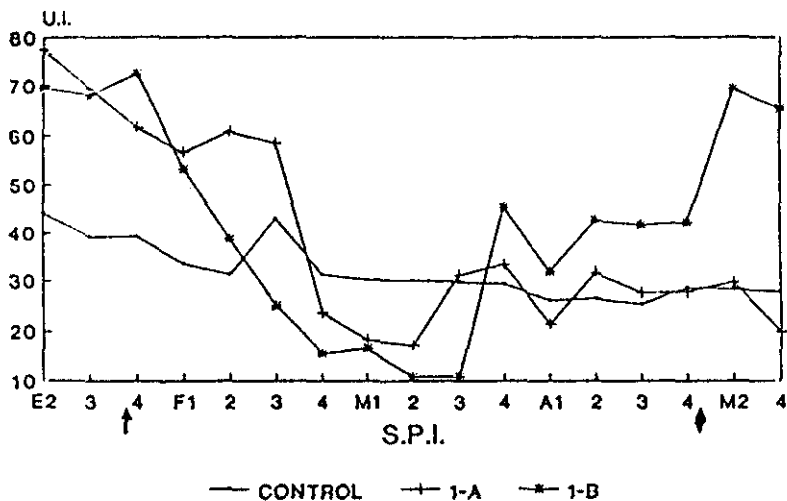


## Grf.46 - L.D.H. 3

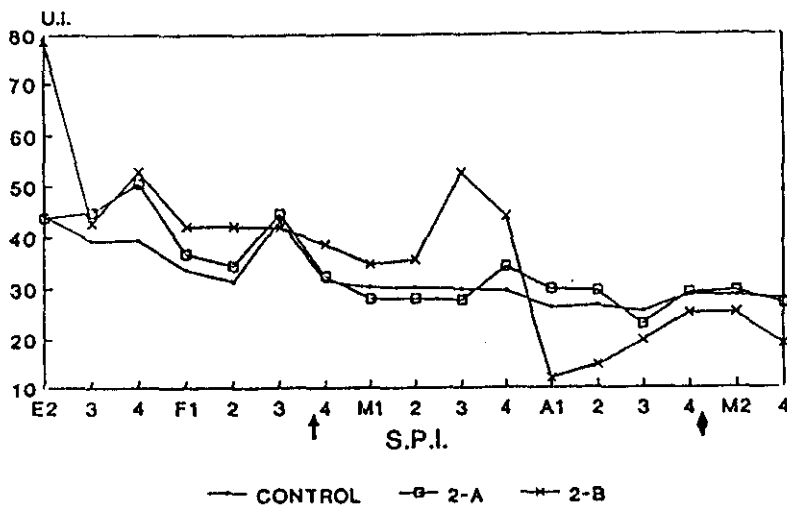


Semanas postinfección  
Inoculación →  
Partos ◆

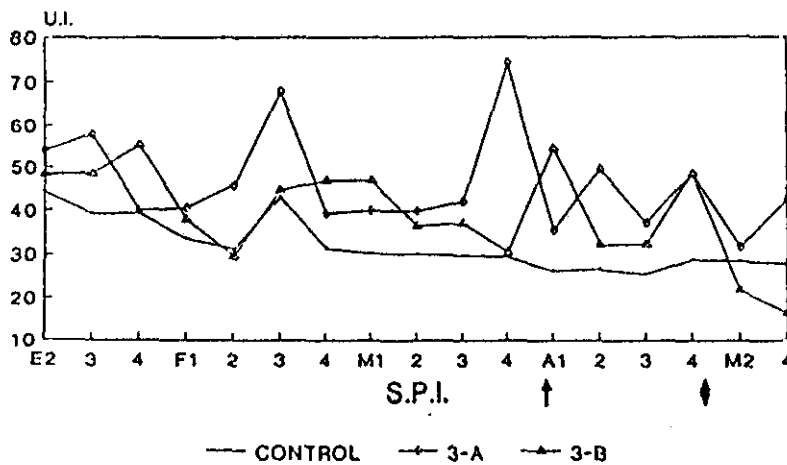
### Grf.47 - F.A. 1



### Grf.48 - F.A. 2

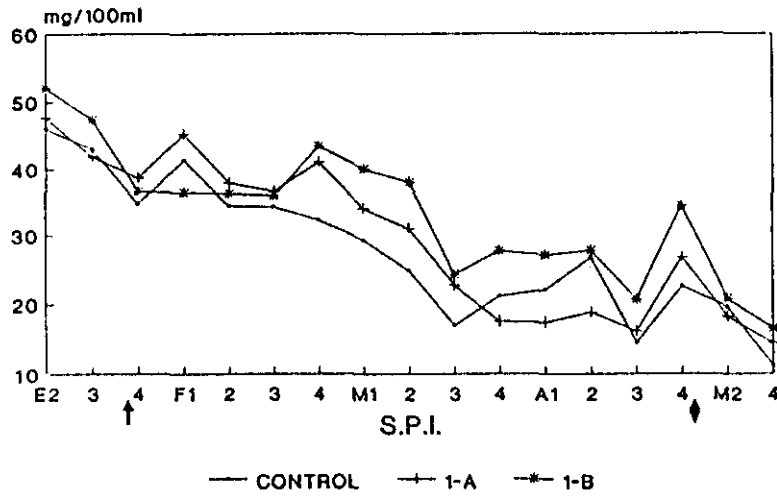


### Grf.49 - F.A. 3

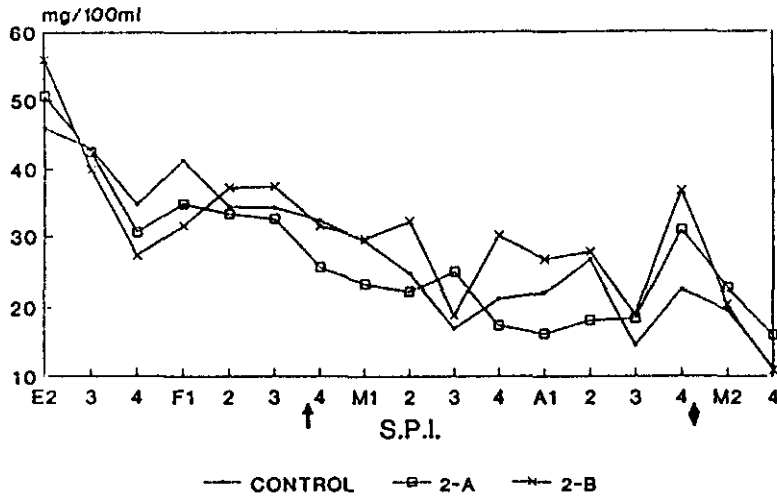


Semanas postinfección - S.P.I.  
 Inoculación →  
 Parlos ◆

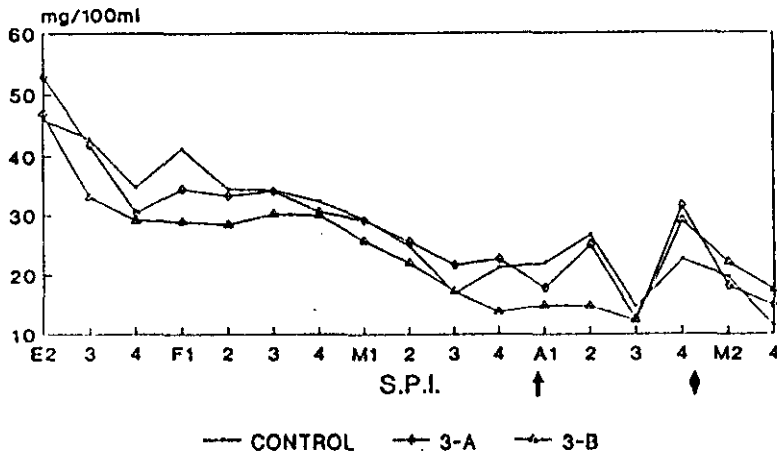
## Grf.50 - Glucosa 1



## Grf.51 - Glucosa 2

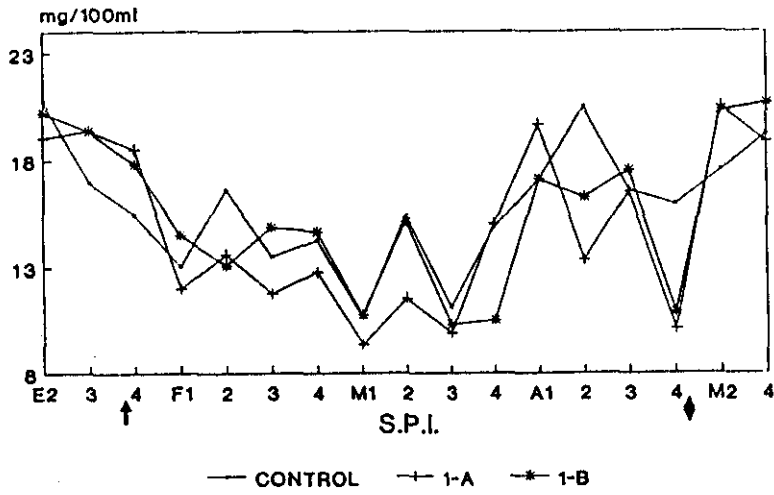


## Grf.52 - Glucosa 3

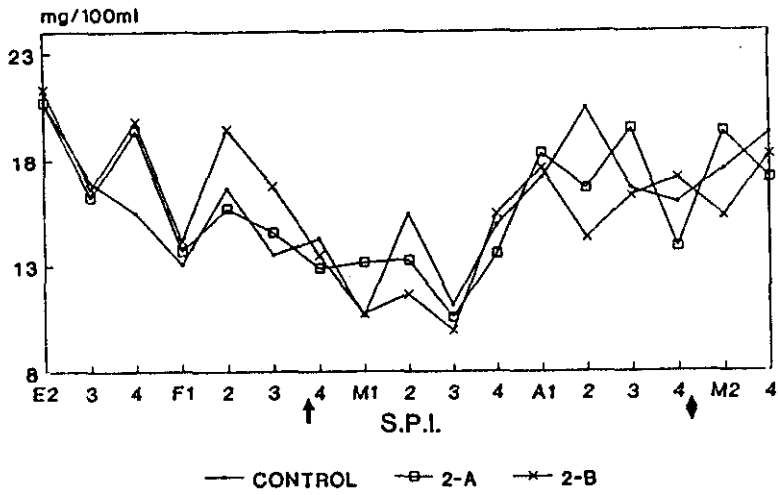


Semanas postinfección - S.P.I.  
 Inoculación →  
 Partos ◆

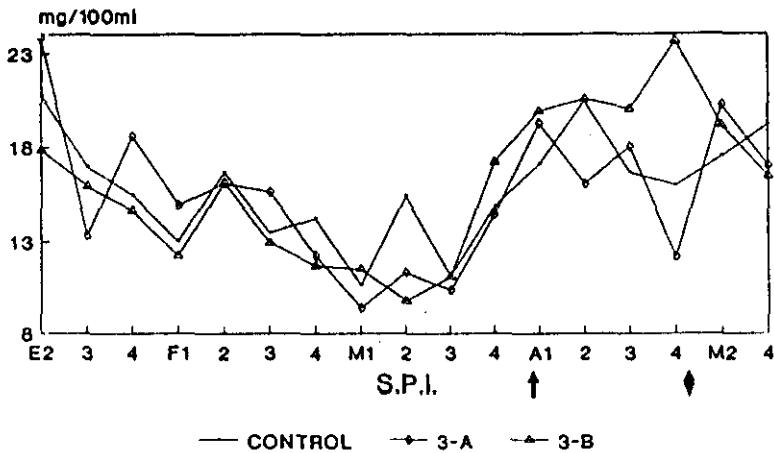
### Grf.53 - B.U.N. 1



### Grf.54 - B.U.N. 2

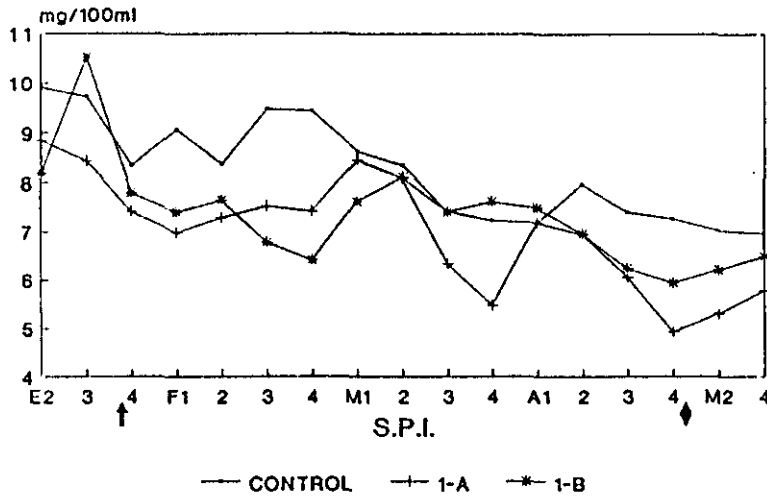


### Grf.55 - B.U.N. 3

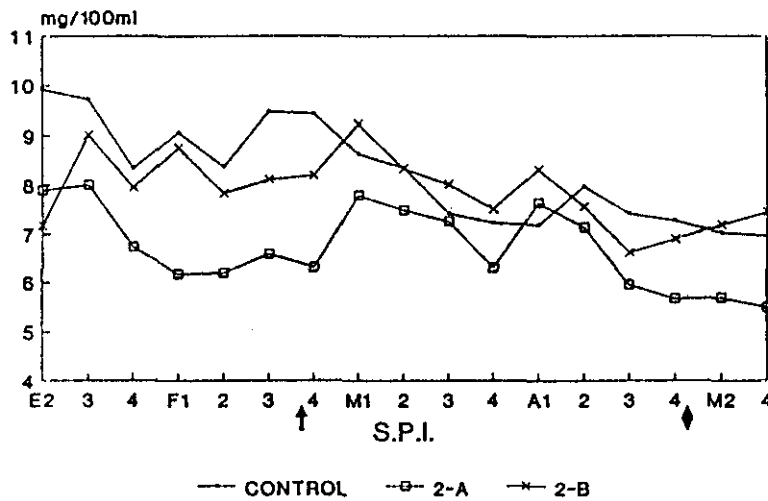


Semanas postinoculación - S.P.I.  
 Inoculación →  
 Partos ◆

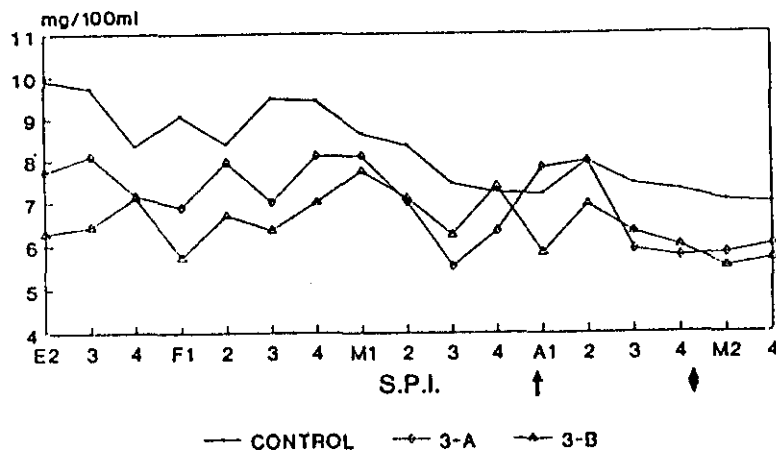
## Grf.56 - Calcio 1



## Grf.57 - Calcio 2

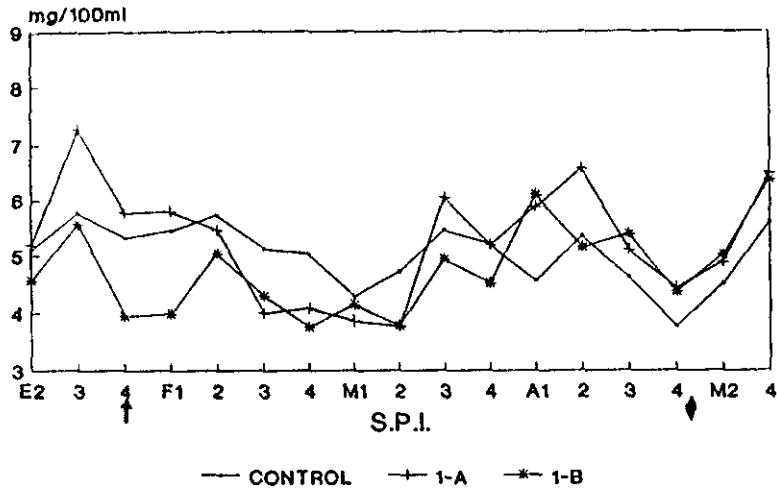


## Grf.58 - Calcio 3

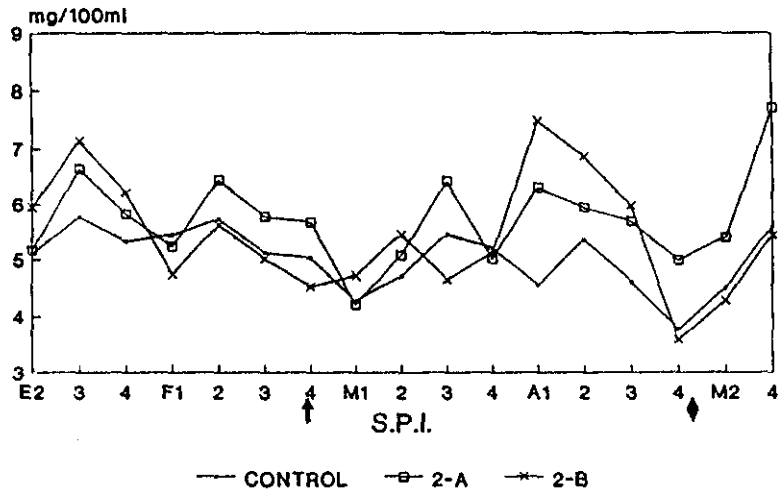


Semanas postinfección - S.P.I.  
 Inoculación →  
 Partos ◆

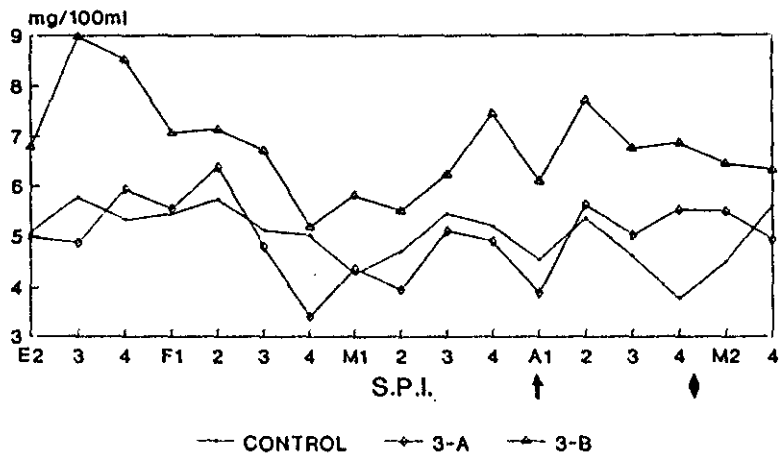
## Grf.59 - Fósforo 1



## Grf.60 - Fósforo 2



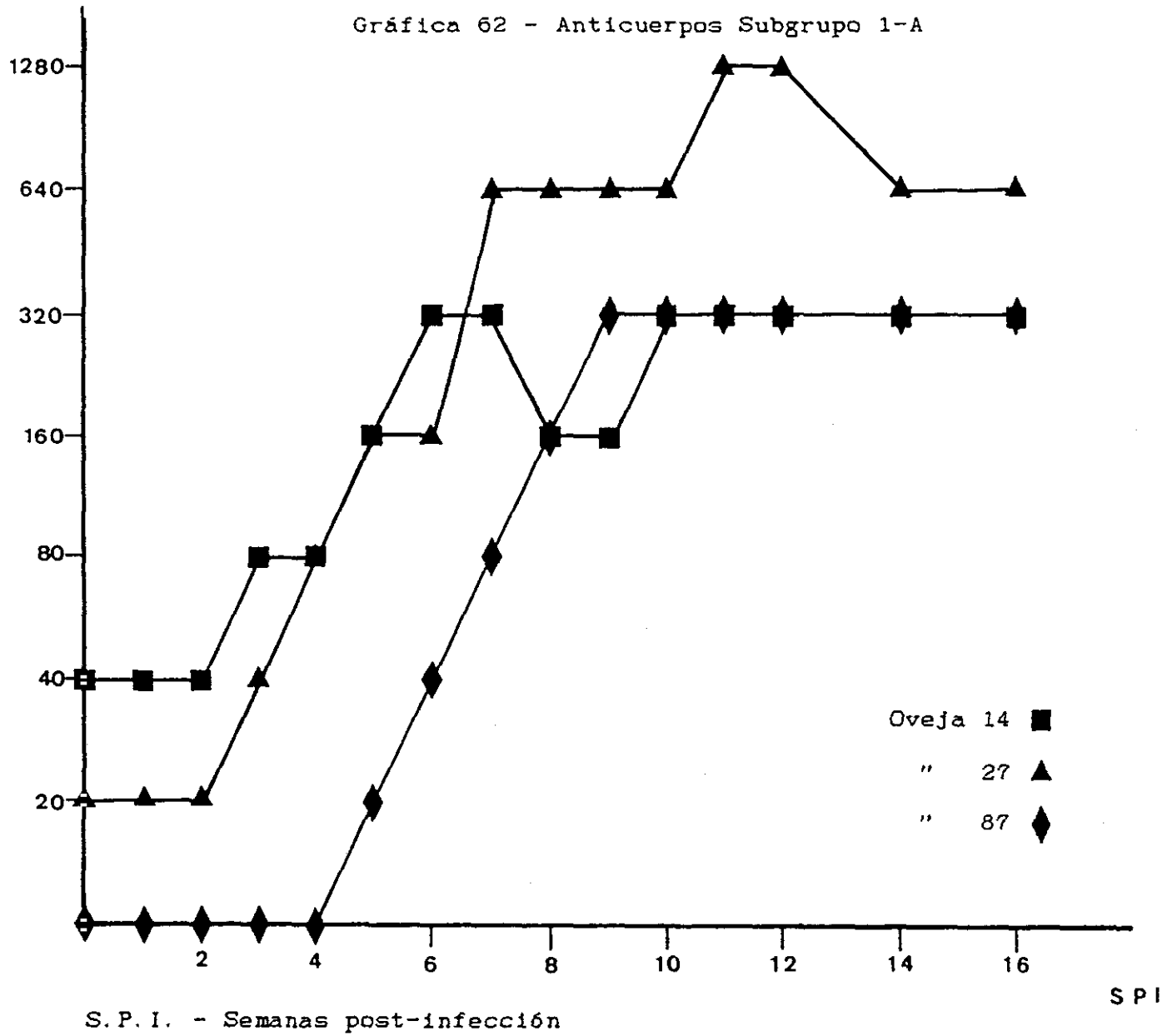
## Grf.61 - Fósforo 3

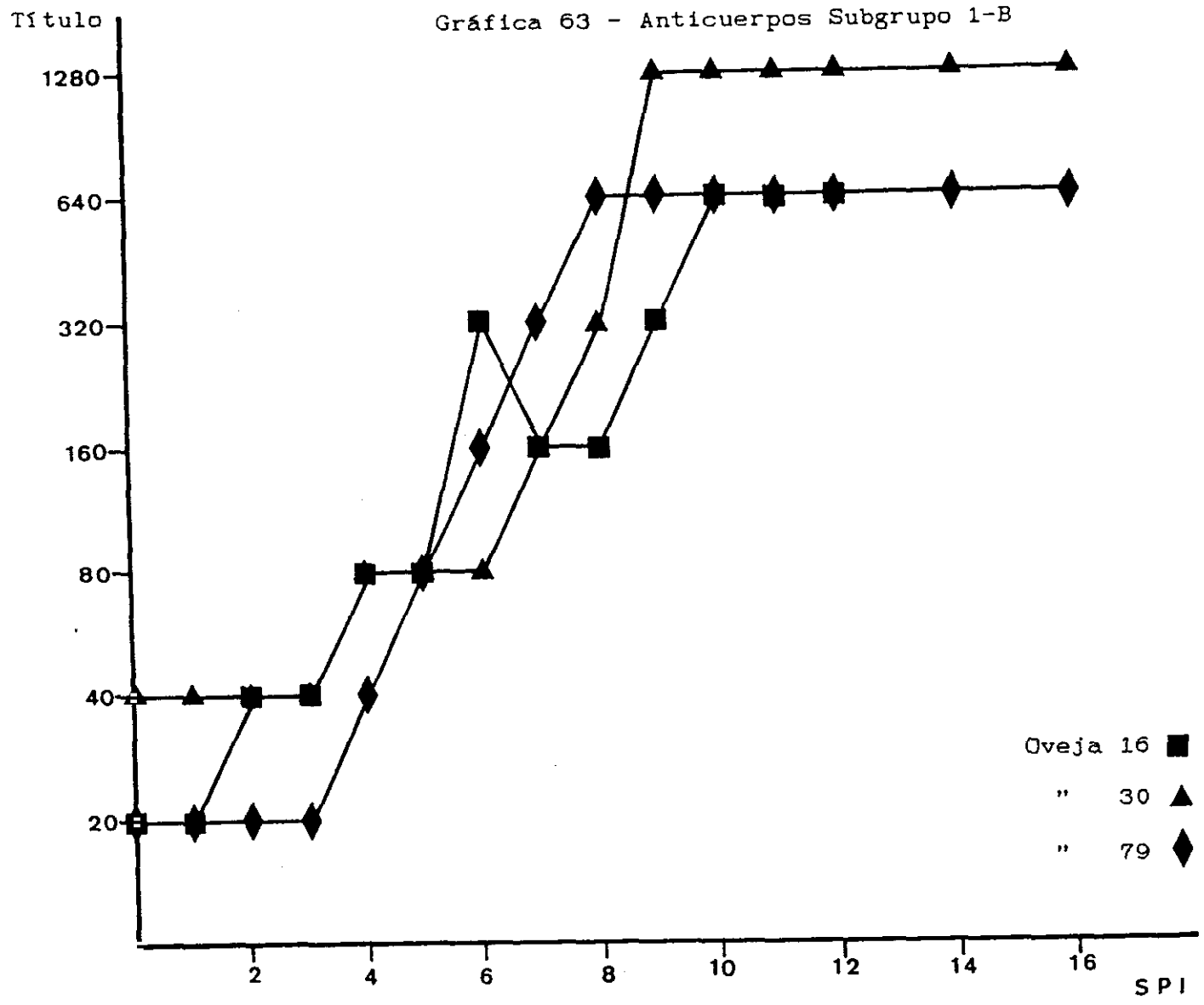


Semanas postinfección - S.P.I.  
 Inoculación →  
 Partos ◆

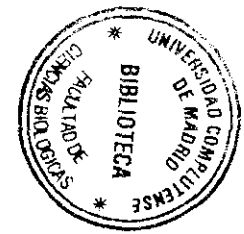
Título

Gráfica 62 - Anticuerpos Subgrupo 1-A

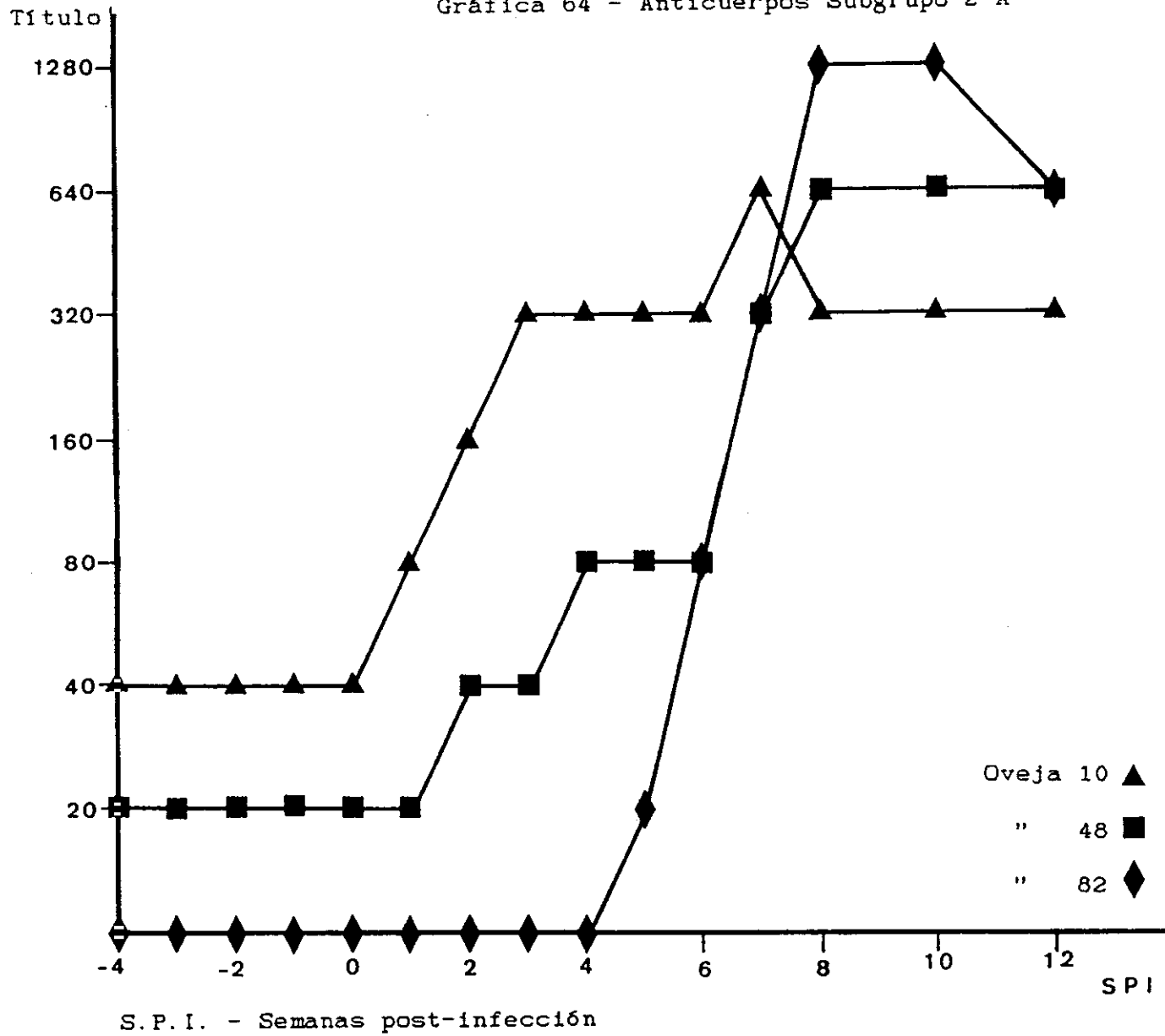


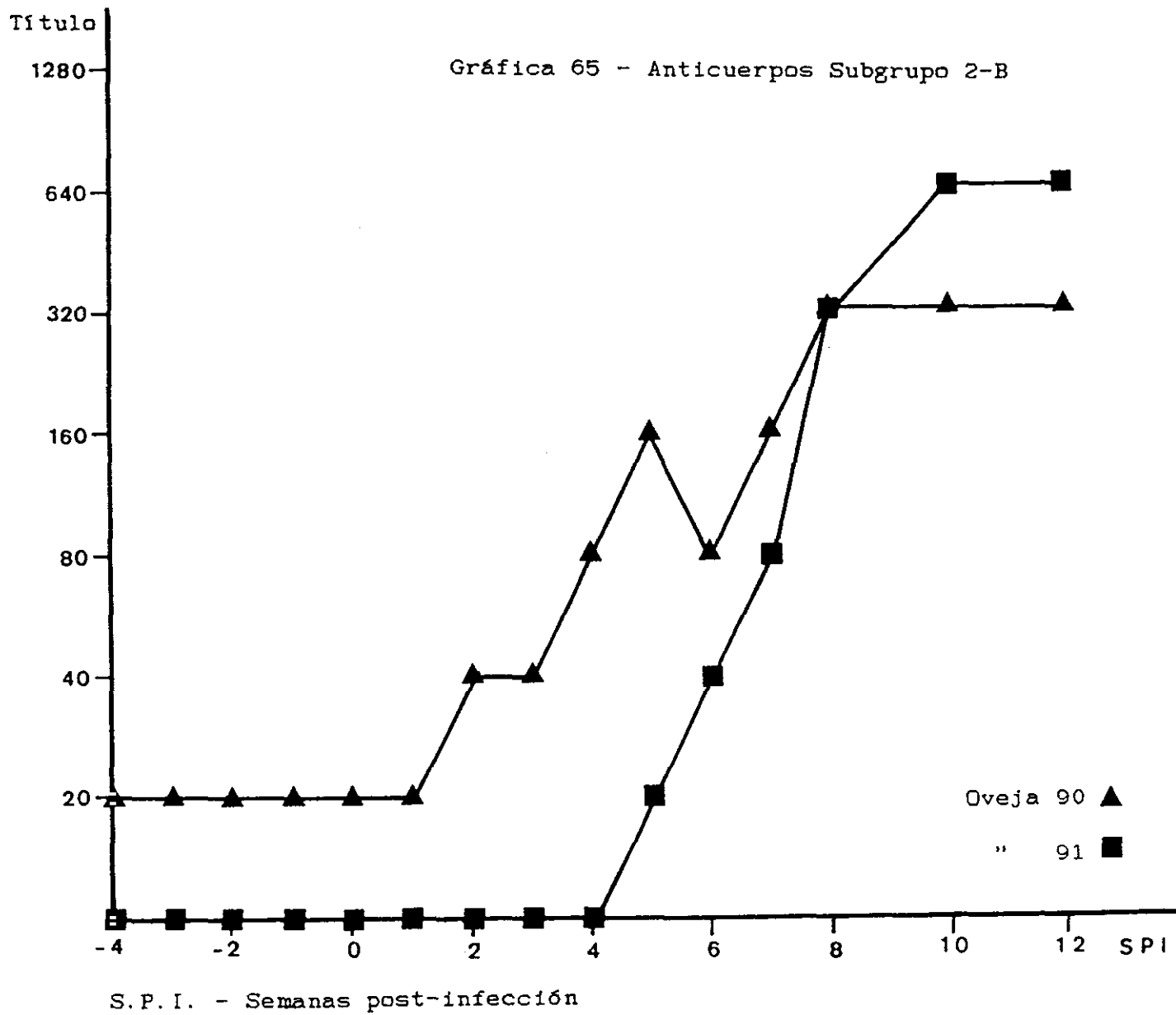


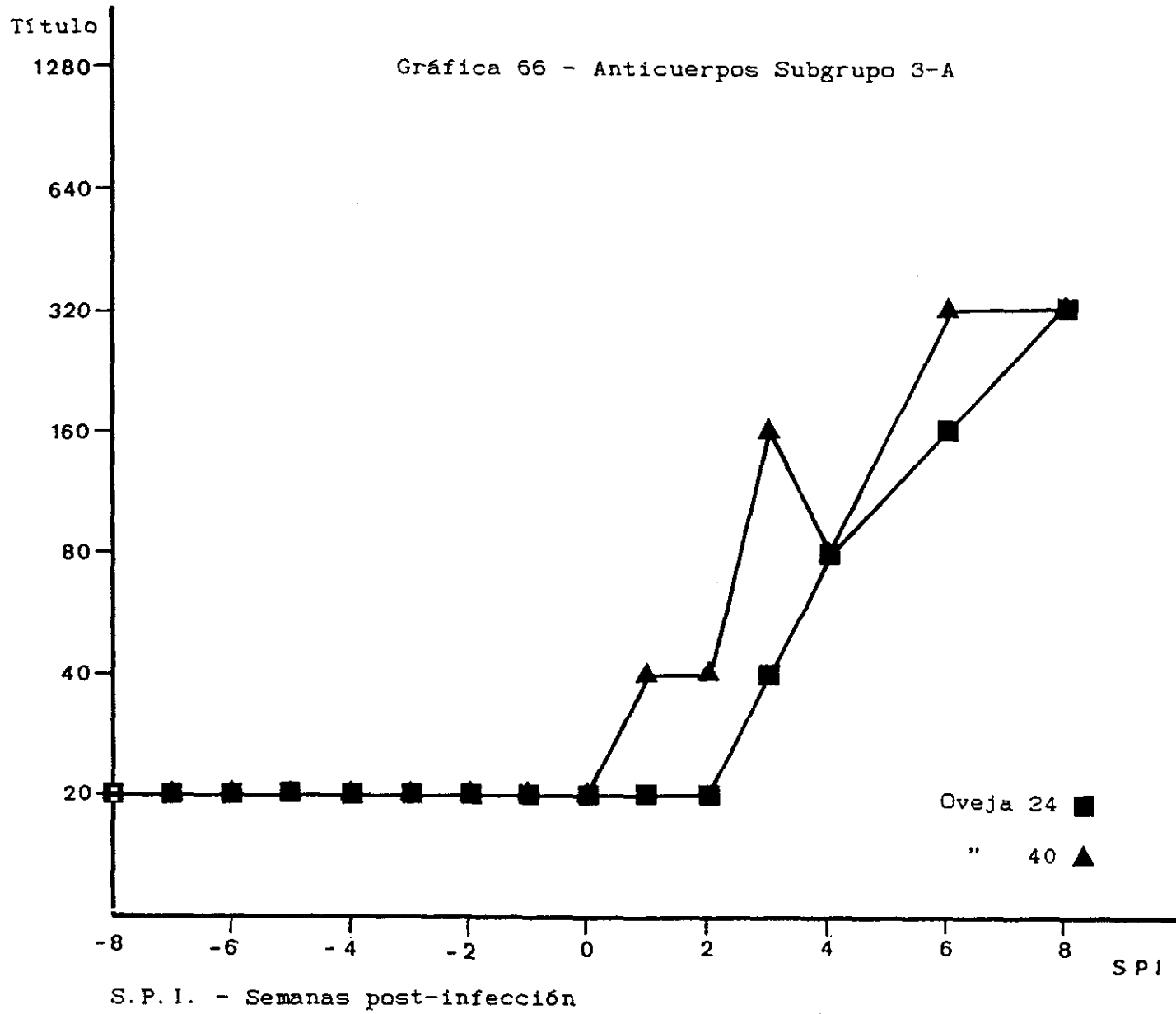
S.P.I. - Semanas post-infección

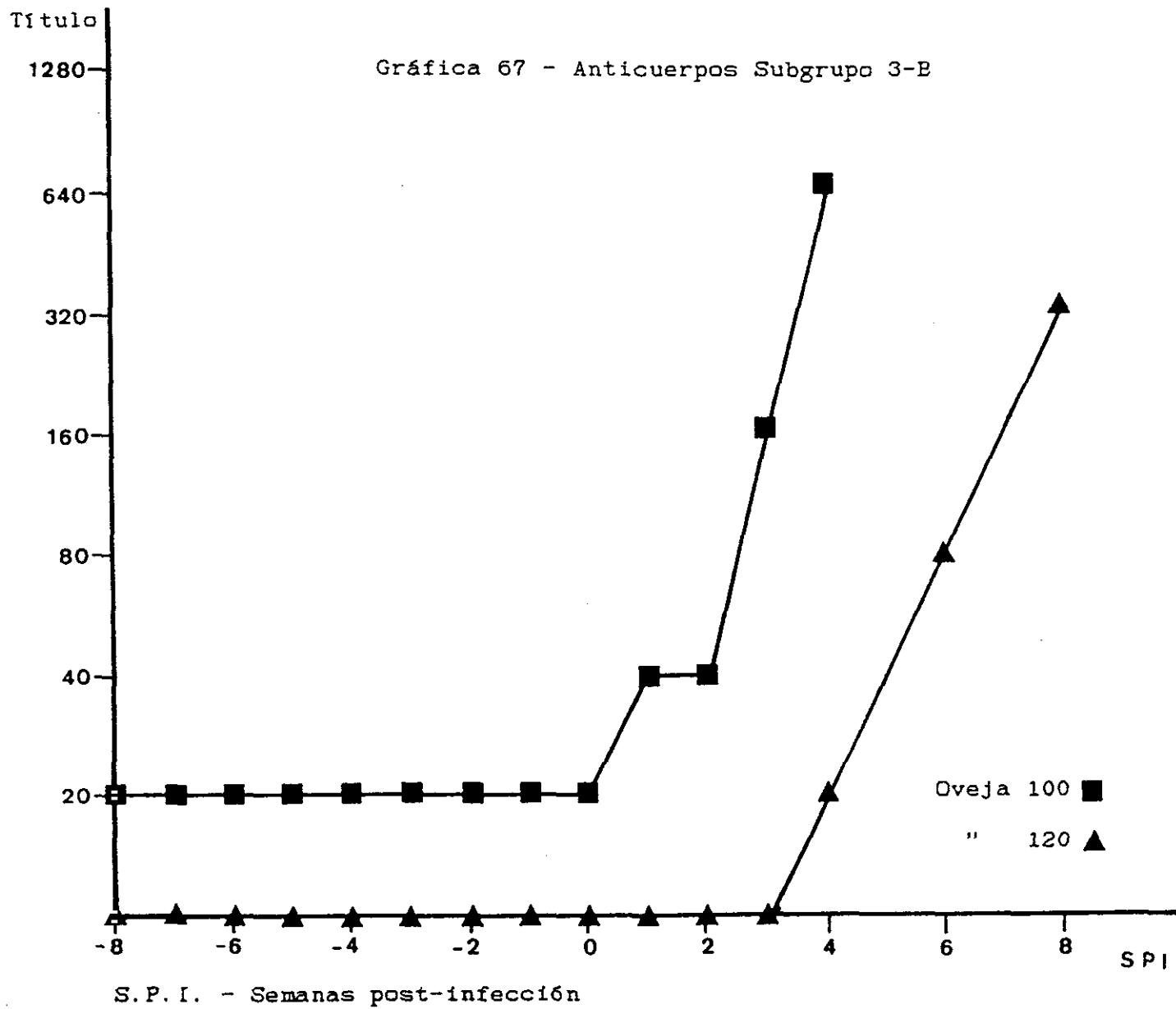


Gráfica 64 - Anticuerpos Subgrupo 2-A









