

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

EAP. DE MEDICINA VETERINARIA

**Saneamiento y detoxificación de la carne de alpaca con
sarcocistiosis mediante la aplicación de tratamientos
físicos-químicos apropiados para uso doméstico**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Julio César DURÁN ORREGO

ASESOR

Miguel Angel VILCA LÓPEZ

Lima - Perú

2004

DEDICATORIA

A mis padres Mirtha y César por su constante apoyo, amor y confianza.

A mi hermana Mary por su apoyo y cariño,

A mi hermanito Miguel, que desde el cielo siempre me acompaña.

Al Dr. Miguel A. Vilca por su apoyo y por darme la oportunidad de realizar este trabajo.

Agradezco a mis asesores y miembros del Jurado, por su apoyo y enseñanzas: Dra. Daphne Ramos, Dra. Eva Casas, Dr. Armando González, Dra. Teresa López, Dra. Rosa Sam, Dra. Rosa Perales.

A mi familia y amigos por su apoyo y confianza en mi persona,

MUCHAS GRACIAS.

RESUMEN

El desarrollo de técnicas domésticas de saneamiento y detoxificación de la carne de alpaca con presencia de macroquistes de *Sarcocystis aucheniae*, contribuirán a volverla inocua, por medio de la desnaturalización proteica de la toxina para que pierda su acción biológica. Los objetivos de; presente estudio fueron sanear y detoxificar la carne de alpaca, es decir, inactivar las toxinas de los macroquistes presentes, mediante su desnaturalización proteica, para obtener carnes no tóxicas y aptas para el consumo humano; empleando los tratamientos físicos-químicos de uso doméstico: ahumado en caliente, ahumado en frío, curado húmedo, curado seco, curado húmedo y ahumado, y curado seco y ahumado respectivamente. Se obtuvo la carne de alpaca infectada con macroquistes, se dividió en porciones y se aplicó los tratamientos físicos-químicos descritos. Luego, se realizó la evaluación biológica de la carne tratada para determinar el efecto saneante y detoxificante de los tratamientos, sobre el contenido proteico de los macroquistes, por medio de la inoculación a conejos. La actividad biológica tóxica de la proteína causó la muerte de todos los conejos, debido a que no se logró desnaturalizar por medio de ningún método doméstico aplicado.

Palabras claves: macroquistes, *Sarcocystis*, conejos.

SUMMARY

The development of domestic techniques to sanitize and detoxify alpaca's meat with the presence of *Sarcocystis aucheniae* macrocysts will contribute to obtain a harmless meat using the toxin's proteic denaturation to make it lose its biological action. The objective of this study was to inactivate the macrocystis's toxins by their proteic denaturation turning this meat into a non-toxic product fit for human consumption; using domestic physical-chemical treatments such as: hot and cold smoke, dry and wet. cure, wet-cure and smoke and dry-cure and smoke respectively. These treatments were applied to the infected meat (with macrocystis) which was previously divided in pieces. Treated meat was biologically evaluated to determine if the treatments really had a positive effect in sanitizing and detoxifying the macrocystis's proteic content by inoculating rabbits, The protein's toxic biological activity caused all rabbit's death because none of the domestic methods applied was able to denature the toxin.

Key words: macrocysts, *Sarcocystis*, rabbits.

I. INTRODUCCIÓN

La sarcocistiosis es una infección parasitaria causada por varias especies de protozoos del género *Sarcocystis* y tiene una amplia distribución en el mundo. El ciclo de vida del parásito es indirecto, en donde los hospedadores definitivos son el perro, gato, carnívoros silvestres y el humano; y los intermediarios los rumiantes, cerdos y caballos (Quiroz, 1997). Desde el punto de vista veterinario los estadios de desarrollo del parásito de importancia se encuentran en los hospedadores intermediarios (Urquhart *et al.*, 1996). Sin embargo, desde el punto de vista de la salud pública, es una enfermedad importante no sólo porque el humano puede verse afectado como hospedador definitivo de dos especies, *S. bovi hominis* y *S. sui hominis*, sino también por ser considerada una zoonosis tóxica (Hiepe *et al.*, 1979).

En los camélidos sudamericanos se han reportado tres especies de *Sarcocystis*. En el Perú de las dos especies prevalentes en alpacas, el *Sarcocystis aucheniae* produce quistes macroscópicos de color blanco presentes principalmente en esófago, cuello, costillares, brazuelo, lomo, pierna o en cualquier lugar del músculo esquelético (Guerrero *et al.*, 1967; Castro, 1974; White, 1998).

La presencia de quistes macroscópicos en la carne de alpaca se conoce vulgarmente como “triquina” o “arrocillo” y ocasiona grandes pérdidas económicas, debido a la disminución de la producción y al decomiso de las canales que presentan estos macroquistes (Alva *et al.*, 1980), las cuales pueden llegar al 9% del total de animales beneficiados e inspeccionados (Vilca, 1991).

El ciclo de vida del *Sarcocystis aucheniae* es del tipo predador – presa. Los hospedadores definitivos son perros y carnívoros silvestres que se infectan al comer carne cruda infectada con macroquistes que contienen bradizoitos, estos se

reproducen sexualmente en el intestino, y luego producen ooquistes que esporulan en él dando lugar a esporoquistes con esporozoitos, finalmente salen con las heces generalmente como esporoquistes, contaminando pastos y agua. El hospedero intermediario, la alpaca, se infecta por ingestión de pasturas o agua y en el estómago se liberan los esporozoitos, atraviesan el intestino y vía sanguínea invaden los tejidos donde se reproducen asexualmente, a nivel de endotelio vascular (2 generaciones) y muscular (1 generación) transformándose en quistes (Rojas, 1990; Leguía y col., 1989).

La Sarcocistiosis se debe considerar como una zoonosis tóxica, debido a que se han reportado evidencias de trastornos gastroentéricos en personas que consumieron carne insuficientemente cocida, infectada con *Sarcocystis aucheniae* (Leguía, 1989) y con *S. bovihominis* (Hiepe *et al.*, 1979). Además, estos cuadros serían ampliamente conocidos por los campesinos y son atribuidos a la “frescura de la carne” (Leguía, 1991).

Los quistes de *Sarcocystis* tienen en su interior una sustancia proteica la cual tiene una actividad neurotóxica que fue demostrada por Hiepe *et al* en 1981, denominándola Sarcocistina. La Sarcocistina, es considerada como una endotoxina que actúa a nivel del músculo cardíaco y tejido nervioso gastrointestinal (Briggs y Foreyt, 1985). Sam (1998), demostró su acción letal en conejos, utilizando proteínas de bradizoítos de macroquistes de *S. aucheniae* que fueron obtenidas por sonicación.

La cocción (80°C), congelación (-10°C por 10 días) y el deshidratado (charqui) de canales infectadas, constituyen medios eficaces para la inactivación de *Sarcocystis*, pudiendo ser utilizados dichos procedimientos en el tratamiento de canales infectadas para evitar su decomiso (Leguía *et al.*, 1990). Por otro lado, Ayala (1999) expone que carne contaminada con quistes de *Sarcocystis* a la acción de la saturación con sal común y a la irradiación solar por un período de 5 días, promueve la destrucción completa de los quistes, considerándose a esta técnica como una alternativa al procesamiento de carnes infectadas.

Una alternativa de solución al problema limitante de los macroquistes es el desarrollo de técnicas domésticas de saneamiento y la detoxificación de la carne. Es decir, volverla inocua recurriendo a la desnaturalización proteica de la toxina para que pierda su acción biológica.

Por lo expuesto anteriormente, los objetivos del presente trabajo son: sanear y detoxificar la carne de alpaca, es decir, inactivar las toxinas de los quistes de *S. aucheniae* mediante su desnaturalización proteica, empleando métodos de uso doméstico como curados y ahumados, volviendo las carnes no tóxicas y aptas para el consumo humano; y desarrollar tecnologías eficientes en el saneamiento y detoxificación de la carne de camélido que sea de fácil aplicación.

I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. SITUACIÓN DE LA CARNE DE ALPACA

El sector pecuario cumple un papel esencial en la economía y desarrollo del país. Así también, es importante mencionar el caso de nuestras especies animales nativas como los camélidos sudamericanos y el cuy, que forman parte de nuestra cultura andina y constituyen un legado cultural de nuestros antepasados prehispánicos (MINAG, 2004).