## **6. DISCUSSION**

## 6. DISCUSION

### 6.1. EPIDEMIOLOGIA

Uno de los objetivos planteados en esta tesis, ha sido aportar datos sobre la prevalencia de la parasitación, por especies de Sarcocystis productoras de microquistes. Sin embargo, y con el fin de profundizar en este aspecto, algo más de lo que se ha venido haciendo en nuestro país, hemos querido relacionar esta prevalencia con la edad de los animales, y dentro de cada uno de ellos, con cuatro órganos susceptibles de ser parasitados. Por último hemos combinado técnicas de reconocimiento microscópico (digestión muscular) con test serológicos (IFI), con el fin de asegurar, si ello era posible, un diagnóstico fiable de estas parasitosis a nivel de campo.

En lo referente a microquistes hay que destacar el porcentaje de parasitación observado cuando se analizaron cuatro órganos distintos de cada animal, encontrándose una incidencia de parasitación en lengua y corazón mucho mayor que en esófago y diafragma. Estas diferencias, que como se verá más tarde se han observado también en las ovejas inoculadas experimentalmente, indican cierta afinidad del parásito por órganos determinados. Esta afinidad puede relacionarse directamente con el hecho de que los órganos que aparecen parasitados con menor frecuencia (esófago y diafragma), son los que parasitan las especies productoras de macroquistes. Este hecho podría ser consecuencia de una adaptación evolutiva de especies productoras de microquistes a habitats (lengua y corazón) dentro del hospedador intermediario que le son más propicios para su desarrollo, frente a otras localizaciones (esófago y diafragma) en las que especies productoras de macroquistes han podido crear una inmunidad local, que dadas las reacciones cruzadas que se sabe existen entre las especies, hacen que estos habitats les sean más desfavorables. Esta conclusión está de acuerdo con la competición observada entre parásitos que colonizan un mismo habitat y la regulación inmunológica de ambas poblaciones parasitarias (176).

Aunque no hemos encontrado otros trabajos donde se compare la incidencia de parasitación de cuatro órganos distintos dentro del mismo animal por especies productoras de microquistes, los datos obtenidos por Dubey y col. (141) y Martínez Moreno y col. (9) donde sólo se compara lengua ó corazón con esófago y diafragma, concuerdan con los nuestros.

En la observación visual de esófagos y diafrágmata, se ha comprobado que los macroquistes encontrados en los esófagos, tenían una estructura y morfología muy distinta a los hallados en el diafragma. Estos datos visuales, que concuerdan con la macroestructura de los quistes observados en esófagos y diafrágmata por Martínez Moreno y col. (9), nos

permiten describir los macroquistes del esófago como más alargados y globulares que los del diafragma, cuya apariencia era muy aplanada y de tamaño mucho mayor a pesar del gran tamaño de muchos de los quistes esofágicos, pudiendo corresponderse con parasitaciones de S. gigantea en el caso del esófago y de S. medusiformis en el caso del diafragma, aunque sólo el estudio estructural de la pared de estos quistes permitiría confirmar éste hecho.

En el estudio de la correlación entre parasitación por microquistes y edad del animal, se han obtenido datos similares a los hallados por otros autores en nuestro país, si exceptuamos los animales menores de un año de edad, en los que hemos encontrado una positividad (13,1%) muy por debajo de la descrita por otros autores para corderas (9, 162), debido a que en nuestro caso el 42,85% de las muestras pertenecían a animales con una edad máxima de un mes, y por lo tanto no habían tenido posibilidad de presentar microquistes desarrollados.

En cuanto al 28% de parasitación por macroquistes, hay que aclarar que de los 200 esófagos analizados, 176 eran de ovejas mayores de 4 años, 10 pertenecían a animales de 1 a 3 años, 8 pertenecían a ovejas entre 1 y 12 meses y 6 a corderos que no habían alcanzado el mes de edad, perteneciendo todos los esófagos en los que se observaron macroquistes a ovejas mayores de 4 años. Al igual que en el caso anterior el porcentaje de parasitación obtenido está más o menos próximo a los porcentajes obtenidos por otros autores (6, 7, 8, 10).