La producción agropecuaria nacional, en el rubro carnes, tiene en las aves una contribución importante, con el 47.8 %, seguida por la carne de vacuno que contribuye con un 18.7 %; mientras que las carnes de porcino y ovino contribuyen con 6.9 % y 6.0 % respectivamente. La participación de especies como las alpacas, llamas y caprinos es marginal. A pesar que la producción de carnes viene incrementándose, resulta insuficiente para abastecer la demanda nacional, por lo que se tiene que recurrir a las importaciones, especialmente en carnes de vacunos, ovinos y aves y que en términos monetarios representó 13 907.9 miles de dólares para el año 2000 (MINAG, 2004).

La crianza de alpacas y llamas constituyen una actividad económica de gran importancia para un vasto sector de la población alto andina, principalmente de Perú y Bolivia, y en menor grado de Argentina, Chile y Ecuador. Se estima que alrededor de 500 mil familias campesinas de la región andina dependen directamente de la actividad con camélidos sudamericanos, además de otras que se benefician indirectamente de ella. Los principales productos que se derivan de los camélidos sudamericanos son: la fibra, la carne, la piel y el cuero; además, el estiércol que producen es utilizado como fertilizante y combustible. En las zonas altas, donde la agricultura y ganadería común no son viables, la crianza de los camélidos constituye el único medio de subsistencia de las familias campesinas (CONACS, 2004 a).

La carne de camélidos es rica en proteínas, conteniendo 21.274 % la de alpaca y 24.821% la de llama; siendo además una carne que tiene poca grasa y poco contenido de colesterol. Asimismo, el alimento principal en el antiguo Perú fue la carne de camélidos domésticos (alpacas y llamas), que poblaron todo el territorio dominado, siendo su consumo abundante como resultado de una selección correspondiente a un sabio manejo. Mediante la introducción de especies animales como los vacunos, ovinos, cerdos por los españoles durante la época de la colonia; se posterga y relega el consumo de la carne de camélidos, hasta considerarla dañina y de consumo solo para los nativos. Por tal motivo, la explotación de las especies se orienta entonces hacia la producción de fibra, quedando la carne como parte de los hábitos alimenticios de los pobladores en las zonas de producción; que en forma de charqui es utilizada para el trueque por productos como maíz, papas, frutas; situación que se mantiene hasta nuestros días (CONACS, 2004 a).

En 1998, el Consejo Nacional de Camélidos Sudamericanos (CONACS), considerando la explotación de los camélidos domésticos como un recurso estratégico, inicia una campaña de promoción del consumo de su carne, con el objetivo de generar nuevos ingresos para el poblador alto andino. Como resultado, se ha elaborado material de difusión, con la finalidad de informar el resultado de numerosas investigaciones, donde se demuestran las ventajas comparativas de la carne de alpaca con respecto a otras carnes.

En la actualidad existe un convenio de apoyo interinstitucional para la promoción del consumo de carne de alpaca y llama con Le Cordon Bleu Perú, instituto de reconocido prestigio mundial, para promocionar y difundir las bondades de esta carne lo cual se realiza por medio de degustaciones, publicaciones y otras formas que procuren su reconocimiento en los diferentes estratos sociales; apoyando así el incremento de los ingresos económicos de los criadores de camélidos a nivel nacional. Asimismo, se ha suscrito también un convenio con la Municipalidad de Lima Metropolitana, para posibilitar lugares de venta de carne de alpaca con el fin de acrecentar la demanda y establecer canales de

comercialización viables y eficientes; con la participación del sector privado, que garantice al consumidor un producto de buena calidad (CONACS, 2004 b).

La carne de alpaca es considerada por algunos de poco valor, basándose en que es desabrida; sin embargo, otros la consideran similar a la del ovino y cuando es molida, no se puede diferenciar de la del bovino; también hay quienes señalan que se parece a la carne porcina sobre todo cuando es tierna. Todos estos aspectos son subjetivos, no estando disponibles apreciaciones objetivas sobre ellos (Vilca, 1991).

La carne de camélidos usualmente ha sido un producto considerado en segundo término dentro de las potencialidades productivas de la llama y de la alpaca, prácticamente con un valor comercial muy pequeño y con un mercado muy restringido debido a prejuicios socioculturales del poblador ciudadano e incluso del propio productor. Esta carne es quizá una alternativa interesante para cubrir la demanda de la zona andina del país por las características de su producción extensiva que la hace la más económica y por presentar una eficiente forma de transformación de la energía de la pradera nativa (Ruiz de Castilla, 1994).

2. SARCOCISTIOSIS

La sarcocistiosis es producida por organismos del género *Sarcocystis* la cual fue reportada por primera vez en Suiza (1843) por Miescher, quien encontró lo que llegó a conocerse como túbulos de Miescher's en el músculo esquelético del ratón (*Mus musculus*) en Suiza (Dubey, 1976; Levine, 1986). Luego, a finales del siglo XIX y a inicios del siglo XX, el *Sarcocystis* fue reconocido como un parásito frecuente en la musculatura de los herbívoros. Sin embargo, la posición taxonómica del *Sarcocystis* fue incierta y sus ciclos de vida permanecieron

desconocidos, hasta que se realizaron estudios donde se emplearon cultivos celulares a los que se inocularon bradizoítos liberados de quistes de *Sarcocystis* de un Grackle (variedad de ave), que resultó en el desarrollo de gametos coccidiales y estados parecidos a ooquistes. Demostrándose así, el ciclo de vida heteroxeno, con los estadíos asexuales en el animal presa y los estadíos sexuales en el predador (Dubey, 1976). Levine (1986) propone la siguiente clasificación taxonómica:

Phylum APICOMPLEXA Levine, 1970
Clase SPOROZOASIDA Leuckart, 1879
Subclase COCCIDIASINA Leuckart, 1879
Orden EUCCOCCIDIORIDA Léger y Duboscq, 1910
Suborden EIMERIORINA Léger, 1911
Familia SARCOCYSTIDAE Poche, 1913
Subfamilia SARCOCYSTINAE Poche, 1913
Género *SARCOCYSTIS* Lankester, 1982

El género *Sarcocystis* está compuesto por más de 130 especies (Tenter, 1995), las cuales se diferencian en el grado de patogenicidad, estructura, y en el ciclo de vida. La última revisión taxonómica de estas especies citó a más de 122 *Sarcocystis spp.* (Levine, 1986); desde entonces se han nombrado nuevos *Sarcocystis spp.*, y se han encontrado muchos parásitos similares a *Sarcocystis spp.* en músculo y tejido nervioso de varios vertebrados. *Sarcocystis spp.* son parásitos prevalentes de un amplio rango de vertebrados, incluyendo los mamíferos, aves, reptiles y peces (Tenter, 1995).

La mayoría de *Sarcocystis* encontrados en los animales domésticos son especie – específicos para sus hospedadores intermediarios y familia – específica para sus hospedadores definitivos. Sin embargo, los hospedadores intermediarios así como también los definitivos pueden ser infectados por diferentes *Sarcocystis*

spp. Aún no está claro, como diferentes *Sarcocystis spp.* infectan a un mismo hospedador (Tenter, 1995).

En bovinos se ha reportado tres especies de *Sarcocystis*: *Sarcocystis cruzi* sin. *S. bovicanis*, *Sarcocystis hirsuta* sin. *S. bovifelis* y el *Sarcocystis hominis* sin. *S. bovihominis* (Soulsby, 1987). Los ovinos pueden ser parasitados por cuatro especies de *Sarcocystis*: *Sarcocystis tenella* sin. *S. ovicanis*, *Sarcocystis gigantea* sin. *S. ovifelis*, *Sarcocystis arieticanis* y *Sarcocystis medusiformis* (Levine, 1986; Dubey *et al.*, 1989). Los porcinos pueden ser parasitados por tres especies: *Sarcocystis miescheriana* (sin. *S. suicanis*), *Sarcocystis porcifelis* y *Sarcocystis sui hominis* (sin. *S. porcihominis*) (Levine, 1986; Soulsby, 1987). En el ganado caprino se han reportado tres especies: *Sarcocystis capracanis*, *Sarcocystis hircicanis* y el *Sarcocystis capra felis* (Levine, 1986). En los equinos se han descrito infecciones por *Sarcocystis bertrami*, *Sarcocystis equicanis*, *Sarcocystis fayeri*; los cuales tienen como hospedador definitivo al perro (Levine, 1986; Dubey *et al.*, 1989). Sin embargo, algunos autores consideran que los equinos son infectados por una sola especie de *Sarcocystis* y que el tamaño de los quistes y morfología no son suficientes para la diferenciación de *Sarcocystis spp.* en los equinos (Tenter, 1995). También se ha descrito *Sarcocystis neurona*, en donde los equinos actúan como hospedadores aberrantes, porque sólo se han encontrado en ellos esquizontes y merozoítos (no sarcoquistes) (Dubey *et al.*, 1991^a; Dubey *et al.*, 2001).