Estos resultados confirman la relación existente entre parasitación por macro y microquistes y edad del animal, hecho ya mencionado en otros estudios, sin embargo es importante recalcar lo que a nivel epidemiológico significan éstos datos. Si tenemos en cuenta que el porcentaje de ovinos parasitados por microquistes de Sarcocystis a los 2 años de edad es superior al 90%, consideramos sigue siendo una práctica totalmente habitual alimentar a los perros con las ovejas que mueren en los rebaños. Esta práctica además de permitir el mantenimiento del ciclo de Sarcocystis, que como se verá en la parte experimental puede ocasionar pérdidas a nivel de producción ovina, permite el mantenimiento de ciclos parasitarios de cestodos (Equinococcus granulosus) de gran importancia zoonótica.

Atendiendo a la localización geográfica, la incidencia para las distintas provincias en orden decreciente ha sido Cáceres (100%), Guadalajara (98,87%), Segovia (89,47%), Valladolid (73,91%) y Madrid (59,37%). Sin embargo, hay que señalar que en la provincia de Guadalajara, exceptuando 10 muestras de Marchamalo, las restantes pertenecían a animales mayores de 4 años, debido a que, como ya hemos mencionado, fueron recogidas en el matadero municipal de esta localidad, donde no fue posible conseguir sueros de animales de menor edad. Estos resultados son muy similares a los encontrados en

la bibliografía para otras zonas geográficas (6, 8, 10) y aportan nuevos datos sobre zonas de nuestro país hasta ahora no muestreadas. Estos datos confirman la alta resistencia de los esporoquistes a condiciones ambientales como la temperatura y la humedad tan distintas en las zonas norte y sur de España.

Si comparamos los resultados obtenidos para microquistes por digestión muscular e IFI, un 92,31% de las muestras negativas lo eran por ambas técnicas, lo que nos asegura una buena especificidad para la utilización de éste test serológico en el diagnóstico de la enfermedad, mientras que un 98,88% de las muestras positivas lo eran por ambas técnicas lo que asegura así mismo una buena sensibilidad de la IFI apuntada ya por otros autores (162); siendo la eficacia obtenida mediante IFI (porcentaje de resultados correctos) del 98,5%.

El 1,12% de resultados discordantes (IFI positiva y necropsia negativa), lo atribuimos a sueros en los que se detectan anticuerpos debidos a un estímulo antigénico demasiado reciente, que no ha dado tiempo al desarrollo de los quistes a nivel muscular. A éste respecto hay que señalar que en las ovejas inoculadas experimentalmente el título de anticuerpos empezó a subir entre los 21 a 28 d.p.i. cuando aún no se han desarrollado los quistes musculares.

Los resultados de sensibilidad, especificidad y eficacia, que se han obtenido con la IFI, al compararla con la digestión muscular, nos permiten aconsejarla como método de diagnóstico a elegir en encuestas serológicas, ya que permite procesar gran número de muestras en un corto espacio de tiempo.

Todos los sueros de animales que presentaban macroquistes fueron positivos. Sin embargo hay que recalcar que estos mismos animales también tenían microquistes, por lo que no podemos saber si la sensibilidad del 100% obtenida en este caso, viene determinada únicamente por la presencia de especies productoras de macroquistes, habiéndose encontrado en otros estudios sensibilidades menores cuando se relaciona la presencia de macroquistes con test serológicos (162).

## 6.2. PATOGENIA

### 6.2.1. HOSPEDADOR DEFINITIVO

La infestación del hospedador definitivo con gran número de quistes musculares no produjo sintomatología clínica alguna durante el periodo de tiempo que duró la experiencia.

Nuestros resultados confirman un periodo de prepatencia de 11 días para especies productoras de microquistes en el hospedador definitivo, lo que está de acuerdo con el periodo de prepatencia descrito en el perro para S. tenella (41, 63, 64, 68, 80), y para S. arieticanis (64). De igual forma se confirman en nuestro estudio los largos periodos de patencia descritos en la bibliografía, si bien a los 30 días de

eliminación de esporoquistes, el número de formas infestivas descendía considerablemente respecto al pico máximo, eliminándose en este momento 5.840 esporoquistes por gramo de heces.

La longitud y anchura medias de  $13,30 \pm 0,35 \times 9,01 \pm 0,26$  micras obtenidas para los esporoquistes coinciden igualmente con los datos bibliográficos en líneas generales. Los trabajos de Heydorn y Karaer (62) y de Heydorn (64) en los que utilizan inóculos supuestamente puros de S. ovicanis (S. tenella) y S. arieticanis para reproducir los ciclos biológicos en ambos hospedadores, ponen de manifiesto que los esporoquistes de S. tenella miden  $12,8-15,0 \times 9-9,8$  micras, mientras que estas mismas medidas para S. arieticanis son  $15,0-16,5 \times 9,8-10,5$  micras. Según estos datos, los esporoquistes que nosotros obtuvimos de las heces del perro, únicamente pertenecerían a S. tenella. Dado que los quistes que estas especies produjeron en el hospedador intermediario pertenecían, a juzgar por la estructura de la pared a S. tenella y S. arieticanis, y como consecuencia los esporoquistes eliminados por el perro también, nuestros datos no confirman los dados por Heydorn (64) y Heydorn y Karaer (62).

## 6.2.2. HOSPEDADOR INTERMEDIARIO

### 6.2.2.1. DESARROLLO DE LA GESTACION

Uno de los objetivos prioritarios de ésta tesis, fué el estudio de la relación existente entre la infestación por Sarcocystis y el desarrollo de la gestación. Para ello se inocularon ovejas preñadas en distintos momentos del proceso gestante. Con el fin de que nuestros resultados pudieran aclarar lo que ocurre con éste parásito en la naturaleza, realizamos las inoculaciones experimentales en ovejas adultas, que habían tenido a lo largo de su vida un manejo propio de cualquier rebaño de nuestro país, a pesar de pertenecer a una granja experimental. Debido a esto y antes de la inoculación, 14 de las 18 ovejas (77%) resultaron seropositivas a Sarcocystis.

En ninguna de las 18 ovejas preñadas se produjeron abortos. Esta ausencia de abortos encontrada en nuestra experiencia, utilizando dosis de 50.000 y 100.000 esporoquistes, junto al hecho de que no se observara, toxemia de la preñez, ni mortalidad perinatal como otros autores han descrito (81, 127, 128), ni tampoco nacimiento prematuro de corderos a juzgar por el periodo de gestación descrito en la bibliografía para la oveja de raza manchega (177), pensamos se debe a la resistencia causada por uno ó varios contactos previos con el parásito, resistencia observada por otros autores en ovejas vacías (81, 155). Estos datos son contrarios a los obtenidos por Leek y Fayer (104) cuando realizan infestaciones experimentales en ovejas adultas, con dosis de inóculo similares. Sin embargo, éstos

autores no mencionan si las ovejas utilizadas en su trabajo habian tenido ó no contacto con el parásito antes de la inoculación. La falta de abortos observada en nuestro estudio concuerda, por el contrario, con los resultados obtenidos por otros autores en los que no se produjeron abortos en ovejas preñadas, inoculadas con dosis de 60.000 esporoquistes, ni en ovejas alimentadas en pastos altamente contaminados (115, 126).

Esta misma ausencia de manifestaciones clínicas, en 4 ovejas en las que no se detectaron anticuerpos pre-inoculación, y de las cuales 2 (dos años de edad) se inocularon con 50.000 esporoquistes y las otras dos (de 2 y 5 años) con 100.000, creemos se debe a la edad de los animales, ya que la sintomatología clínica observada en condiciones experimentales en el hospedador intermediario es mayor cuanto más joven es el animal, y cuanto mayor es la dosis de inóculo (81).

A pesar de que se ha descrito una homología total, en patrones electroforéticos y en cuanto a isoenzimas, para dos aislados de S. gigantea obtenidos en U.S.A. y Australia (55), la ausencia de manifestaciones clínicas tanto en animales seropositivos como seronegativos antes de la inoculación, podría explicarse también por la existencia de variaciones intraespecíficas parasitarias, que determinen distintas patologías en el hospedador intermediario. Esto concordaría con las variaciones intraespecíficas observadas en otros parásitos, basadas en la necesidad de una compatibilidad fisiológica entre parásito y hospedador (178).

Es importante resaltar las diferencias encontradas en el peso de los corderos al nacimiento entre el grupo control y el de ovejas inoculadas. Los pesos de los corderos nacidos de tres de las ovejas inoculadas a los 2 meses y medio de gestación (números 10, 90 y 91) y un cordero nacido de una de las ovejas inoculadas al mes y medio de quedar cubierta (número 87) fueron los más bajos, estando muy por debajo de la media del peso obtenido para el grupo control. Según estos datos, el efecto de la infestación sobre el desarrollo del feto es más manifiesto cuando la oveja entra en contacto con el parásito hacia la mitad de la preñez, mientras que los pesos de los corderos nacidos de las ovejas inoculadas casi al cuarto mes de gestación, no parecen sufrir alteraciones, naciendo los corderos con pesos medios muy similares ó superiores al grupo control.

Del análisis de éstos datos se deduce que la disminución de peso observada es independiente de la dosis de inóculo, ya que el peso medio de todos los corderos nacidos de ovejas inoculadas con 50.000 esporoquistes (3,59 kg), independientemente del momento de inoculación, fué similar al de los corderos nacidos de madres inoculadas con 100.000 esporoquistes (3,70 kg), siendo ambos valores inferiores al grupo control. Disminuciones similares de peso han sido descritas por otros autores (81, 115).

El contacto previo de las madres con el parásito, no parece condicionar un aumento importante en el peso de los corderos nacidos de éstas ovejas, como se deduce de la comparación de las medias de los pesos de los corderos nacidos de madres seropositivas (3,76 kg) y seronegativas (3,25 kg) antes de la inoculación.

Este dato junto con el anterior reflejan la importancia de la parasitación por Sarcocystis a nivel de producción ovina, ya que si bien no se ha observado en éste estudio, abortos ó nacimiento de fetos muertos, la pérdida de peso al nacimiento de los corderos persiste después del primer contacto hospedador-parásito, siendo de igual magnitud con dosis de inóculo consideradas como subclínicas. Estas pérdidas en peso, con graves repercusiones económicas, pasarán además inadvertidas debido a la ausencia de sintomatología clínica en las madres.

#### 6.2.2.2. HEMATOLOGIA

Aunque hay gran cantidad de estudios sobre las alteraciones que a nivel hemático producen éstas parasitosis en el hospedador intermediario, son más escasas las citas bibliográficas que hacen referencia a ovejas preñadas, sin que en ninguna de ellas se haya estudiado si el momento de inoculación a lo largo del proceso gestante influye en las alteraciones que a nivel hemático produce el parásito en las ovejas preñadas. Por ello, otro de nuestros objetivos ha sido determinar si las alteraciones fisiopatológicas, descritas en la bibliografía en infestaciones experimentales, son comparables a las alteraciones que se producen cuando el animal inoculado ha tenido contacto previo con el parásito, y si existe correlación ó no entre la intensidad de los síntomas clínicos y el momento de inoculación, cuando ésta se realiza a lo largo del proceso gestante.

A partir de los datos obtenidos para las cuatro constantes hemáticas estudiadas, se comprueba que la infestación causada por dosis de 50.000 y 100.000 esporoquistes de Sarcocystis en ovejas preñadas, produce una sintomatología clínica menor de la que generalmente se ha descrito en la oveja, que corrobora la ausencia de abortos observada en estos animales.

Los parámetros mas alterados por el desarrollo de la segunda generación de esquizontes son el número de eritrocitos y el hematocrito, correlacionándose en la mayoría de los casos la dosis infestiva y el desarrollo de la anemia.

El hecho de haber inoculado en tres momentos distintos a lo largo de la gestación, nos ha permitido observar que la disminución del número de hematies aparece más tempranamente a medida que las ovejas se infestan en estadios gestantes mas avanzados. Así mientras en el grupo 3 los recuentos de eritrocitos respecto del grupo control son muy inferiores en la primera s.p.i., en el grupo 2 se alcanzan valores anémicos entre las 2-3 s.p.i. y en el grupo 1 los recuentos de

glóbulos rojos están por debajo de 8,72 millones a las 6 s.p.i., aunque el descenso respecto del grupo control es anterior. Este hecho pensamos está relacionado con el desarrollo de las distintas fases parasitarias, de forma que en el grupo 3 el descenso del número de eritrocitos observado en la primera s.p.i., estaría causado por el desarrollo de la primera generación de esquizontes, mientras que en los grupos 1 y 2 éste descenso lo originaría la segunda generación de esquizontes. Esto demuestra que la primera generación de esquizontes que hasta ahora no se ha considerado productora de patología grave, puede serlo dependiendo del estado fisiológico del animal, lo que concuerda con las alteraciones y síntomas clínicos observados por Dubey (102, 179) tanto en ovino como en caprino, durante el desarrollo de ésta primera generación de esquizontes.

El por qué ésta primera generación de esquizontes es capaz de alterar el número de eritrocitos de ovejas inoculadas al final de la gestación y no de animales inoculados al principio ó a la mitad de la preñez, creemos se debe a la inmunodepresión pre-parto, que se asocia a una reducción general e inespecífica de la respuesta proliferativa de los linfocitos T y B a distintos mitógenos (180).

En el grupo control se observa, un descenso del número de hematies, 9 semanas después del inicio de la toma de muestras (segunda semana de marzo). Sin embargo los valores obtenidos para éste grupo a lo largo de toda la experiencia se mantienen siempre por encima de los 8 millones de células. Este descenso, que se observa también en el grupo 3, grupo aún no inoculado en éste momento, podría deberse a los cambios fisiológicos experimentados en el animal durante el periodo gestante, que quedaría enmascarado en los grupos 1 y 2 por el descenso de hematies debido a la infestación.

El descenso observado del valor hematocrito (entre un 2,34% a un 6% según los distintos subgrupos), junto con el descenso del número de eritrocitos, y variaciones menos acusadas del número de leucocitos y del valor de hemoglobina, respecto al grupo control y a valores considerados como normales para ovejas preñadas estabuladas (181), nos sugiere al igual que en el apartado anterior, que la patología desarrollada por microquistes de Sarcocystis en ovejas gestantes no produce cuadros clínicos de anemia severa, cuando las ovejas han tenido contacto previo con el parásito ó si son mayores de dos años. Estos datos nos parecen de gran importancia dada la confusión existente en la bibliografía de Sarcocystis sobre éste tema, en la que se observa que los cuadros clínicos agudos, y las alteraciones hemáticas descritas son fácilmente detectables cuando se inoculan animales de corta edad con grandes dosis de esporoquistes (85, 95), pero hay gran discrepancia en los resultados hemáticos obtenidos cuando las inoculaciones se hacen en animales gestantes de más de un año, con dosis consideradas

comp productoras de sintomatologías clínicas ó subclínicas (104, 115, 126, 182). Una explicación de ésta discrepancia de resultados, sería que en la mayoría de los trabajos no se ha controlado la posibilidad de contacto con el parásito antes de la inoculación, y por lo tanto los datos clínicos que los autores achacan a una infestación primaria probablemente no lo sean, dada la alta prevalencia de parasitación.