El hombre es el hospedador definitivo de *Sarcocystis bovihominis* y *Sarcocystis porcihominis*. Pero al parecer actúa también como hospedador intermediario de *Sarcocystis lindemanni*, porque desarrolla sarcoquistes en sus músculos esqueléticos. Se desconoce al hospedador definitivo de *S. lindemanni* (Soulsby, 1987; Tello, 2000).

En los camélidos sudamericanos se han reportado tres especies de *Sarcocystis*: *Sarcocystis aucheniae*, que produce quistes macroscópicos de color

blanco presentes principalmente en esófago, costillares, brazuelo, lomo, pierna, o en cualquier lugar en el músculo esquelético, pero nunca en el corazón. El *Sarcocystis lamacanis*, propuesto por Leguía *et al.* (1989), el cual produce quistes microscópicos preferentemente en las fibras musculares cardíacas. Asimismo, el *Sarcocystis tilopodi* sin. *S. guanicoecanis*, reportado en guanacos en Argentina (Quiroga *et al.*, 1969) podría ser el mismo que ha sido hallado en guanacos en Chile (Gorman *et al.*, 1984).

3. CICLO BIOLÓGICO DEL *SARCOCYSTIS*

Los miembros de este género son protozoos intracelulares obligatorios, y, como toda coccidia, su ciclo de vida consiste en merogonia, gametogonia y esporogonia (Tenter, 1995). El *Sarcocystis spp.*, es de ciclo indirecto, requiere de dos hospedadores obligatorios en donde se desarrollan el estadio sexual (predador, hospedador definitivo) y el estadio asexual (presa, hospedador intermediario) (Leguía *et al.*, 1989).

El parásito vive y se reproduce sexualmente en el intestino del perro y elimina grandes cantidades de esporoquistes en las heces dependiendo de la especie de *Sarcocystis* de camélido y de la evolución de la infección en el perro. La eliminación continúa por un período de 4 a 8 semanas, luego de la cual se produce la recuperación espontánea (White, 1998).

El hospedador definitivo se infecta al alimentarse de un animal (presa) o carne infectada con sarcoquistes: los bradizoítos son liberados por la digestión en el estómago e intestino del predador, estos se mueven activamente e ingresan a la pared intestinal donde se dividen en gametos (femenino y masculino) produciéndose luego la fecundación y dando como resultado los ooquistes (zigotes). El ooquiste, al poseer una membrana muy frágil, esporula en la lámina propia del intestino, cada ooquiste contiene dos esporoquistes y cada uno de estos tiene cuatro esporozoítos. El esporoquiste, es evacuado al exterior junto

con las heces (Levine, 1986; Dubey *et al.*, 1989; Soulsby, 1987; Rojas, 1990; Mehlhorn, 1993).

El hospedador intermediario adquiere la infección al ingerir alimentos (pasturas) o aguas contaminadas con los esporoquistes, liberándose los esporozoítos en el intestino para luego entrar a la circulación sanguínea y desarrollar la primera generación de esquizonte en las células endoteliales o subendoteliales de los vasos sanguíneos de casi todos los órganos. Los merozoítos producidos en la primera generación de esquizontes entran a nuevas células endoteliales y subendoteliales donde se realiza la segunda generación de esquizontes. La segunda generación de merozoítos entran a las células musculares esqueléticas, cardíacas y algunas veces también en las células del sistema nervioso central donde se realiza la tercera generación de esquizontes, la que finalmente termina conformando el quiste (sarcoquistes) que pueden ser microquistes y/o macroquistes, en cuyo interior se forman los bradizoítos o cistozoítos. Con la ingestión del sarcoquiste del predador, se cierra el ciclo. (Levine, 1986; Dubey *et al.*, 1989; Soulsby, 1987; Rojas, 1990; Mehlhorn, 1993).

Figura 1

CICLO BIOLÓGICO DEL *Sarcocystis* (Leguía, 1999)



En camélidos, por lo menos una especie de *Sarcocystis* produce quistes microscópicos (*S. lamacanis*), y otra (*S. aucheniae*) produce quistes macroscópicos. En infecciones naturales, es común que ambas especies afecten al hospedador intermediario simultáneamente (White, 1998). Los microquistes se ubican generalmente en corazón y diafragma del hospedador intermediario así como también en el músculo esquelético. Los macroquistes, se caracterizan por ser de color blanco y del tamaño de un grano de arroz siendo pequeños y

compactos, ubicándose generalmente en el esófago y cuello, así como también en cualquier parte del músculo esquelético pero nunca en el corazón (White, 1998). Estos quistes (macro o micro) no ocasionan reacción inflamatoria alguna mientras se encuentran en el músculo, pero a medida que la concentración de quistes aumenta, estos pueden interferir con la eficiencia muscular (White, 1998).

En infecciones experimentales en perros y gatos realizadas para definir al hospedador definitivo de *Sarcocystis* de alpaca, se demostró que el perro e indirectamente los cánidos silvestres (zorros, lobos, etc) se comportan como los hospedadores definitivos y se descarta a los gatos e indirectamente a los felinos silvestres (gato montés, puma, etc) como posibles hospedadores definitivos. Se reporta además que los perros infectados con microquistes, tuvieron un periodo prepatente (PPP) de 9 a 14 días (promedio de 11 días) y un periodo patente (PP) de 60 a 72 días (promedio de 65 días). El tamaño promedio de los esporoquistes fue de 14.35 μ de largo (13.1 – 15.5) por 10.55 μ de ancho (9.08 – 15.55). La mayor cantidad promedio de esporoquistes eliminados se produjo el día 22 p.i., alcanzando la cantidad de 50,000 esporoquistes por gramo de heces. Por otro lado, los perros inoculados con macroquistes tuvieron un PPP de 11 a 20 días (promedio de 16 días) y el PP varió de 20 a 42 días (promedio de 30 días). El tamaño promedio de los esporoquistes fue de 14.59 μ de largo (13.2 – 15.84) por 10.3 μ de ancho (9.9 - 10.56), la mayor cantidad promedio de esporoquistes eliminados se produjo a los 15 días p.i., con 18,000 esporoquistes por gramo de heces (Leguía *et al.*, 1989).

En otros estudios, se suministró carne de guanaco altamente infectada con macroquistes de *Sarcocystis* a perros, gatos y ratones. Luego de coleccionar y examinar las heces diariamente se encontró que sólo los perros eliminaron esporoquistes (Gorman *et al.*, 1984). Del mismo modo, Schneider *et al.*, (1984), aislaron quistes de *Sarcocystis aucheniae* de llama y lo suministraron a un perro y a un gato, eliminando sólo el perro esporoquistes a los 21 días post inoculación y por un periodo de 21 días.

En los últimos años se han realizado investigaciones con el objeto de dar a conocer el ciclo de vida del *Sarcocystis neurona*, el cual tiene un ciclo diferente a los de otras especies de *Sarcocystis*. Tiene como hospedador definitivo a la zarigüeya (*Didelphis virginia*), y a una variedad de mamíferos como hospederos intermediarios aberrantes (Dubey *et al.*, 2001^a). Recientemente se ha descubierto que el hospedador intermediario natural del *S. neurona* es el armadillo de 9 bandas (*Dasypus novemcinctus*) (Cheadle *et al.*, 2001). Se han reportado infecciones de *Sarcocystis neurona* en mapaches, gato doméstico, visones y zorrillos (Dubey *et al.*, 2000; Hamir *et al.*, 2001; Butcher *et al.*, 2002). Ha sido frecuentemente reportado casos naturales de encefalitis y miocarditis debido a *Sarcocystis neurona* o parásito similar a *Sarcocystis neurona* en mapaches (*Procyon lotor*) en los Estados Unidos (Lindsay *et al.*, 2001^a; Hamir *et al.*, 2001).

4. PATOLOGÍA DEL SARCOCYSTIS

4.1. En el Hospedador Intermediario

Durante muchos años se tuvo dudas acerca de la patogenicidad del *Sarcocystis*. Diversos estudios han determinado el ciclo de vida y la patogenicidad en animales. Investigaciones realizadas en terneros a los cuales se infectó experimentalmente con ooquistes de *Sarcocystis cruzi*., permitieron determinar los signos clínicos: anorexia, pirexia y caquexia; y observar que luego les producía la muerte (33 días luego de la inoculación). A la necropsia se observó linfadenopatía generalizada y petequias en membranas serosas. Así como, fueron hallados esquizontes en las células endoteliales de los vasos sanguíneos (Fayer *et al.*, 1973). Estos signos clínicos y los hallazgos a la necropsia, fueron similares a los reportados para la enfermedad de Dalmeny en vacas del Canadá (Dubey, 1976).

Muchas de las especies patógenas de *Sarcocystis* causan enfermedad aguda sólo en su hospedador intermediario, pero no en el hospedador definitivo. En los hospedadores intermediarios, la enfermedad aguda es causada principalmente en las fases iniciales de la merogonia, la cual es llevada a cabo en las células endoteliales de casi todos los órganos internos y la enfermedad crónica es causada en la última fase de la infección. La severidad de los signos clínicos depende de la dosis de esporoquistes ingeridos y del estado inmune del hospedador. Sin embargo, no hay signos clínicos específicos para Sarcocistiosis (Dubey *et al.*, 1989; Tenter, 1995).

Con la finalidad de determinar el cuadro patológico producido por *Sarcocystis lamacanis* en alpacas, se inoculó oralmente a 3 alpacas de 4 meses de edad, libres de parásitos, con 160,000 esporoquistes procedentes de perros que fueron infectados con músculo cardíaco con microquistes (*Sarcocystis lamacanis*). Se produjo en las alpacas un cuadro clínico agudo entre los 19 y 21 días después de la inoculación. Este cuadro clínico se caracterizó por: anorexia, pirexia, pérdida de peso, salivación, disnea, palidez de las membranas mucosas, incoordinación, postración y muerte entre 3 a 4 días después. A la necropsia se hallaron hemorragias equimóticas de moderadas a severas, en serosas del tracto gastrointestinal, órganos torácicos, órganos abdominales y sistema nervioso central; observándose además, hidrotórax, hidropericardio, hidroperitoneo y necrosis de tipo zenkeriana asociada con hemorragias focalizadas a difusas en la musculatura esquelética y cardíaca (Sam, 1988).

En el mismo experimento, los cambios histopatológicos observados fueron: congestión severa y hemorragias en los tejidos afectados, asociados con la presencia de esquizontes en el endotelio vascular e infiltración moderada a severa de células linfocíticas. También se halló la presencia de quistes inmaduros de *Sarcocystis* en la musculatura cardíaca y esquelética, acompañada con severa hemorragia, degeneración y/o necrosis neural o de células de Purkinge. En este mismo experimento, otra alpaca inoculada con 40,000 esporoquistes, mostró

anemia, pérdida de apetito, fiebre y pérdida de peso, pero se recuperó. Una alpaca del grupo control (no inoculada con esporoquistes), no presentó problema alguno (Sam, 1988).

En los Estados Unidos, se reportó un caso clínico de *Sarcocystis* en una alpaca hembra importada de 6 años de edad. La que se describe como una miositis eosinofílica diseminada, asociada con macroquistes, estos fueron caracterizados histológicamente por compartimentos segmentados conteniendo bradizoítos y estructuralmente o en paredes quísticas compuesto de vellosidades anastomosadas. Dos horas antes de su muerte, la alpaca abortó un feto de 8 meses de gestación, pero no se hallaron lesiones en el útero, placenta o feto. Hallazgos macroscópicos adicionales incluyen hemorragias en cavidad abdominal, hemorragias en miofibrillas, degeneración y necrosis. La probable causa de sarcocistiosis en este caso fue debido a *Sarcocystis aucheniae*, a juzgar por las características macroscópicas, histológicas, y ultraestructuras de las paredes de los quistes (La Perle *et al.*, 1999).

Se han reportado brotes de enfermedad clínica aguda en diferentes especies animales. Así por ejemplo tenemos, en ovinos (*Sarcocystis tenella*) (Dubey *et al.*, 1989); bovinos (*Sarcocystis cruzi*) (Carrigan, 1986); caballos (*Sarcocystis neurona*) (Dubey *et al.*, 1991^a): perros (*Sarcocystis canis*) (Dubey *et al.*, 1991b); cacatúas, cockatiles y loros africanos (*Sarcocystis falcatula*) (Clubb *et al.*, 1992); osos polares en cautiverio (*Sarcocystis spp.*) (Garner *et al.*, 1997); mapaches (*Sarcocystis neurona*) (Hamir *et al.*, 2001), etc.

4.2. En el Hospedador Definitivo

Se ha demostrado experimentalmente, que los microquistes (*S. lamacanis*) pueden ser altamente patógenos en los perros. Así, un cachorro presentó a los 10 días p.i., signos clínicos caracterizados por anorexia, pirexia (41°C), palidez de las membranas mucosas, diarrea muco sanguinolenta, incoordinación y postración, muriendo dos días después. A la necropsia se observó la mucosa del yeyuno e

ileon con contenido biliar, hiperémica, edematosa y congestionada, además de hemorragias longitudinales en mucosa del colon. Los otros cachorros del mismo estudio, presentaron una ligera diarrea mucosa entre los días 9 – 14 p.i. Por otro lado, los perros inoculados con macroquistes (*S. aucheniae*) presentaron una diarrea mucosa (Leguía *et al.*, 1989). Alva *et al.* (1981) y Schneider *et al.* (1984) reportan la infección de perros con quistes macroscópicos de alpacas y llamas respectivamente.

En personas voluntarias, después de la ingestión de carne de cerdo infectada con *S. suis*, se observó vómitos, diarreas, sudoración y escalofríos, empezando de 6 a 24 horas luego del consumo y continuaron por 12 a 24 horas después. Los esporoquistes fueron eliminados entre 11 y 71 días luego de la ingesta. El consumo de carne de vacuno infectada con *S. bovis* fue seguido por malestar abdominal y, en algunos voluntarios, por náuseas y diarreas; los esporoquistes se eliminaron entre 13 y 39 días después de la ingestión y continuaron por 9 a 179 días. La enteritis eosinofílica y enterocolitis obstructiva ulcerativa pueden ser complicaciones ocasionales (Frenkel, 2000).

5. DIAGNÓSTICO DE SARCOCISTIOSIS

5.1. En el hospedador intermediario

El diagnóstico de sarcocistiosis aguda en animales es difícil de realizar debido a que hay muchas enfermedades que presentan signos clínicos que llevan a la pérdida de la condición general, además, encontrar parásitos en los tejidos de los animales infectados en forma aguda, no es práctico. No existe una prueba serológica disponible comercialmente, y, virtualmente todos los rumiantes tienen algún sarcoquiste en su musculatura (Dubey *et al.*, 1989).

Un diagnóstico presuntivo de la sarcocistiosis aguda está basado en la eliminación de otros posibles agentes causales, una buena evaluación epidemiológica del hato y su relación con otros animales (especialmente perros) y hallazgos clínicos (Dubey *et al.*, 1989). Aparentemente todos los camélidos mayores de 2 años están infectados con el ciclo asexual del *Sarcocystis*, tanto en alpacas (Guerrero *et al.*, 1967) como en llamas (Castro, 1974) en el altiplano del sur del Perú. Así por ejemplo, se realizó un estudio en 200 alpacas sacrificadas para el consumo, con edades que fluctuaban entre los 2 y 15 años, se hallaron quistes al examen macroscópico en el 16.5% de las muestras de esófago, 26.5% en la pierna y 27.5% en el cuello. Mientras que, quistes visibles al microscopio se hallaron en el 100% de las muestras de corazón, 99.5% en las muestras del esófago, 95.5% en las muestras de pierna y 87.5% en las muestras de cuello (Guerrero *et al.*, 1967).