Una segunda explicación, ya mencionada en el apartado 6.2.2.1., que no excluye la anterior, sería el hecho de que las especies españolas que se han estudiado de Sarcocystis productoras de microquistes, sean menos patógenas que especies de otros continentes, debido a variaciones evolutivas intraespecíficas.

Los datos obtenidos del VCM, HCM y CCMH hacen que clasifiquemos la anemia originada a lo largo de la experiencia como normocrómica y normocítica de la tercera a la octava s.p.i. en el grupo 1, de la tercera a la quinta s.p.i. en el grupo 2 y de la segunda a la quinta s.p.i. en el grupo 3. Estos resultados corroboran en líneas generales los encontrados en la bibliografía (108, 120, 121).

Valores de anemias macrocíticas normocrómicas se han obtenido durante la 9 s.p.i. en el subgrupo 1-A, la 10 s.p.i. en el subgrupo 1-B y la 6, 7 y 8 s.p.i. en el grupo 2, si consideramos que los valores del VCM en éstos momentos eran hasta 10 veces superiores a los del grupo control. Sin embargo si atendemos a los intervalos que la bibliografía da como normales para éste índice hemático (183) en ningún momento nuestros resultados han sido superiores a 50 micras cúbicas.

En ocasiones puntuales se ha observado también un aumento del CCMH; sin embargo, no definimos en estos casos anemias hiperocrómicas, debido a que se afirma que no es posible un verdadero estado de hiperchromia (183).

El aumento del VCM que condiciona la anemia macrocítica detectada en la fase de maduración de los quistes en el grupo 1 (primera y segunda semana de abril) y en grupo 2 (de la primera a la cuarta semana de abril) es de tipo transitorio, recuperándose los valores normales poco después, lo que concuerda con la disminución observada en el número de eritrocitos y hematocrito, siendo la liberación en la sangre de eritrocitos inmaduros (reticulocitos), con un alto contenido de hemoglobina, la causa directa del aumento del VCM.

El hecho de que no se hayan encontrado valores del CCMH por debajo de los normales indica que no ha habido hemoglobinemia durante la fase vascular de la parasitación, lo que corrobora los datos encontrados por otros autores (122, 127, 182, 184, 185).

### 6.2.2.3. SEROLOGIA

#### 6.2.2.3.1. PROTEINAS Y PROTEINOGRAMA

Los valores de proteína total que hemos encontrado en nuestra experiencia, son algo inferiores a los descritos en la bibliografía para ovejas preñadas estabuladas<sup>0</sup> ( $8,33 \pm 0,20$ ) (181), sin embargo no se observan diferencias respecto al grupo control, que presenta unos valores dentro del rango considerado como normal en ovejas sanas (186), ó en ovejas con infestaciones parasitarias ligeras (187).

El descenso del valor de proteína total, descrito para varios hospedadores intermediarios, durante el desarrollo de la anemia, por otros autores (120, 122, 188), no se ha detectado en nuestro estudio. Sin embargo el que el valor de proteína total se haya mantenido estable concuerda con las alteraciones hemáticas que hemos encontrado, de forma que la pérdida de sangre producida por el parásito, puede detectarse a nivel de constantes como las hemáticas, directamente relacionadas con la patología producida por el parásito, pero no hay alteración de constantes como las séricas ó plasmáticas, que guardan una relación menos directa con el daño parasitario.

Si se han encontrado diferencias en el valor del cociente A/G respecto del grupo control y de los valores considerados como normales ( $0,95$   $1,50$ ) (181), que se hacen mas patentes en los subgrupos que recibieron mayor número de esporoquistes. Estas diferencias son consecuencia directa de los cambios que experimentan las fracciones de la albúmina y la gamma-globulina.

Las concentraciones de albúmina obtenidas en nuestra experiencia se reducen considerablemente a partir de las 4-5 s.p.i. en todos los grupos inoculados. Esta reducción se mantiene al menos durante 6 semanas, por lo que no puede explicarse, al menos totalmente, como resultado de las hemorragias producidas por la segunda generación de esquizontes, lo que se confirma además por otros dos hechos; no hay reducción paralela de las globulinas y no hay alteraciones de los valores hemáticos tan importantes como para explicar el descenso de albúmina. Por todo ello pensamos que la reducción de los valores de albúmina reflejan un cambio compensatorio del aumento de la fracción gamma globulina (189), aumento que es paralelo en todos los casos al descenso de la albúmina. Por otra parte hay que señalar que el inicio del aumento de las gamma-globulinas del suero que ocurre a las 4 s.p.i. en los tres grupos de ovejas inoculadas, se corresponde con la elevación del título de anticuerpos que comienza entre las 2 a 4 s.p.i.

De éstos datos se deduce que dosis de inóculo como las utilizadas en éste estudio, administradas a ovejas adultas, que han tenido contacto previo con el parásito, no producen alteraciones graves del valor de proteína total, detectándose la parasitación únicamente por un aumento importante de las

gamma-globulinas, que fisiológicamente se ve compensado por un descenso de albúmina, lo que hace que se modifique el cociente A/G.

No se han encontrado variaciones respecto al grupo control, en lo que se refiere a las globulinas alfa y beta, manteniéndose ambos valores, de  $12,27 \pm 1,06$  para alfa y  $10,63 \pm 0,80$  para beta, dentro de los límites considerados como normales en ovejas gestantes (181), lo que corrobora los datos obtenidos por otros autores en terneros (190).

#### 6.2.2.3.2. PARAMETROS BIOQUIMICOS

##### A - ENZIMAS

En nuestro estudio no se ha encontrado elevación de los niveles de GOT durante la fase esquizogónica en los grupos experimentales 1 y 2. Sin embargo, la actividad sérica de ésta enzima, que empieza a aumentar a los dos m.p.i., es mucho mayor en estos grupos respecto del control durante el tercer m.p.i., en el que los valores máximos llegan casi a triplicarse (subgrupo 1-B) respecto al grupo control. Esta elevación pensamos es consecuencia del desarrollo de los quistes en las fibras musculares, que no se completa hasta el tercer m.p.i. Cambios similares para ésta enzima han sido descritos en ovinos por Phillips y Ford (120) y Leek y Fayer (118).

El que en estos grupos no se haya detectado elevación en suero de GOT durante la esquizogonía, coincide con el hecho de que en nuestros animales no se haya producido una crisis anémica importante, y pensamos se debe a que el daño tisular, sobre todo a nivel de miocardio, que originan los esquizontes, no fué de intensidad suficiente para producir una liberación celular de GOT capaz de detectarse en suero.

El grupo 3 es el que presenta niveles séricos mas altos de ésta enzima. Esta elevación se presenta la segunda s.p.i. y únicamente en el subgrupo inoculado con la dosis mayor, al contrario de lo que ocurre en los grupos 1 y 2, obteniéndose un valor máximo de 123,96 U.I. frente a 43,79 del grupo control a la septima s.p.i. Este hecho coincide con el rápido descenso del número de eritrocitos observado en éste subgrupo desde la primera s.p.i., y posiblemente también con que en éste subgrupo a partir de la tercera s.p.i. los valores obtenidos pertenecen únicamente a un animal, lo que condiciona la obtención de medias que compensen alteraciones individuales no parasitarias. No obstante pensamos que ya que en la segunda y tercera s.p.i. el aumento de éste parámetro es claro en las dos ovejas que forman el subgrupo, la elevación de GOT puede deberse, al menos en una buena parte, a las fases esquizogónicas. Como ya hemos mencionado en otros apartados, achacamos a la inmunodepresión pre-parto y a la dosis de inóculo mayor, el que se obtengan signos clinicos más manifiestos en éste subgrupo.

Al igual que ocurre con la GOT, la LDH no se ha visto

incrementada durante la fase esquizogónica en los grupos 1 y 2. Sin embargo hay un aumento de actividad enzimática en los subgrupos inoculados con la dosis mas alta a partir de la décima s.p.i., manteniéndose la LDH por encima de los valores del grupo control durante cuatro semanas más en el subgrupo 1-A. Aunque esta elevación no es muy manifiesta, se corresponde en parte con el aumento detectado de la GOT, y con el desarrollo de los quistes en la fibra muscular.

En el subgrupo 3-B se observa también una correlación entre la elevación de la GOT y la LDH durante la esquizogonia respecto al grupo control, manteniéndose los valores elevados a las siete s.p.i. cuando termina la experiencia. La elevación de actividad sérica de LDH la explicamos de la misma forma que la de la GOT en éste subgrupo.

Los valores de FA pre-inoculación han sido siempre menores en el grupo control que en los grupos inoculados. Dado que la actividad de la FA de la oveja disminuye en el suero con la edad (191), es lógico que el grupo control (formado por ovejas de 5 y 6 años) presente los valores más bajos.

Este hecho fisiológico del hospedador intermediario hace que el descenso que se observa de FA post-inoculación en el grupo 1, quede en parte enmascarado, ya que los niveles enzimáticos pre-inoculación son mayores que los del grupo control. No obstante, hay un claro descenso del valor sérico de FA que comienza la tercera s.p.i. en el subgrupo 1-A y la primera s.p.i. en el 1-B, manteniéndose en ambos hasta la sexta s.p.i. Los valores pre-inoculación se alcanzan poco antes del final de la experiencia en el subgrupo 1-B únicamente.

En los grupos 2 y 3 se observa el mismo descenso, también a las 3 s.p.i., pero únicamente en los subgrupos inoculados con 100.000 esporoquistes. Esta disminución de actividad de FA corrobora los datos de Phillips y Ford (88, 120) obtenidos inoculando corderos con dosis bajas de esporoquistes.

Puesto que el descenso de FA es paralelo a las alteraciones hemáticas observadas, y al mismo tiempo las actividades de la GOT y la LDH disminuyen en general, aunque no de forma tan ostensible, en los grupos de ovejas inoculadas respecto al control, pensamos que las hemorragias producidas por el desarrollo de la segunda generación de esquizontes son las responsables de la disminución de actividad enzimática observada, recuperándose los niveles a medida que se resuelve la crisis anémica.

Queremos por último mencionar que la oveja número 16 que murió a los 139 días de gestación y 92 de inoculación, presentó la semana anterior a su muerte un valor de GOT de 187,69 U.I. y para FA de 5,46 U.I. Los valores medios del grupo control en ésta misma toma de muestras fueron de 34,62 U.I. y 28,79 U.I. respectivamente.

Como ya se ha mencionado en el apartado de resultados no

se pudo hacer la necropsia de éste animal; sin embargo, los análisis coprológicos que rutinariamente se hicieron a todas las ovejas a lo largo de la experiencia, no indicaron en ningún momento parasitaciones a las que se pudieran atribuir su muerte.

El aumento de la GOT comenzó a las 8 s.p.i., siendo éste valor el doble que el del grupo control, mientras que la disminución de FA comienza a las 2 s.p.i. con un valor de 15,3 U.I. frente a 31,28 U.I. del grupo control. A pesar de que ambas alteraciones se empiezan a detectar cuando ocurre el desarrollo de los quistes musculares en el caso de la G.O.T., y cuando se inicia el desarrollo de la segunda generación de esquizontes en el caso de la FA, no podemos atribuir la muerte de ésta oveja a Sarcocystis, ya que no se observan alteraciones importantes en parámetros hemáticos ni séricos. Además los últimos datos obtenidos de la oveja número 120, muerta a los 149 días de gestación y 32 de inoculación, no muestran alteraciones importantes de ninguno de los parámetros hemáticos o séricos estudiados.

#### **B - OTRAS DETERMINACIONES**

En nuestro estudio se observa un descenso generalizado desde el comienzo de la experiencia de los niveles de glucosa, tanto en el grupo control como en los grupos inoculados, en comparación con los valores descritos como normales en la oveja, que van de 36 a 60 mg/100ml (191), lo que concuerda con el hecho de que los animales estén gestantes y por lo tanto la demanda de carbohidratos será mayor a medida que el feto se desarrolla.

Independientemente de este descenso, no hemos detectado alteraciones significativas de hipo ó hiperglucemia que pudieran achacarse a Sarcocystis en los grupos de ovejas inoculadas, lo que concuerda con el hecho de que en nuestro estudio no se haya detectado anorexia en los animales, que para otros autores es la causa de la hipoglucemia observada en las inoculaciones experimentales con Sarcocystis (188).

Los niveles de BUN encontrados en nuestra experiencia para los grupos inoculados, se han mantenido siempre muy similares a los del grupo control. No se han detectado variaciones de este parámetro que se correspondan con la fase anémica de la enfermedad, y únicamente podemos hablar de una ligera azotemia hacia los 21 d.p.i. en el subgrupo 3-B, con un valor de 23,62 mg/100ml frente a 15,93 mg/100ml del grupo control. Estas ligeras variaciones pueden explicarse como resultado del aumento del catabolismo de proteínas, liberadas por la destrucción vascular de la segunda generación de esquizontes. Esta azotemia sería mínima al no haberse producido graves alteraciones a nivel hemático, por la inmunodepresión preparto ya mencionada en otros apartados.

Los niveles de calcio, que permanecen durante toda la experiencia algo mas bajos de lo normal, disminuyen en el subgrupo 1-B entre los 21 a 28 d.p.i. y en el grupo 3 de la

segunda a la quinta s.p.i.; sin embargo, se obtuvieron valores muy parecidos a estos en ovejas aún no inoculadas de otros grupos (grupos 2 y 3 respecto al grupo 1), ó en ovejas del mismo grupo antes de la inoculación (grupo 3), por lo que no podemos afirmar que la causa de la hipocalcemia sea de origen parasitario.

Los niveles de fósforo no han variado en los grupos de ovejas inoculados con Sarcocystis respecto al grupo control. Estos resultados corroboran los obtenidos por otros autores, que no encuentran variación en los niveles séricos de fósforo, cuando se realizan inoculaciones con altas dosis de esporoquistes (95, 123, 188).

El hecho de que los cuatro parámetros séricos estudiados (glucosa, BUN, calcio y fósforo) no se hayan visto alterados por la parasitación, podría interpretarse como que dosis de 50.000 y 100.000 esporoquistes no producen alteración de estas constantes séricas. Dado que esta interpretación es totalmente contraria a lo descrito en la mayoría de trabajos consultados (88, 95, 188), y que en estos trabajos se utilizan altas dosis de inóculo, administradas a animales de corta edad, que no han tenido contacto previo con el parásito, creemos que estos datos demuestran una vez mas que la resistencia que crea el hospedador frente al parásito, cuando ocurre la infestación primaria, hace que en la reinfestación disminuyan considerablemente las alteraciones fisiológicas que el parásito ocasiona, sin excluir el hecho de que las especies españolas de Sarcocystis productoras de microquistes puedan ser menos patógenas que las americanas ó las australianas, y ello contribuya a una alteración menor de estos parámetros séricos. Estas alteraciones sin embargo, no se reducen tanto en el caso de las enzimas séricas, lo que demuestra el poder patógeno del parásito cuando se desarrolla a nivel muscular. Estas alteraciones están mucho menos descritas probablemente por el hecho de ocurrir mas tardiamente (2 y 3 m.p.i.), lo que implica mantener los animales inoculados, sometidos a largos periodos experimentales, generalmente laboriosos y de alto coste.