En camélidos sudamericanos se especula con la posibilidad que la crianza conjunta de alpacas y llamas con perros sería determinante en la alta prevalencia de la infección. Pero, es muy probable también una participación importante de los cánidos silvestres en la transmisión y en la prevalencia (Leguía *et al.*, 1989). Las características socioculturales y la cosmovisión del criador permiten el consumo de carne cruda de alpaca infectada por los perros. Asimismo, la matanza clandestina o domiciliaria y en camales de centros urbanos que no permiten mínimas condiciones higiénicas y sanitarias, contribuyen a que los cánidos tengan acceso a las carnes (Leguía *et al.*, 1989).

5.2 . En el hospedador definitivo

Se realiza a través del examen coproparasitológico, tal como reporta Alva *et al* (1981) y Schneider *et al* (1984) en infecciones experimentales de perros con quistes macroscópicos de alpacas y llamas respectivamente. Por otro lado, Leguía *et al.* (1989) en el examen parasitológico de las heces de perros infectados experimentalmente con macroquistes, revelaron la presencia de gran cantidad de

ooquistes y esporoquistes de *Sarcocystis aucheniae* el cual fue precedido de una ligera diarrea mucosa, tal como se detalló anteriormente.

6. CONTROL DE LA SARCOCISTIOSIS

No existe una vacuna para proteger al ganado contra la sarcocistiosis clínica, aunque las investigaciones indican que los bovinos, ovinos, caprinos y cerdos pueden ser inmunizados con bajas dosis de esporoquistes (Dubey *et al.*, 1989). Por lo tanto, la prevención parece ser el único método disponible y práctico de control.

Evitar que el hospedador definitivo difunda al *Sarcocystis* en sus heces es la llave para eliminar la expansión de la infección de *Sarcocystis* (Leguía, 2003; comunicación personal):

- No alimentar con carne cruda a los perros (cualquier tipo de cocción está bien).
- Los carnívoros (perros) deberían ser excluidos de los hábitat, alimentos, agua y dormitorios de las alpacas.
- Las alpacas muertas deberían ser incineradas. Esto es importante sobre todo en aquellos lugares donde los animales muertos son dejados en el campo expuestos a los carnívoros salvajes.
- La construcción de camales y la supervisión de los mismos para evitar las matanzas clandestinas.

Sin embargo, estos apuntes resultan muy difíciles de alcanzar por las arraigadas costumbres socioculturales y las limitaciones económicas de los criadores de alpacas (Leguía, 2003; comunicación personal).

7. PÉRDIDAS ECONÓMICAS POR SARCOCISTIOSIS

La sarcocistiosis crónica puede ser el resultado de la ingestión de una baja dosis de esporoquistes de un *Sarcocystis* patógeno y puede causar pérdidas económicas en la industria ganadera debido a la reducción en la calidad y la cantidad de carne en vacunos, porcinos, ovinos y camélidos (Dubey *et al.*, 1989; Leguía *et al.*, 1990). Además, las pérdidas económicas también son causadas por la infección con *Sarcocystis* que forman quistes macroscópicos en los vacunos, ovinos y camélidos; lo cual resulta en la condena de toda la canal o de las partes afectadas después del beneficio (Castro, 2003).

Las pérdidas por infecciones con *Sarcocystis* han sido estimadas en 20% anuales atribuibles directamente a los parásitos en las alpacas (Leguía, 1991). La presencia de quistes macroscópicos en la carne de alpaca se conoce vulgarmente como “triquina” o “arrocillo” y ocasiona grandes pérdidas económicas, debido a la disminución de la producción y al decomiso de las canales que presentan estos macroquistes, el cual puede llegar al 9% del total de animales beneficiados e inspeccionados (Vilca, 1991).

Por otro lado, las pérdidas económicas atribuibles a infección clínica y subclínica son difíciles de calcular porque: casi el 100% de los vacunos, ovinos y camélidos se encuentran infectados, así es difícil diferenciar entre animales afectados y no afectados; es muy difícil dar un valor económico a las pérdidas debido a la pobre eficiencia alimentaria, fallas en el crecimiento, reducción en la producción de leche, lana y fibra, problemas reproductivos, y la misma enfermedad clínica que es difícil de diagnosticar y ha sido reconocida relativamente en unos pocos brotes, principalmente en vacunos y equinos (Castro, 2003).

8. IMPORTANCIA EN SALUD PÚBLICA DE LA SARCOCISTIOSIS POR *S. aucheniae* y *S. lamacanis*

Un cuadro clínico de gastroenteritis fue producido por Leguía *et al.*, (1990) en monos alimentados con carne de alpaca infectada con micro y macroquistes, cruda o insuficientemente cocida. Este cuadro se caracterizó por manifestar diarrea, cólicos abdominales y escalofríos entre las 3 a 8 horas después de la infección y durante 3 días seguidos, luego de los cuales los animales se recuperaron sin ningún tratamiento. Dichos signos fueron producidos por la Sarcocistina, una toxina presente en los quistes, que demostró ser letal cuando fue inoculada en conejos, pero no en cobayos y ratones (Sam, 1998).

La sarcocistiosis se debe considerar como una zoonosis tóxica, ya que se han reportado evidencias de trastornos gastroentéricos en personas que consumieron carne insuficientemente cocida, infectada con *Sarcocystis aucheniae* (Leguía, 1989) y con *S. hominis* (Hiepe *et al.*, 1979). Además, estos cuadros serían ampliamente conocidos por los campesinos y son atribuidos a la “frescura de la carne” (Leguía, 1991)

9. CONTROL DE LA SARCOCISTIOSIS MEDIANTE TRATAMIENTOS FÍSICOS – QUÍMICOS DE LA CARNE

Los métodos de conservación de alimentos (prolongación de vida útil de éstos) comprenden el conjunto de medidas encaminadas a eliminar las causas externas e internas de alteración o a disminuir al máximo los procesos de descomposición, alargando con ello los tiempos de depósito. No todos los procedimientos permiten destruir la totalidad de los microorganismos presentes en los alimentos; tampoco es esto imprescindible en muchos casos. Frecuentemente basta con crear condiciones que impidan a los gérmenes presentes alterar los alimentos y eliminar el riesgo de que se produzcan intoxicaciones alimentarias (Felhaber y Janetschke, 1995).

La congelación, cocción y deshidratación (charqui) constituyen medios eficaces para el tratamiento de carne de alpacas o llamas infectadas con micro y macroquistes de *Sarcocystis*, evitando su decomiso y permitiendo su utilización como carne industrial o para el consumo en forma de “Charqui” por las poblaciones andinas, evitando así la pérdida de esta valiosa fuente proteica (Leguía, 1990). Asimismo, Ayala (1999) expone carne contaminada con quistes de *Sarcocystis* a la acción de la saturación con sal común y a la irradiación solar por un período de 5 días, promoviendo la destrucción completa de los quistes, considerando a esta técnica como una alternativa al procesamiento de carnes infectadas.

9.1. Curado

Por curado se entiende una técnica mediante la cual, utilizando sal curante de nitrito, muchas veces combinada con otras sustancias, se obtiene un producto cárnico más conservable. El tratamiento de la carne con sal curante de nitrito desarrolla tres efectos principales: formación de un color rojo resistente al calor, formación del aroma típico del curado y además tiene una acción antimicrobiana. La acción inhibidora del curado sobre microorganismos no debe explicarse sólo por la actuación del nitrito, sino que deben tomarse en consideración también muchos otros factores, como valor del pH, actividad agua y adición de sal común. Se distinguen tres tipos de curado: curado seco, curado húmedo o en salmuera y curado mediante inoculación o curado por inyección (Felhaber y Janetschke, 1995).

También se dice que el curado es una operación básica en el procesamiento de carnes para la producción de ciertos tipos de productos de salchichería. Consiste en someter a las carnes a la acción de una mezcla especial de sales, en condiciones especiales de temperatura y tiempo, con la finalidad de fijar el color atrayente de la carne, mejorar el sabor y el aroma y finalmente permitir una mayor conservación de las mismas (Téllez, 1992).

Para lograr un buen curado se necesita preparar una mezcla de sales, compuesta de: cloruro de sodio, nitrato sódico, nitrito y azúcar, disueltos en agua cada uno de estos componentes desempeñan los siguientes roles:

- La sal corriente es higroscópica, al provocar una desimbibición altera la estructura la estructura muscular; evita el desarrollo de microorganismos, bacterias, y modifica el sabor de la carne.
- El nitrato de Sodio, impide el desarrollo de gérmenes de la putrefacción y atenúa la acción enzimática proteolítica, los nitratos son atacados por enzimas oxido-reductasas entre ellas la nitrato-reductasa o nitroreductasa, reduciéndolas a bnes nitrito y éstos pasan a monóxido de nitrógeno que con la mioglobina, produce la nitrosomioglobina, compuesto que proporciona el color rojo del curado de la carne.
- El azúcar, desempeña los siguientes roles: sirve como alimento de las bacterias; como carbohidrato, disacáridos (sacarosa) en presencia del agua se descompone en monosacáridos (glucosa + fructosa) facilitando un proceso de fermentación y la consiguiente acidificación, con un pH de 5.4 que es muy favorable para lograr la fijación del color rojo, por otra parte el azúcar contrarresta el sabor salado de la sal y el sabor amargo del nitrato, apareciendo un nuevo sabor medio dólucete, favorable a la calidad de las carnes curadas.

Los nitritos tienen efectos inhibitorios sobre los microorganismos, dostridios y estafilococos en especial. Su acción antimicrobiana aumenta con el descenso del pH, el cual le permite interactuar con componentes bacterianos y alterar su metabolismo. Los nitratos y nitritos son también poderosos antioxidantes, de manera que impiden la rancidez oxidativa (Vilca, 1991). El curado de carne necesita realizarse en una cámara de refrigeración a temperatura de 3º a 5º C y a 90% H.R. (Téllez, 1992).

9.1.1. Curado seco

Esta técnica consiste en preparar una mezcla en seco de sal común más nitrato más azúcar, bien pesado según fórmula y se frota todos los lados de la pieza de carne, en forma íntegra, pareja, logrando humedecer estas sales con el jugo de la carne y obteniendo una verdadera capa de sal sobre la misma. Las carnes así se colocan en capas, añadiendo siempre las sales (mezcla), carnes, sales, carnes, sales, etc. hasta cubrir totalmente el depósito y una buena capa de sales en la parte superior, en donde se coloca una rejilla y su peso respectivo, todo este material se debe conservar en la cámara; un curado en seco puede durar de 7 a 30 días, varía según la cantidad y calidad de carnes, los propósitos de curado y el tipo de fórmula en la cura. Cada 7 días debe cambiarse de depósito y de posición, volviéndose a salar de nuevo y frotando con la mezcla de sales. Se debe ir observando el estado y calidad de las carnes, separando aquellas que pudieran estar malogradas (Téllez, 1992).

9.1.2. Curado húmedo

Es un método más generalizado para piezas pequeñas de carne, aunque también se le usa para otros tamaños. Consiste en preparar una salmuera curante, compuesta de sal corriente, nitrato, nitrito, azúcar y agua. Se necesitan depósitos bien limpios y en ellos se sumergen las carnes, por un periodo de tiempo que puede variar entre 2 a 25 días, esto en razón del tamaño, composición de la salmuera y condiciones del curado propiamente dichos. Conviene sumergir totalmente las carnes y colocar en la parte superior un peso o rejilla que cubra bien la salmuera a las carnes. Periódicamente se debe observar y examinar el proceso del curado. Terminado éste se debe dejar escurrir y lavar bien las carnes (Téllez, 1992).

9.2. Ahumado

El ahumado sirve para mejorar la calidad culinaria y en determinados alimentos prolonga la capacidad de conservación por efecto del calor. La capacidad de conservación de los alimentos es consecuencia de la acción bacteriostática y bactericida de componentes del humo (formaldehído, cerosota, fenoles, guayacol, ácidos acético y fórmico), pero también de la desecación que se produce en el transcurso del ahumado, sobre todo si se practica el ahumado en caliente. Los artículos ahumados se clasifican de acuerdo con el método de ahumado en ellos practicado que pueden ser ahumado en caliente y ahumado en frío (Felhaber y Janetschke, 1995).

El ahumado es una operación que algunas veces puede parecer complementaria y otras como básica; para otros el ahumado se considera como un método auxiliar de curación de embutidos. Se logra el ahumado, al exponer los embutidos en un ahumadero a la acción del humo, el que puede controlarse en densidad, temperatura y tiempo. Al ahumado también se le conoce como un método de conservación de carnes (Téllez, 1992).

9.2.1. Efecto del humo

El humo actúa sobre los embutidos en base a sus componentes, al tiempo de exposición y al grado de temperatura. De esta forma, se conoce que los componentes químicos encontrados en el humo, son muchos y que ellos varían, según el tipo de madera, leña o aserrín utilizado. Entre estos compuestos químicos se tiene: ácidos, bases orgánicas, aldehídos, cetonas, alcoholes, hidrocarburos, fenoles, cresol, cerosota. Los ácidos y fenoles, actúan como bactericidas, algunos fenoles como antioxidantes, los que influyen en el aroma son los fenoles, aldehídos aromáticos y cetonas y los responsables del color, son la cerosota y los alquitranes. Como desinfectante actúan el

alcohol metílico y el formaldehído. Por acción de la combustión de la madera, se desprenden una gama de sustancias químicas, las que transportadas por el humo se impregnan en la superficie de los productos, otros penetran en el interior fijándose en la masa, lo que les da ese sabor, olor y tufillo a ahumado, además afecta el color y grado de humedad.

Las mejores maderas utilizadas en el ahumado de embutidos son las maderas duras no resinosas, no conviene maderas resinosas o ricas en otras sustancias, que impregnen mal gusto y mal olor. En base a lo comentado se dice, que el humo ejerce acción desinfectante, pues muchos de sus componentes son microbicidas y hasta cierto punto, cumple una acción antiséptica, pues el grado de calor, seca a las carnes, por evaporación, disminuyendo la humedad en los embutidos, por eso se dice que el ahumado es también un método de conservación.

Los efectos del ahumado depende del tiempo de exposición de los productos, deduciéndose una relación directa. A esto se añade el diámetro de los diversos productos, elaborados y el tipo de ahumado. El ahumado comunica un determinado color amarillo-rojizo brillante, pues al resecarse el producto en un 10 a 40% la superficie de los embutidos, se fijan en ella ciertos principios químicos como creosota, que causan esa brillantez (Téllez, 1992).

9.2.2. Ahumado en caliente

Se ejecuta en ahumaderos donde sea fácil mantener una buena radiación calórica, la temperatura usual es de 70° a 80° C, en base a calor producido por gas y humo; se logra con aserrín o viruta. Algunos ahumadores poseen dispositivos que permiten regular la

temperatura y la densidad del humo, igualmente dispositivos de metal que faciliten el carguío y el descargue, así como dispositivos para la limpieza del hollín, que debe hacerse periódicamente (Girard, 1991; Téllez, 1992).

9.2.3. Ahumado en frío

Se caracteriza por operar a una temperatura entre 18° a 25° C, utilizando generalmente aserrín; cuando se desea un ahumado frío húmedo, se humedece el aserrín y de esta forma, el humo va evaporando el agua añadida. Este ahumado generalmente se aplica para jamones, costillares, tocinos, chorizos, entre otros, es decir productos de larga conservación (Girard, 1991; Téllez, 1992).

10. VIABILIDAD DE MACROQUISTES DE *S. aucheniae*

En trabajos de investigación realizados por Leguía y col. en 1990 como se manifestó anteriormente, sobre los estudios preliminares de la sarcocistiosis en alpacas, se determinó la existencia del *S. aucheniae* que produce quistes macroscópicos de crecimiento y maduración lenta, y que se localizan en las fibras esqueléticas. Asimismo, se evaluó la viabilidad de los macroquistes en gatos, perros y monos; determinando al perro como hospedador definitivo e indirectamente a carnívoros de vida silvestre (zorros). De igual forma, se estableció que la cocción (80° C), congelación (-10° C por 10 días) y el deshidratado (charqui), constituyen medios eficaces de inviabilidad de macroquistes al inactivar el *S. aucheniae*, pudiendo ser utilizados dichos procedimientos en el tratamiento respectivo de las carcasas infectadas para evitar su decomiso.