#### 6.2.2.3.3. DESARROLLO DE ANTICUERPOS

En las ovejas seropositivas antes de la inoculación, empezó a detectarse elevación del título de anticuerpos, entre la primera (ovejas números 10, 40 y 100) y la cuarta s.p.i. (oveja 30), mientras que en las 4 ovejas en las que no se detectaron anticuerpos específicos anti-Sarcocystis pre-inoculación, el aumento de los niveles de inmunoglobulinas se detectó entre la cuarta y quinta s.p.i. Estos datos están de acuerdo con el desarrollo de anticuerpos que se origina en el curso de una infestación, en la que los niveles de inmunoglobulinas aumentan más lentamente en la respuesta primaria que en la secundaria, y confirman el hecho de que antes de la inoculación 14 de los 18 animales eran seropositivos. Así mismo los datos están de acuerdo con los

obtenidos por otros autores, cuando inoculan experimentalmente corderos ó terneros, mantenidos en recintos libres de esporoquistes (151, 152, 190).

Entre la 8 y 9 s.p.i. se alcanzan los títulos de anticuerpos mayores en ovejas seronegativas antes de la inoculación, mientras que en las seropositivas este máximo se alcanza unas dos semanas antes. Estos títulos se mantienen altos hasta el final de la experiencia, a los 4 m.p.i. para el grupo 1, lo que nos indica que la técnica de IFI permite hacer un diagnóstico fiable varios meses después de que ocurra la infestación de la oveja.

Estos resultados, que están en consonancia con los obtenidos por otros autores (151, 152, 155, 190), corroboran la interpretación dada en nuestro estudio, sobre la falta de signos clínicos observada en las ovejas inoculadas, en función de una resistencia en animales seropositivos antes de la inoculación, mientras que en las ovejas que no se detectaron anticuerpos específicos preinoculación, la falta de patología clínica únicamente podemos atribuirla a la resistencia inespecífica desarrollada en animales adultos, que han tenido contacto con gran cantidad de agentes patógenos y muy probablemente con otros protozoos relacionados, y a una posible atenuación de la patogenicidad de especies españolas debida a la variabilidad evolutiva intraespecífica.

El hecho de que un 77% de nuestros animales fueran positivos por IFI a Sarcocystis antes de empezar la experiencia, concuerda con la alta prevalencia de parasitación encontrada en animales de matadero y de rebaños (95% en animales de más de tres años de edad), si bien al haber permanecido los animales en una granja experimental esta prevalencia ha sido menor.

#### 6.2.2.4. DESARROLLO DE QUISTES MUSCULARES

Otro de nuestros objetivos, de gran interés dado los pocos datos que sobre ello se tienen en nuestro país, ha sido el comprobar mediante inoculaciones experimentales, si en la naturaleza las infestaciones originadas por Sarcocystis, productores de microquistes, se podían atribuir a dos especies distintas, para lo cual el inóculo infestivo del hospedador definitivo se obtuvo de una oveja infestada naturalmente.

El estudio histológico de los cortes que se hicieron de cuatro órganos distintos de las ovejas inoculadas experimentalmente, ha permitido observar una infestación mixta por las dos especies productoras de microquistes con ciclo perro-oveja, estas especies son S. tenella y S. arieticanis. Esta clasificación ha podido hacerse únicamente utilizando objetivo de inmersión, ya que a menores aumentos no era posible diferenciar la estructura de ambas paredes.

A los quistes que presentaron una gruesa pared, en la que fácilmente se observaban estructuras filamentosas

distribuidas perpendicularmente al quiste y a lo largo de todo él, se les denominó S. tenella, basandonos en las descripciones que otros autores han hecho de esta especie tanto al microscópio óptico como al electrónico (54, 58, 61, 192), mientras que a los quistes que no presentaban estas estructuras filamentosas y cuya pared era mucho más delgada que la anterior, se les clasificó como S. arieticanis, en base igualmente a las descripciones hechas por diversos autores (54, 59).

Estas dos especies las encuentran también Martínez Moreno y col. (9) y Simón y Ramajo (139) en nuestro país, coincidiendo con ambos, así como con otros autores extranjeros (54, 141) que la proporción de especies encontrada es bastante desigual (en nuestro caso 2,5) predominando S. tenella.

De los datos obtenidos sobre el coeficiente de correlación que existe entre número de quistes en cortes histológicos y número de cistozoitos/gr. de carne digerida se deduce, que la disgestión péptica nos da una idea correcta de la intensidad de la infestación que presenta el animal parasitado, lo que quiere decir que el número de cistozoitos por quiste cuando este está completamente desarrollado presenta pocas variaciones.

Al mismo tiempo la correlación obtenida entre número de quistes y número de cistozoitos, cuando se comparan los distintos órganos estudiados, nos indica que el resultado de la digestión de cualquiera de ellos, es un buen dato para conocer el número de quistes de ese órgano.

Los resultados obtenidos de parasitación de los distintos órganos corroboran los observados en la digestión de muestras de matadero, siendo la lengua el órgano más parasitado y siguiéndole en importancia el corazón, esófago y diafragma. Esta parasitación indica además de lo expuesto en el punto 6.1., que la selectividad sobre el número de quistes que se desarrollan en cada órgano se produce no solo en la infestación primaria sino en reinfestaciones sucesivas, por lo que a la hora de realizar digestión muscular ó compresión en placas de vidrio para investigar la parasitación por microquistes de Sarcocystis en ovejas muertas, debe ser la lengua el órgano de elección ya que es el que presenta mayor frecuencia de parasitación.

## **7. CONCLUSIONES**

## 7. CONCLUSIONES

1. La parasitación por Sarcocystis, productores de microquistes, en áreas españolas hasta ahora no muestreadas, presenta una prevalencia tan alta como la descrita en otras localizaciones geográficas de nuestro país.
2. La parasitación por microquistes de Sarcocystis en el hospedador intermediario es más frecuente en lengua y corazón que en otros órganos susceptibles de ser parasitados por especies productoras de macroquistes, como el esófago y el diafragma.
3. La parasitación por microquistes de Sarcocystis en nuestro país, se debe tanto a S. tenella como a S. arieticanis, si bien S. tenella es la especie que presenta una intensidad de parasitación mayor en el hospedador intermediario.
4. La alta correlación encontrada entre digestión muscular e IFI, permite utilizar esta técnica inmunológica en el diagnóstico de la sarcocistosis natural en ovinos.
5. Ovejas adultas infestadas naturalmente, e inoculadas experimentalmente con dosis de 50.000 y 100.000 esporoquistes productores de microquistes, no desarrollan las patologías clínicas descritas en corderos inoculados con dosis iguales ó superiores.
6. La parasitación por Sarcocystis, en ovejas mantenidas en condiciones naturales y con contacto previo con el parásito, inoculadas con dosis de 50.000 y 100.000 esporoquistes, no producen alteraciones en el proceso de la gestación, tanto si la infestación experimental se realiza al principio, a la mitad ó al final de la preñez.
7. Los corderos nacidos de ovejas inoculadas con 50.000 y 100.000 microquistes de Sarcocystis, experimentan una reducción importante de su peso al nacimiento, cuando la infestación se produce en la primera mitad de la gestación.
8. Dosis de inóculo de 50.000 y 100.000 esporoquistes administradas a ovejas gestantes, seropositivas en su mayoría frente a Sarcocystis, no producen alteraciones fisiológicas de carácter clínico de los valores hemáticos ni de parámetros bioquímicos.



## 8. BIBLIOGRAFIA

## 8. BIBLIOGRAFIA

1. PEREZ MARCOS, C.; 1.986. El ganado ovino talaverano: Situación actual. XI Jornadas Cientificas de la Asoc. Espa. de Ovino. y Caprino., Palencia: 223-238.
2. SELA-PEREZ, M. C.; 1979. Ciclo biológico de Sarcocystis gigantea Railliet (1.886) Ashford 1.977. Rev. Iber. Parasitol., 39: 601-610.
3. HERNANDEZ RODRIGUEZ, S.; NAVARRETE, I.; MARTINEZ GOMEZ, F.; 1.981. Sarcocystis cervicanis, nueva especie parásita del ciervo (Cervus elephus). Rev. Iber. Parasitol., 41: 43-51.
4. HERNANDEZ RODRIGUEZ, S.; MARTINEZ GOMEZ, E.; NAVARRETE, I.; COSTA, I.; 1981. Estudio al microscopio óptico y electrónico del quiste de Sarcocystis cervicanis. Rev. Iber. Parasitol., 41: 351-361.
5. SELA-PEREZ, M.C.; MARTINEZ-FERNANDEZ, A. R.; ARIAS, M. C.; ARES, M. E.; 1.982. Ultraestructura de Sarcocystis muris (Blanchard, 1.885) Labb'e 1.889. Rev. Iber. Parasitol., 42: 9-19.
6. PEREZ GARRO, M. C.; GONZALEZ CASTRO, J.; 1.970. Sarcocystis tenella, Railliet, 1.886: Recientes adquisiciones sobre su morfología y estructura. Frecuencia de la sarcosporidiosis en el ganado ovino de Granada. Rev. Iber. Parasitol, 30: 719-723.
7. DIEZ BAÑOS, P.; 1.977. Sobre la prevalencia de la sarcosporidiosis ovina en la provincia de León, con un estudio comparativo de diversos métodos diagnósticos. Tesis doctoral, León.
8. SANCHEZ-ACEDO, C.; LUCIENTES, J.; GUTIERREZ, J.; CASTILLO, J. A.; ESTRADA, A.; GARCIA, A.; 1983. Incidencia de la sarcosporidiosis en animales de abasto del matadero de Zaragoza. Rev. Iber. Parasitol., 43: 341-346.
9. MARTINEZ MORENO, A.; MARTINEZ CRUZ, M. S.; BECERRA, C.; GUERRA ZAMORA, M. J.; 1987. Sarcocistosis ovina en la provincia de Córdoba. V. Congr. Nac. Parasitol, Salamanca: 119-120.
10. PEREIRA, A.; BERMEJO, M.; 1988. Prevalence of Sarcocystis in pigs and sheep in Spain. Vet. Parasit. 27: 353-355.

11. MIESCHER, F.; 1843. Über eigenthumliche schlauche in den muskeln einer hausmaus. Bericht Verhandlungen Naturforschenden Gesellschaft, 5: 198-202.
12. KUHN, J.; 1865. Untersuchungen über die trichinenkrankheit der schweine. Mittheilungen des Laudwirthschaftlichen. Institutes der Universität der Halle: 1-84.
13. LEISERUNG, W.; 1866. Psorospermeinkranheit beim schafe. Archiv. F. Pathol. Anato. Virchow, 37: 431.
14. LEUCKART, R.; 1.879. Die parasiten des menschen. 2<sup>nd</sup> Ed., G.F. Winter Ed., Leipzig, Germany.
15. BURSCHLI, O.; 1882. Protozoa. Bronn's Klassen und Ordnungen des Thier-Reichs, 1: 326-616.
16. BALBIANI, G.; 1.882. Les sporozoaires. J. Micrograph. Paris, 6: 80-89.
17. LANKASTER, E.R.; 1882. On drepanidium ranarum the cell parasite or the frog's blood and spleen. Quartely Microsc. Scien., 22: 53-65.
18. WENYON, C.M.; 1.926. Protozoology, vol. 2, Willian Wood Ed., New York.
19. KUDO, R.R.; 1931. Handbook of protozoology. Thomas Springfield Ed., Illinois.
20. SPINDLER, L.A.; 1.947. A note on the fungoid nature of certain internal structures of Miescher's sacs (Sarcocystis) from a naturally infected sheep and a naturally infected duck. Proc. Helmin. Soc. Wash., 14: 28-30.
21. GRASSE, P.P.; 1.953. Classe des sarcosporidies. Sarcosporidia butschli, 1.882. In trait'e de Zoologie, P. P. Grassé Ed. 1: 907-917.
22. REICHENOW, E.; 1.953. Lehrbuch den protozoenkunde 6<sup>th</sup> Ed., Fischer Ed., Jena, Germany.
23. STILES, C.W.; 1.891. Note preliminaire sur quelques parasites. Bulletin de la Societe de Zoologie de France. 16: 163.
24. LUDVIK, J.; 1.960. The electron microscopy of Sarcocystis mischeriana Kuhn 1.865. J. Protozool., 7:128-13.

25. LUDVIK, J.; 1.958. Elektronenoptische befunde zur morphologie der sarcosporidien. Zbl., Bak., Hyg. Abtei. I., 172: 330-350.
26. SCHOLTYSECK, E.; PIEKARSKI, G.; 1.965. Elektronen mikroskopische untersuchungen an merozoiten von Eimerien (E. perforans und E. stiedae) und Toxoplasma gondii. Zur systematischen stellung von T.gondii. Z. Parasitenkd. 26: 91-115.
27. MANWELL, R.D.; DROBECK, H.P.; 1.953. The behaviour of Toxoplasma with notes on its taxonomic status. J. Parasitol., 39: 577-584.
28. LEVINE, N.D.; 1.970. Taxonomy of the Sporozoa. J. Parasitol. 56: 208-209.
29. SCHOLTYSECK, E.; MEHLHORN, H.; MULLER, B.E.; 1974. Feinstruktur der cyste und der cystenwand von Sarcocystis tenella, Besnoitia jellisoni, Frenkelia sp und Toxoplasma gondii. J. Protozool., 21: 284-294.
30. LEGER, L.; 1.911. Caryospora simplex, coccidie monosporee et la classification des coccidies. Archiv. Protistenkunde 22: 71-86.
31. LEVINE, N. D.; 1.986. The toxonomy of Sarcocystis (Protozoa, Apicomplexa) species. J. Parasitol., 72: 372-382.
32. FAYER, R.; 1.972. Gamogony of Sarcocystis sp in cell culture. Science, 175: 65-67.
33. ROMMEL, M.; HEYDORN, A. O.; GRUBER, F.; 1972. Beitrage zum lebenszyklus der sarkosporidien. I. Die sporocyste voon Sarcocystis tenella in den fazes der katze. Berlin. Munch. Tierarztl. Wochen., 85: 101-105.
34. HEYDORN, A. O.; ROMMEL, M; 1.972. Beitrage zum lebenszyklus der sarkosporidien. II. Hund und katze als ubertrager der sarkosporidien des rindes. Berlin. Munch. Tierarztl. Wochen., 85: 121-123.
35. HEYDRON, A.O.; ROMMEL, M.; 1.972. Beitrage zum lebenszyklus der sarkosporidien. IV. Entwicklungsstadien von S. fusiformis in der dunndarmschleimhaut der katze. Berlin. Munch. Tierarztl. Wochen., 85: 333-336.
36. ROMMEL, M.; HEYDORN, A.O.; 1.972. Beitrage zum lebenszyklus der sarkosporidien. III. Isospora hominis (Railliet et Lucet, 1.891) Wenyon, 1.923, eine daverform der sarkosporidien des rindes und desschweins. Berl.