11. TOXICIDAD Y LETALIDAD DE LA PROTEINA DEL MACROQUISTE DE *S. aucheniae*

Los quistes de *Sarcocystis* tienen en su interior una sustancia proteica la cual tiene una actividad neurotóxica que fue demostrada por Hiepe *et al* en 1981, denominándola Sarcocistina, considerada como una endotoxina que actúa a nivel del músculo cardíaco y tejido nervioso gastrointestinal (Briggs y Foreyt, 1985). Sam (1998), demostró su acción letal en conejos, utilizando proteínas de bradizoítos de macroquistes de *S. aucheniae* que fueron obtenidas por sonicación.

La capacidad tóxica reside en sus características intrínsecas como molécula proteica, esta característica la perderá si la molécula se altera ya sea estructuralmente, en forma, o fraccionándose; y esto se puede lograr por desnaturalización proteica.

Una alternativa de solución al problema limitante de los macroquistes es el saneamiento y la detoxificación de la carne; es decir, volverla inocua recurriendo a la desnaturalización proteica de la toxina para que pierda su acción biológica

I. MATERIALES Y MÉTODOS

1. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se obtuvo carne de alpaca infectada con macroquistes de *S. aucheniae*. Se dividió en porciones y se preparó la carne aplicando tratamientos físico-químicos. Luego se realizó la evaluación biológica de la carne tratada para determinar el efecto saneante y detoxificante de los tratamientos sobre el contenido proteico de los macroquistes empleando conejos. Asimismo, de manera complementaria se evaluó la carne tratada para determinar la viabilidad de los macroquistes empleando perros (ver apéndice).

2. LUGAR DE ESTUDIO

El presente estudio se llevó a cabo en los Laboratorios de Salud Pública y Salud Ambiental, Inmunología, Parasitología, Patología Clínica de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ubicada en el distrito de San Borja, Lima – Perú.

3. ANIMALES

Se utilizaron 6 alpacas adultas, machos y hembras, de 2 a 5 años de edad aproximadamente, seleccionados al azar entre aquellas destinadas al beneficio, provenientes de Huancayo y Huancavelica los que fueron posteriormente sacrificados de manera convencional. Se utilizó 18 conejos para la evaluación de la letalidad de proteínas de macroquistes de *Sarcocystis aucheniae* tratados. Asimismo, se utilizaron 18 perros de entre 4 y 6 meses de edad, cachorros, de

ambos sexos para verificar la viabilidad de los macroquistes en un experimento complementario.

4. METODOLOGÍA

4.1. PREPARACIÓN DE LA CARNE DE ALPACA

Después de adquirir las alpacas, cada animal fue beneficiado convencionalmente, lo cual se inició con un aturdimiento por conmoción, seguido de sangría, degüello, desollado y eviscerado, luego se procedió a la división de canales por la mitad y al lavado y retoque pertinente (Vilca, 1991).

Luego de la verificación de la presencia de macroquistes, se dividió la carne de alpaca parasitada en porciones con cantidades similares de quistes (más de 100 quistes en cada porción). A cada porción de carne parasitada (200 g aproximadamente) se le aplicó un tratamiento físico – químico.

4.2. TRATAMIENTOS FÍSICO – QUÍMICOS

A 200 g de carne parasitada se aplicó uno de los siguientes tratamientos:

- a) Tratamiento Físico - Químico 1 (Grupo Experimental A):** Ahumado en caliente con una temperatura entre 70-80°C por espacio de 2 horas.
- b) Tratamiento Físico - Químico 2 (Grupo Experimental B):** Ahumado en caliente con una temperatura entre 70-80°C por espacio de 4 horas.
- c) Tratamiento Físico – Químico 3 (Grupo experimental C):** Ahumado en frío con una temperatura entre 18-25°C durante 24 horas.

- d) Tratamiento Físico - Químico 4 (Grupo Experimental D):** Curado húmedo empleando una salmuera al 15% (sal común 23%, sal curante 3%, azúcar 1.2% y nitrato de sodio 0.24%), se inyectó los trozos con la salmuera y luego se sumergieron en ella. Se mantuvo en refrigeración durante 20 días y luego se desaló en agua corriente durante 24 horas.
- e) Tratamiento Físico – Químico 5 (Grupo Experimental E):** Curado seco, se espolvoreó con sal curante (mezcla de sales curantes conteniendo un máximo de 4.00% de nitritos). Se mantuvo en refrigeración durante 20 días y luego se desaló en agua corriente durante 24 horas.
- f) Tratamiento Físico – Químico 6:** Curado y ahumado.
- 200 g de carne previamente tratada con curado húmedo, luego se desaló y se ahumó en caliente durante 2 horas (**Grupo Experimental F**).
 - 200 g de carne previamente tratada con curado seco, luego se desaló y se ahumó en caliente durante 2 horas (**Grupo Experimental G**).

4.3. EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE LA CARNE DE ALPACA TRATADA

Esta evaluación se realizó para determinar el efecto saneante y detoxificante de los tratamientos, es decir, su capacidad para inactivar el efecto tóxico de las sustancias o componentes proteicos (sarcocistina) que están presentes en los macroquistes de *Sarcocystis aucheniae*. Esto se realizó mediante el ensayo de letalidad de la sustancia proteica de los quistes que se llevó a cabo con los conejos.

4.3.1. ENSAYO DE LETALIDAD DE LA SUSTANCIA PROTEICA DE LOS QUISTES

4.3.1.1. Tamaño de muestra

La fórmula utilizada para determinar el tamaño de muestra de acuerdo con Snedecor & Cochran es la siguiente:

$$n = \left[\frac{Z(a) + Z(b)}{p_1 - p_2} \right]^2 * (p_1 * q_1 + p_2 * q_2)$$

Donde:

- **Z(a)** = valor de la t de Student para el nivel de confianza especificado.
- **Z(b)** = valor de la t de Student para la potencia especificada.
- **p₁** = proporción en la población 1.
- **p₂** = proporción en la población 2.
- **p₁*q₁** = varianza de la proporción en la población 1 = p₁*(1-p₁)
- **p₂*q₂** = varianza de la proporción en la población 2 = p₂*(1-p₂)

DATOS:

- Proporción en población 1 (%) = 100
- Proporción en población 2 (%) = 1
- Nivel de confianza (%) = 95
- Potencia (%) = 90

En consecuencia $n = 2$

4.3.1.2. Obtención de los macroquistes de *Sarcocystis aucheniae*

Mediante la extracción de los macroquistes presentes en la carne de alpaca tratada y no tratada (utilizando pinzas y bisturís) se obtuvieron quistes enteros y se conservaron en una solución salina fosfatada (pH 7.2, 0.15 M), para evitar la alteración de estos. Luego los macroquistes fueron lavados

con la misma solución tres veces, para dejarlos limpios de cualquier sustancia o tejido extraño.

4.3.1.3. Preparación del inóculo

Se preparó un Lisado de Macroquistes de *Sarcocystis* (LMS). El LMS se hizo a partir de macroquistes libres de tejido cárnico tratado. Se homogenizaron (Corning – PC 351), se lisaron por ultrasonificación (Fisher - 300) a 60 ciclos de intervalos de 30S/4 veces y se centrifugaron a 14,874 g/30 minutos (13,500 rpm) (Eppendorf Centrifuge 5402). El inóculo utilizado estaba constituido por el lisado diluido en una solución salina fosfatada (ph 7.2, 0.15 M), conteniendo como mínimo 100 ug de proteína/ml. La proteína fue medida por Método colorimétrico para la determinación de proteínas totales con una longitud de onda de 540 nm en espectrofotómetro.

4.3.1.4. Verificación de la letalidad del inóculo en conejos. Conformación de grupos experimentales

Se utilizaron 18 conejos machos, cuyos pesos fluctuaban entre los 2 y 2.5 Kg de peso vivo (KPV). Se mantuvieron en ambiente cerrado en instalaciones previamente desinfectadas y flameadas. A estos animales se les brindó alimento balanceado comercial para conejos (aproximadamente 70 gr. diarios a cada conejo) y agua *ad libitum*. Los conejos fueron observados y controlados durante 7 días con el fin de verificar un estado óptimo de salud antes de realizar la inoculación del LMS procedente de macroquistes obtenidos de carnes parasitadas y tratadas.