- Munch. Tierarztl. Wochen., 85: 143-145.
37. PITELKA, D. R. 1.963. Electron microscopic structure of Protozoa. MacMillan Ed., New York.
  38. FORD, G. E.; 1.974. Prey-Predator transmission in the epizootiology of ovine sarcosporidiosis. Aust. Vet. J. 50: 38-39.
  39. MUNDAY, B. L.; RICKARD, B. V.; 1.974. Is Sarcocystis tenella two species?. Aust. Vet. J. 50: 558-559.
  40. MEHLHORN, H.; HEYDORN, A.; 1.978. The Sarcosporidia (Protozoa, Sporozoa): Life cycle and fine structure. Adv. Parasitol., 16: 43-91.
  41. HEYDORN, A.; GESTRICH, R.; MEHLHORN, H.; ROMMEL, M.; 1.975. Proposal for a new nomenclature of the sarcosporidia. Zbl. Bakt. Hyg. Abtei. I, 48: 73-82.
  42. FRENKEL, J. K.; HEYDORN, A.O.; MEHLHORN, H.; ROMMEL, M.; 1.980. Clear communication or arbitrary ambiguity. Z. Parasitenkd., 62: 199-200.
  43. FRENKEL, J.K., MEHLHORN, H., HEYDORN, A.O.; 1.984. Protozoan nomina dubia: to arbitrary restrict or replace. The case of Sarcocystis spp. J. Parasitol., 70: 813-815.
  44. DUBEY, J.; 1.976. A review of Sarcocystis of domestic animals and of other coccidia of cats and dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc., 169: 1061-1078.
  45. COLLINS, G. H.; ATKINSON, E.; CHARLESTON, W.A.; 1.979. Studies on Sarcocystis species III. The macrocystic species of sheep. N.Z. Vet. J. 27: 204-206.
  46. MUNDAY, B.L.; OBENDORF, D.L.; 1.984. Development and growth of Sarcocystis gigantea in experimentally-infected sheep. Vet. Parasitol., 15: 203-211.
  47. KALYAKIN, V. N.; ZASUKHIN, D. N.; 1.975. Distribution of Sarcocystis (Protozoa: Sporozoa) in vertebrates. Fol. Parasitol., Praha, 22: 289-307.
  48. FRENKEL, J. K.; HEYDORN, A.O.; MEHLHORN, H.; ROMMEL, M.; 1.979. Sarcocystinae: Nomina dubia and available names. Z. Parasitenkd., 58: 115-139.
  49. SAHASRABUDHE, V. K.; SHAH, H.L.; 1.966. The occurrence of Sarcocystis sp in the dog. J. Protozool. 13: 531.

50. HILL, J.E.; CHAPMAN, W. L.; PRESTWOOD, A. K.; 1.988. Intramuscular Sarcocystis sp in two cats and a dog. J. Parasitol., 74: 724-727.
51. BLAGBURN, B.; BRAUND, K.; AMLING, A.; TONIO, M.; 1.989. Muscular Sarcocystis in a dog. Proc. Helmin. Soc. Wash., 56: 207-210.
52. FRIORI, M.G.; LOWNDES, H.E.; 1988. Histochemical study of Sarcocystis sp. intramuscular cysts in gastrocnemius and soleus of the cat. Parasitol. Res., 75: 123-131.
53. ATKINSON, E.M.; COLLINS, G.; 1.981. Electrophoretic studies on three enzymes from sarcocystis species in sheep. System. Parasitol., 2: 213-216.
54. O'DONOGHUE, P. J.; ADAMS, M.; DIXON, B.R.; FORD, G. E.; BAVERSTOCK, P.R.; 1.986. Morphological and biochemical correlates in the characterization of Sarcocystis spp. J. Protozool., 33: 114-121.
55. FORD, G.E.; FAYER, R.; ADAMS, M.; O'DONOGHUE, P. J.; DUBEY, P.; BAVERSTOCK, P. B.; 1.987. Genetic characterization by isoenzyme markers of north american and australian isolates of species of Sarcocystis (Protozoa: Apicomplexa) from mice, sheep, goats and cattle. Systematic Parasitol., 9: 163-167.
56. FORD, G.E.; 1986. Biochemical characterization for identification of ovine sarcosporidia. Austr. J. Biol. Sci., 39: 31-36.
57. TENTER, A. M.; JOHNSON, M. R.; ZIMMERMAN, G.L.; 1.989. Differentiation of Sarcocystis species in European sheep by isoelectric focusing. Parasitol. Res., 76: 107-114.
58. MEHLHORN, H.; HEYDORN, A.; GESTRICH, R.; 1.975. Licht- und elektronenmikroskopische untersuchungen an cysten von Sarcocystis ovicanis Heydorn et al. (1975) in der muskulatur von schafen. Z. Parasitenkd., 48: 83-93.
59. HEYDORN, A.O.; MEHLHORN, H.; 1.987. Fine structure of Sarcocystis arieticanis Heydorn, 1.985 in its intermediate and final hosts (sheep and dog). Zbl. Bakt. Hyg. A; 264: 353-362.
60. BOCH, J.; BIERSCHENCK, A.; ERBER, M.; WEILAND, G.; 1.979. Sarcocystis und Toxoplasma infektionen bei schlachtschafen in Bayern. Berlin. Munch. Tierarztl. Wochen., 92: 137-141.
61. MEHLHORN, H.; HARTLEY, W.J.; HEYDORN, A. O.; 1.976. A

- comparative ultrastructural study of the cyst wall of 13 Sarcocystis species. *Protistologica*, T. XII, fasc. 3: 451-467.
62. HEYDORN, A. O.; KARAER, Z.; 1.986. Schizogony of Sarcocystis ovicanis. Berl. Munch. Tierarztl. Wochen., 99: 185-189.
  63. ERBER, M.; 1.982. Life cycle of Sarcocystis tenella in sheep and dog. *Z. Parasitenkd.*, 68: 171-180.
  64. HEYDORN, A. O.; 1.985. Delopment of Sarcocystis arieticanis sp. nov. Berlin. Munch. Tierarztl. Wochen. 98: 231-241.
  65. OBENDORF, D.L.; MUNDAY, B.L.; 1.987. Experimental infection with Sarcocystis medusifomis in sheep. *Vet. Parasitol.*, 24: 59-65.
  66. MOORE, S.; 1.980. Two types of ovine Sarcocystis macrocysts distinguished by periodic acid-Schiff staining of the cysts walls. *N.Z. Vet. J.*, 28: 101-102.
  67. FAYER, R.; JOHNSON, A. J.; 1.974. Sarcocystis fusiformis: Development of cysts in calves infected with sporocysts from dogs. *Proc. Helmin. Soc. Wash.* 41: 105-108.
  68. DUBEY, P.; SPEER, C. A.; CALLIS, G.; BLIXT, J. A.; 1.982. Development of the sheep-canid cycle of Sarcocystis tenella. *Can. J. Zool.* 60: 2462-2477.
  69. O'DONOGHUE, P. J.; FORD, G. E.; 1.984. The asexual pre-cyst development of Sarcocystis tenella in experimentally infected especific-pathogen-free lambs. *Int. J. Parasitol.*, 14: 345-355.
  70. SENAUD, J.; 1.967. Contribution a l'etude des sarcosporidies et toxoplasmes. *Protistologica*, 3: 167-232.
  71. HEYDORN, A.O.; GESTRICH, R.; 1.976. Beitrage zum lebenszyklus der sarkosporidien VII. Entwicklungsstadien von Sarcocystis ovicanis im schaf. Berlin. Munch. Tierarztl. Wochen. 89: 1-5.
  72. FRENKEL, J. K.; 1974. Advances in the biology of sporozoa. *Z. Parasitenkd.* 54: 125-162.
  73. GESTRICH, R.,; HEYDORN, A.O.,; BAYSU, N.; 1.975. The life cycle of Sarcosporidia. VI: Differentiation of various species of Sarcocystis fusiformis and S.

- tenella. Berlin. Munch. Tierarztl. Wochen. 88: 191-197.
74. RICKARD, M. D.; MUNDAY, B. L.; 1.976. Host specificity of Sarcocystis spp in sheep and cattle. Aust. Vet. J., 52: 48-52.
  75. ASHFORD, R. W.; 1.977. The fox, Vulpes vulpes as a final host for Sarcocystis of sheep. Ann. Trop. Med. Parasit., 71: 29-34.
  76. FARMER, J. N.; HERBERT, I. V.; PARTRIDGE, M.; EDWARDS, G.; 1.978. The prevalence of Sarcocystis spp in dogs and red foxes. Vet. Rec. 102: 78-80.
  77. FORD, G. E.; 1.987. Host of two canid genera, the red fox and the dog, as alternate vectors in the transmission of Sarcocystis tenella from sheep. Vet. Parasitol., 26: 13-20.
  78. DUBEY, P.; FAYER, R.; SEESE, F. M.; 1.978. Sarcocystis in faeces of coyote from Montana: Prevalence and experimental transmission to sheep and cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 173: 1167-1170.
  79. DUBEY, P.; 1980. Coyote as a final host for Sarcocystis species of goats, sheep, cattle, elk, bison and moose in Montana. Am. J. Vet. Res. 41: 1227-1229.
  80. MUNDAY, B. L.; BARKER, I.K.; RICKARD, M. D.; 1.975. The development cycle of a species of Sarcocystis occurring in dogs and sheep, with observations on pathogenicity in the intermediate host. Z. Parasitenkd. 46: 111-123.
  81. HERBERT, I.V.; SMITH, T. S.; 1.987. Sarcocystosis. Parasitology Today. 3: 16-21.
  82. FAYER, R.; 1.979. Multiplication of Sarcocystis bovicanis in the bovine bloodstream. J. Parasitol., 65: 980-982.
  83. RUIZ, A.; FRENKEL, J. K.; 1.976. Recognition of cyclic transmission of Sarcocystis muris by cats. J. Infect. Dis. 133: 409-418.
  84. MUNDAY, B.L.; OBENDORF, D.L.; 1.984. Morphology of Sarcocystis gigantea in experimentally infected sheep. Vet. Parasitol., 16: 193-200.
  85. LEEK, R.G.; FAYER, R.; JOHNSON, A. J.; 1.977. Sheep experimentally infected with Sarcocystis from dogs. I. Disease in young lambs. J. Protozool., 63: 642-650.

86. FORD, G. E.; 1.979. Coccidia of man and companion animals. Austr. Adv. Vet. Sci.: 34-36.
87. FORD, G. E.; 1.980. The significance of the sarcocystoses and sarcosporidioses in domestic animals. Austr. Adv. Vet. Sci.: 61-63.
88. PHILLIPS, P. H.; FORD, G. E.; 1.980. The clinical pathology of the cyst-forming sporozoa in farm animals. Austr. Adv. Vet. Sci.: 63-65.
89. MEADS, E. B.; 1.976. Dalmeny disease another outbreak probably sarcocystosis. Canad. Vet. J.; 17: 271.
90. DUBEY, J. P.; LEEK, R. G.; FAYER, R.; 1.986. Prevalence, transmission and pathogenicity of Sarcocystis gigantea of shepp. J. Am. Vet. Med. Ass., 188: 151-154.
91. OBENDORF, D.L.; MUNDAY, B.L.; 1.986. Demonstration of schizogoneus stages of Sarcocystis gigantea in experimentally infected sheep. Vet. Parasitol., 19: 35-38.
92. CRAIGE, J. E.; 1.977. Sarcocystis of domestic animals. J. Am. Vet. Med. Assoc., 170: 463-466.
93. SAKHNO, V. M.; 1.984. Pathomorphology of experimental sarcocistosis in sheep. Soviet Agricultural Sciences; 4: 71-74.
94. MARKUS, M. B.; 1.978. Sarcocystis and sarcocystosis in domestic animals and man. Adv. Vet. Sci. Comp. Med., 22: 159-193.
95. DUBEY, P.; FAYER, R.; 1.983. Sarcocystis. Br. Vet. J., 139: 371-378.
96. GORMAN, T.; 1.984. Nuevos conceptos sobre sarcosporidiosis animal. Monogra. Med. Vet., 6: 5-23.
97. ALEXANDER, A. S.; 1.913. A new cause of irritation. Am. Sheep Breeder, 33 (12): 646.
98. MACGOWAN, J. P., RETTIE, T.; 1.913. On sarcosporidiosis (Sarcocystis tenella) in sheep in Scotland. J. Pathol. Bacteriol., 17: 422-423.
99. GUIART, J.; 1.922. Precis de parasitologie. 2<sup>nd</sup> ed., Bailliers et fils Ed., Paris. 194-197.
100. SALOMON, S.; 1935. Myocarditis sarcosporidica eines schafes. Berlin. Munch. Tierarztl. Wochen., 51: 214.

101. FAYER, R.; 1.970. Sarcocystis: Development in cultured avian and mammalian cell. Science, 168: 1104-1105.
102. DUBEY, J.P.; 1.988. Lesions in sheep inoculated with Sarcocystis tenella from canine feces. Vet. Parasitol., 26: 237-252.
103. GESTRICH, R.; SCHMITT, M.; HEYDORN, A. O.; 1.974. Pathogenitat von Sarcocystis tenella sporozysten aus den fazes von hunden fur lammer. Berlin. Munch. Tierarztl. Wochen., 87: 362-363.
104. LEEK, R. G.; FAYER, R.; 1.978. Sheep experimentally infected with Sarcocystis from dogs. II: Abortion and disease in ewes. Cornell. Vet. 68: 108-123.
105. HARTLEY, W. J.; BLACKMORE, W. F.; 1.974. An unidentified sporozoan encephalomyelitis in sheep. Vet. Pathol., 11: 1-12.
106. STUBBINGS, D. P., JEFFREY, M.; 1.985. Presumptive protozoan (Sarcocystis) encephalomyelitis with paresis in lambs. Vet. Rec., 116: 373-374.
107. DUBEY, J. P.; SPEER, C. A.; MUNDAY, B. L.; LIPSCOMB, T. P.; 1.989. Ovine sporozoan encephalomyelitis linked to Sarcocystis infection. Vet. Parasitol., 34: 159-163.
108. O'TOOLE, D.; DUFFELL, S. J.; UPCOTT, D. H.; FREWIN, D.; 1.986. Experimental microcyst Sarcocystis infection in lambs: Pathology. Vet. Rec. 119: 525-531.
109. O'TOOLE, D.; 1.987. Experimental ovine Sarcocystis: Sequential ultrastructural pathology in skeletal muscle. J. Comp. Path., 97: 51-59.
110. LAARMAN, J. J.; TADROS, W.; 1.983. Some diseases of emerging importance to community trade. Eds. J. R. Walton, E. G. White, S.A. Hall. Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities, p. 81.
111. JENSEN, R.; ALEXANDER, A. F.; DAHLGREN, R. R.; JOLLEY, W. R.; 1.986. Eosinophilic myositis and muscular sarcocystosis in the carcasses of slaughtered cattle and lambs. Am. J. Vet. Res., 47: 587-593.
112. VLEMMAS, I.; TSANGARIS, T.; KANAKOUDIS, G.; TSAGARAKIS, A.; THEODORIDIS, I.; 1.986. Histopathological study of the lesions of the sheep sarcosporidiosis (Sarcocystis ovicanis). Bull. Helle. Veter. Medic. Soc., 37: 3-7.

113. SCOTT, J.W.; 1.943. Economic importance of sarcosporidia with special reference to Sarcocystis tenella. Univ. Wyo. Agric. Exp. Sta. Bull., 262: 1-55.
114. HUSSAIN, M. M.; GUPTA, S. L.; SINGH, R.P.; 1.986. Pathological changes in lambs infected with Sarcocystis ovicanis during experiments. Indian J. Anim. Sci., 56: 169-173.
115. MUNDAY, B. L.; 1981. Premature parturition in ewes inoculated with Sarcocystis ovicanis. Vet. Parasitol., 9: 17-26.
116. POZOV, S. S.; 1.983. Study of pathology and immunology in ovine sarcocystosis. Diagnostika, Lechenie, Profilaktika Infekcionnykh i Parazitarnykh Zabolevanir.: 59-62.
117. O'DONOGHUE, P. J.; 1.978. Factor influencing the epidemiology of the ovine sarcosporidiosis and the development of Sarcocystis tenella in specific-pathogen-free (SPF) sheep. Ph. D. Thesis, Univ. Adelaide.
118. LEEK, R.G.; FAYER, R.; 1.980. Amprolium for prophylaxis of ovine Sarcocystis. J. Parasitol., 66: 100-106.
119. MUNDAY, B.L.; 1986. Effects of different doses of dog-derived Sarcocystis on growth rate and hematocrit in lambs. Vet. Parasitol., 21: 21-24.
120. PHILLIPS, P. H.; FORD, G. E.; 1987. Clinical, haematological and plasma biochemical changes in specific-pathogen-free (Sporozoa) lambs experimentally infected with low numbers of Sarcocystis tenella sporocysts. Vet. Parasitol., 24: 15-26.
121. MUNDAY, B.L.; 1979. The effect of Sarcocystis ovicanis on growth rate and hematocrit in lambs. Vet. Parasitol., 5: 129-135.
122. FRELIER, P.F.; LEWIS, R. M.; 1.984. Haematological and coagulation abnormalities in acute bovine sarcocystosis. Am. J. Vet. Res., 45: 40-48.
123. DAUGSCHIES, A.; 1989. Pathophysiological aspects of acute and chronic sarcocystosis. Les Colloques de L'INRA, 49: 25-38.
124. FAYER, R.; LEEK, R.; 1.979. Sarcocystis transmitted by blood transfusion. J. Parasitol., 65: 890-893.
125. MUNDAY, B. L.; 1.982. Effects of preparturient

- inoculation of pregnant ewes with Sarcocystis ovicanis upon the susceptibility of their progeny. Vet. Parasitol., 9: 273-276.
126. COLE, D. J.; 1.977/1.978. Sarcocystiasis. Resitance to infection. Wallaceville Anim. Res. Centre. Annu. Rep. 5.
  127. NAVARRETE, I.; HABELA, M.; REINA, D.; NIETO, C.; SERRANO, F.; 1.987. Sobre un proceso endémico de sarcocistosis ovina. I. Estudio fisiopatológico. V. Congr. Naci. Parasitol., Salamanca. 267-268.
  128. DUBEY, J. P.; SPEER, C. A.; FAYER, R.; 1.989. Sarcocystosis of animals and man. CRC Press, Boca Raton, Florida.
  129. DUBEY, J. P.; HARTLEY, W. J.; BADMAN, R. T.; 1.989. Fatal perinatal sarcocystosis in lamb. J. Parasitol., 75: 980-982.
  130. TADROS, W.; LAARMAN, J. J.; 1.982. Current concepts on the biology, evolution and toxonomy of tissue cyst-forming Eimeriid coccidia. Adv. Parasitol., 20: 293-468.
  131. LEEK, R. G.; 1.986. Infection of sheep with frozen sporocysts of Sarcocystis ovicanis. Proc. Helmin. Soc. Wash., 53: 297-298.
  132. MUNDAY, B.L.; 1.984/1.985. Demostration of viable Sarcocystis sporocysts in faeces of a lamb dosed orally. Vet. Parasit., 17, 355-357.
  133. FAYER, R.; LEEK, R. G.; 1.973. Excystation of Sarcocystis fusiformis sporocysts from dogs. Proc. Helm. Soc. Wash., 40: 294-296.
  134. CERNA, Z.; KOLAROVA, I.; SULC, P.; 1.978. Sarcocystis cernae Levine 1.977, excystation, life cycle and comparison with other heteroxenous coccidians from rodents and birds. Folia Parasitol., Praha, 25: 201-207.
  135. TADROS, W.; LAARMAN, J.; 1979. Laboratory models for the investigation of sarcosporidiosis and Sarcocystis induced coccidiosis. Trop. Geogr. Medic., 31: 166-167.
  136. TADROS, W.; LAARMAN, J.J.; 1980. On the developmental cycle of Sarcocystis cenae Levine, 1977 of Microtus arvalis. Trop. Geogr. Medic., 32: 362-363.
  137. BOX, E. D.; 1.983. Recovery of Sarcocystis sporocysts from feces after oral administration. Porc. Helmin. Soc. Wash., 50: 348-350.

138. MARKUS, M. B.; 1.980. Flies as natural transport host of Sarcocystis and other coccidia. J. Parasitol., 66: 361-362.
139. SIMON, F.; RAMAJO, V.; 1.984. Sarcocistosis natural en ovinos y caprinos. Rev. Iber. Parasitol., 44: 367-377.
140. O'DONOGHUE, P. J.; FORD, G. E.; 1.986. The prevalence and intensity of Sarcocystis spp infections in sheep. Aust. Vet. J., 63: 273-278.
141. DUBEY, P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C.A.; FAYER, R.; LIVINGSTON, C. N.; 1.988. Sarcocystis arieticanis and other Sarcocystis species in sheep in the United States. J. Parasitol., 74: 1033-1038.
142. BIERSCHENCK, A.; 1.979. Das vorkommen von sarkosporidien bei schlauchtschafen in suddentschland. Inaug. Diss., Univ. Munich.
143. CERNA, Z.; MERHAUTOVA, V.; 1.981. Sarcocystosis in cattle and sheep at Prague abattoir. Folia Parasitol., 28: 125-129.
144. GJERDE, B.; HELLE, O.; HILALI, M.; 1982. Sarcocystis infection in sheep from southwestern Norway. Acta Vet. Scand., 23: 221-234.
145. POMROY, W.E.; CHARLESTON, W.A.; 1.987. Prevalence of dog-derived Sarcocystis spp. in some New Zealand lambs. N. Z. Vet. J. 36: 141-142.
146. MARTINS, C. A.; 1.987. Oesophageal sarcosporidiosis in sheep in Rio Grande do Sul: Parasitological aspects of interest form the meat inspection aspect. Arquivos Fluminenses de Medicina Veterinaria, 2: 24.
147. JUNGSMANN, R.; HIEPE, T.; SCHEFFLER, C.; 1.986. Parasitic intestinal fauna of dog and cat, with particular reference to Giardia infection. Monatsh. Veter. Med., 41: 309-311.
148. BOCH, J.; BOHM, A.; WEILAND, G.; 1.979. Coccidial infections (Isospora, Sarcocystis, Hammondia, Toxoplasma) in dogs (S. Germany). Berlin. Munch. Tierarztl. Wochen., 92: 240-243.
149. BALMER, T. V.; EVANS, E.; HERBERT, I. V.; 1.982. Prevalence of Sarcocystis species and other parasites in hunting dogs in Gwynedd, Noth Wales. Vet. Rec., 110: 331-332.

150. LEGUIA, G.; HERBERT, I. V.; 1.979. The prevalence of Sarcocystis ssp. in dogs, foxes, and sheep and Toxoplasma gondii in sheep and the use of the indirect haemagglutination reaction in serodiagnosis. Res. Vet. Sci., 27: 390-391.
151. GASBARRE, L.; SUTER, P.; FAYER, R.; 1.984. Humoral and cellular immune responses in cattle and sheep inoculated with Sarcocystis. Am. J. Vet. Res., 45: 1592-1596.
152. O'DONOGHUE, P. J.; WEYRETER, H.; 1.984. Antigen characterization, antibody classification and immune complex formation in Sarcocystis infection. Zbl. Bakt. Hyg., 277: 105.
153. O'DONOGHUE, P.J.; WILKINSON, R.G.; 1.988. Antibody development and cellular immune responses in sheep immunized and challenged with Sarcocystis tenella sporocysts. Vet. Parasitol., 27: 251-265.
154. SMITH, T. S.; HERBERT, I. V.; 1.986. Experimental microcyst Sarcocystis infection in lambs: Serology and immunohistochemistry. Vet. Rec., 119: 547-550.
155. FORD, G. E.; 1.985. Immunity of sheep to homologous challenge with dog-borne Sarcocystis species following varying levels of prior exposure. Int. J. Parasitol., 15: 629-634.
156. HUSSAIN, M. M.; GUPTA, S. L.; SINGH, R. P.; 1.987. Redischarge of sporocysts from pups fed with Sarcocystis ovicanis infected meat repeatedly. Ind. J. Ani. Res., 21 (2): 113-114.
157. LEIGHTOWLERS, P.; FORD, G. E.; 1.980. Abstracts presentado en: "24 Meeting of the Australian Society for Parasitology". Sin publicar. Citado por Ford. G. E. (referencia 155).
158. ERBER, M.; GEISEL, O.; 1.979. Untersuchungen zur klinik und pathologie der Sarcocystis suicanis infektion beim schwein. Berl. Munch. Tierarztl. Wochen., 92: 197-202.
159. ARCAY, L.P.; 1966. The use of Sarcocystis tenella "spores" in a new agglutination test for sarcosporidiosis. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 20: 761-765.
160. MUNDAY, B.L.; CORBOULD, A.; 1.974. The possible role of the dog in the epidemiology of ovine sarcosporidiosis. Br. Vet. J., 130: IX-XI.

161. CERVA, L.; GUT, J.; 1.983. Indirect haemagglutination reaction with antigen of Sarcocystis gigantea. Folia Parasitol., Praha, 30: 223-228.
162. DIEZ BAÑOS, P.; CORDERO DEL CAMPILLO, M.; ROJO, F.; 1.978. Diagnóstico de la sarcosporidiosis ovina con la inmunofluorescencia indirecta. Anales Fac. Vet. León, 24: 47-55.
163. ARRU, E.; COSSEDDU, A.; TARANTINI, S.; 1.978. L'immunofluorescenza nella diagnosi della sarcosporidiosi ovina e suina. Clin. Vet., 101: 195-200.
164. BORDJOCHKI, A.; CONITH, V.; PETROVICH, Z.; SAVIN, Z.; 1.972. Diagnostic de la sarcosporidiose par l'immunofluorescence indirecte. Rec. med. Vet. d'Alfort, 148: 217-224.
165. SMITH, T. S.; HERBERT, I. V.; 1.985. Proceedings of the British Society for Parasitology, Abstracts of Spring Meeting 88.
166. REITER, I.; WEILAND, G.; ROSCHER, B.; MEYER, J.; FRAHM, K.; 1.981. Versuche zum serologischen nachweis der sarkosporidiose an experimentell mit sarkosporidien infizierten rindern und chafen. Berlin. Munch. Tierarztl. Wochen., 94: 425-430.
167. WEILAND, G.; REITER, I.; BOCH, J.; 1.982. Moglichkeiten und grenzen des serologischen nachweises von sarkosporidien infektionen. Berlin. Munch. Tierarztl. Wochen., 95: 387-392.
168. TENTER, A. M.; MENCKE, N.; PEIN, C.; O'DONOGHUE, P.; ROMMEL, M.; 1.989. Characterization of monoclonal antibodies to Sarcocystis spp. Dtsch. tierarztl. Wschr., 96: 63-66.
169. O'DONOGHUE, P.; LUMB, R.; SMITH, P.; BROOKER, J.; MENCKE, N.; 1.990. Characterization of monoclonal antibodies against ovine Sarcocystis ssp. antigens by immunoblotting and immuno-electron microscopy. Vet. Immunol. Immunopatho., 24: 11-25.
170. O'DONOGHUE, P.; WEYRETER, H.; 1.983. Detection of Sarcocystis antigens in the sera of experimentally-infected pigs and mice by an immuno-enzymatic assay. Vet. Parasitol., 12: 13-29.
171. TADROS, W.; LAARMAN, J. J.; 1.975. A study of serological cross-reaction amongst the four members of the "Toxoplasmea" by the indirect immunofluorescence

- (IFA) technique. 2nd. European Multicol. Parasitol., Trogir.: 9-10.
172. CERNA, Z.; KOLAROVA, I.; 1.978. Contribution to the serological diagnosis of Sarcocystis. Folia Parasitol., Praha., 25: 289-292.
  173. UGGLA, A.; 1.987. Serological responses in Sarcocystis cruzi infected calves challenged with Toxoplasma gondii. Res. Vet. Sci., 43: 127-129.
  174. AWAD, F. I.; LAISON, R.; 1.954. A note on the serology the sarcosporidiosis and toxoplasmosis. J. Clin. Pathol., 7: 152-156.
  175. CERVA, L.; CERNA, Z.; 1.982. Indirect haemagglutination reaction with Sarcocystis dispersa antigen. Folia Parasitol., Praha, 29: 219-225.
  176. DOBSON, C.; 1.972. Immune response to gastrointestinal helminths. En Immunity to Animal Parasites. E. J. Soulsby Edited, Academic Press, New York, 191-216.
  177. SAIZ, F.; MARIÑO, M.; PEREZ, T.; 1.980. Aparición de la pubertad y aparición ciclica estacional en la oveja de raza manchega. IX Congreso Mundial de Reproducción Animal. Madrid, 4: 337-339.
  178. WAKELIN, D.; 1.978. Genetic control of susceptibility and resistance to parasitic infection. Adv. Parasitol., 16: 219-284.
  179. DUBEY, J. P.; 1.981. Abortion and death in goats inoculated with Sarcocystis sporocystis form coyote faeces. J. Am. Vet. Med. Assoc., 178: 700-703.
  180. WEPPNER, W.A.; GOGGIN, J. H.; 1.980. Regulation of hamster splenocyte reactivity to concanavalen-A during pregnancy. Cell. Immunol., 54: 193-202.
  181. ALONSO, A.; ORDEN, M.A.; PRIETO, F.; GUTIERREZ, C.; GONZALO, J.M.; 1.986. Estudio hematológico en ovinos merinos y transhumantes: Elementos formes y proteinograma. Actas de las XI Jornadas Cientificas de la Soc. Esp. Ovino. Caprin.: 58-66.
  182. JEFFREY, M.; LOW, J. C.; UGGLA, A.; 1.989. A myopathy of sheep associated with Sarcocystis infection and monensin administration. Vet. Rec., 124: 422-426.
  183. SCHALM, O. W.; JAIN, N. C.; CARROL, E. J.; 1.975. Veterinary hematology. 3<sup>rd</sup> Edn., Lea and Febiger Ed.,

Philadelphia.

184. COLLERY, P.; 1.987. The pathogenesis of acute bovine sarcocystosis. *Irish Vet. J.* 41: 273-280.
185. LOPEZ-RODRIGUEZ, R.; HERNANDEZ, S.; NAVARRETE, I.; MARTINEZ-GOMEZ, F.; 1.986. Sarcocistosis experimental en la cabra (Capra hircus) II. Signos clínicos e índices de eritrocitos. *Rev. Iber. Parasitol.*, 46: 115-122.
186. BABIN, M. M.; 1.982. Proteinograma sérico de los ovinos normales. *Ana. INIA., Serie Ganadera*, 14: 83-99.
187. LOPEZ-GORGE, M.; SANCHEZ-RASERO, F.; MONTEOLIVA, M.; 1.967. Estudio del suero sanguíneo de animales parasitados. *Rev. Iber. Parasitol.*, 27: 11-23.
188. PRASSE, K. W.; FAYER, R.; 1.981. Hematology of experimental acute Sarcocystis bovicanis infection in calves. II: Serum biochemistry and hemostasis studies. *Vet. Pathol.*, 18: 358-367.
189. KAWAI, T.; 1.977. Clinical aspects of the plasma proteins. *Igaku Shoin Ltd. Ed., Tokyo.*
190. FAYER, R.; LUNDE, M.; 1.977. Changes in serum and plasma proteins and in IgG and IgM antibodies in calves experimentally infected with Sarcocystis from dogs. *J. Parasitol.*, 63: 438-442.
191. KANEKO, J. J.; CORNELIUS, C. E.; 1.970. Clinical biochemistry of domestic animals. Vol. 1, Academic Press Ed., New York.
192. VLEMMANS, I.; KANAKOUDIS, G.; TSANGARIS, T. H.; TEODORIDES, I.; KALDRYMIDOU, E.; 1.989. Ultrastructure of Sarcocystis tenella (Sarcocystis ovicanis). *Vet. Parasitol.*, 33: 207-217.