Los conejos estuvieron distribuidos en los siguientes grupos experimentales de 2 conejos c/u:

- a) Grupo Control Positivo (2)

Conejos inoculados vía subcutánea con un antígeno de 1.0 ml conteniendo 100 ug de proteína de LMS por KPV, preparado en base a los macroquistes de *S. aucheniae* que fueron retirados de la carne cruda.

b) Grupo Tratamiento (14)

Conejos inoculados vía subcutánea con un antígeno de 1.0 ml conteniendo 100 ug de proteína de LMS por KPV, preparado en base a los macroquistes de *S. aucheniae* que fueron retirados de la carne a la que previamente se le aplicó uno de los tratamientos tecnológicos descritos.

c) Grupo Control Negativo (2)

Conejos inoculados vía subcutánea con 1.0 ml de suero fisiológico.

Los conejos fueron controlados permanentemente post inoculación (PI) a fin de identificar las alteraciones clínicas. Se realizó la necropsia en aquellos animales que murieron.

4.3.1.5. Exámenes histopatológicos

Se efectuó el estudio histopatológico de los diferentes órganos afectados de todos los conejos muertos luego de la inoculación del LMS de la carne tratada. Secciones de hígado, pulmón, riñón, corazón y cerebro fueron fijados en una solución de formalina tamponada al 10 % y posteriormente procesados rutinariamente: inclusión en parafina, seccionadas a 4-6 µm de grosor y teñidas con hematoxilina - eosina para su posterior examen microscópico.

4.3.1.6. Desnaturalización y evaluación de la toxicidad de LMS tratado

En los casos que el inóculo de LMS produjo la muerte de los conejos, se procedió a someter a tratamiento térmico el respectivo inóculo (100°, 80° y 60°C por un periodo de 10 minutos) y luego se aplicó a otros conejos para verificar la naturaleza tóxica del mismo. El principio aplicado consiste en que el tratamiento térmico de proteínas produce su desnaturalización y por lo tanto la pérdida de su efecto biológico (toxicidad).

I. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. ENSAYO DE LETALIDAD DE LA SUSTANCIA PROTEICA DE LOS QUISTES

El ensayo de letalidad de la sustancia proteica de los quistes muestra que todos los conejos inoculados en los grupos experimentales con el lisado de macroquistes de *S. aucheniae* (LMS) tuvieron alteraciones clínicas severas desde una hora post inoculación (PI) hasta que sucedió la muerte de todos los animales, entre las 12 a 27 horas (Cuadro 1). El tiempo de sobrevivencia de los conejos fue dependiente de acuerdo al tratamiento físico – químico aplicado a la carne.

La dosis de cada inóculo fue de 100 ug de proteína de LMS por kilogramo de peso vivo (KPV); esto se realizó ya que sólo se refiere información de la actividad biológica tóxica de extractos de *S. aucheniae* en conejos en dosis altas de 5 mg/ml desconociéndose la dosis mínima letal en ésta especie (Sam, 1998). La literatura científica cita el efecto letal de extractos de bradizoitos de especies de *Sarcocystis* diferentes a *S. aucheniae* en conejos (Tadros y Laarman, 1982; Hiepe *et al.*, 1981; Scott, 1943).

Cuadro 1.- Resultados de la inoculación de Lisado de Macroquistes de *S. aucheniae* en conejos, la variación de la temperatura y el tiempo de sobrevivencia de los animales en los diferentes grupos experimentales. Lima, 2003.

GRUPOS EXPERIMENTALES	Tº Pre-inoculación.	Tº 1 hora Post-inoculación	MUERTE (horas)
CONTROL POSITIVO	38.9	40.3	12
GRUPO A (Ahumado en caliente por 2 hrs.)	38.4	40.0	13
GRUPO B (Ahumado en caliente por 4 hrs.)	38.5	39.7	19
GRUPO C (Ahumado en frío por 24 hrs.)	38.5	39.8	11
GRUPO D (Curado húmedo)	39.3	40.4	19
GRUPO E (Curado seco)	38.9	40.0	23
GRUPO F (Curado húmedo y ahumado)	39.2	40.1	27
GRUPO G (Curado seco y ahumado)	39.3	40.5	21
CONTROL NEGATIVO	39.0	39.1	-

Los signos clínicos observados en los animales se caracterizaron por postración, disnea, pupila contraída, diarrea e hipertermia. Estos signos son similares a los reportados en conejos post inoculación de LMS de carne sin tratamiento alguno. El incremento de la temperatura puede ser atribuida a la inducción de pirógenos endógenos como mecanismo de defensa del organismo por la toxina (Sam *et al.*, 1998).

El tiempo de sobrevivencia de los conejos varió de acuerdo al tratamiento aplicado a la carne, siendo el tiempo más corto de 11 horas para el grupo C, que corresponde al ahumado en frío y el tiempo más largo de 27 horas para el grupo F, que corresponde al curado húmedo y ahumado. Esta diferencia de horas de muerte de los conejos, sugiere realizar un análisis estadístico como el Método de Kaplan-Meier, el cual mostraría una curva de sobrevivencia. Esto no pudo ser desarrollado por este trabajo, debido a que el número de muestra de cada tratamiento fue muy pequeño, ya que se trata de un estudio preliminar. Sin embargo, se recomienda hacer trabajos posteriores, con un mayor tamaño de muestra, los cuales podrían aplicar al método estadístico descrito para poder establecer nuevas conclusiones.

2. EXÁMENES HISTOPATOLÓGICOS

Los resultados de los exámenes histopatológicos muestran lesiones en hígado, pulmón, riñón, corazón, cerebro y bazo de los conejos muertos luego de la inoculación. El hígado, pulmón y riñón fueron los órganos más afectados.

En el hígado se observó una severa congestión de vasos portales y sinusoides hepáticos, así como, la presencia de proceso degenerativo agudo en hepatocitos, caracterizado por tumefacción celular y degeneración turbia. La hiperplasia de los conductos biliares, y edema en el tejido conjuntivo de los espacios portales (Fig. 2). Sam *et al.* (1998) reporta las mismas lesiones

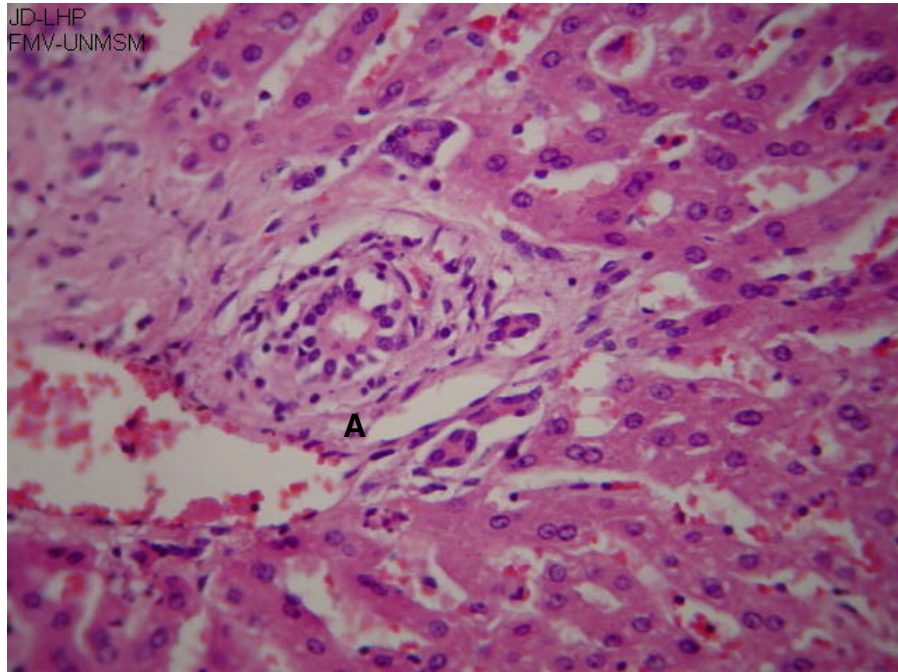


Figura 2. Hígado de un conejo inoculado con LMS. Se muestra una severa congestión e hiperplasia de los conductos biliares(A) 40X.H-E.

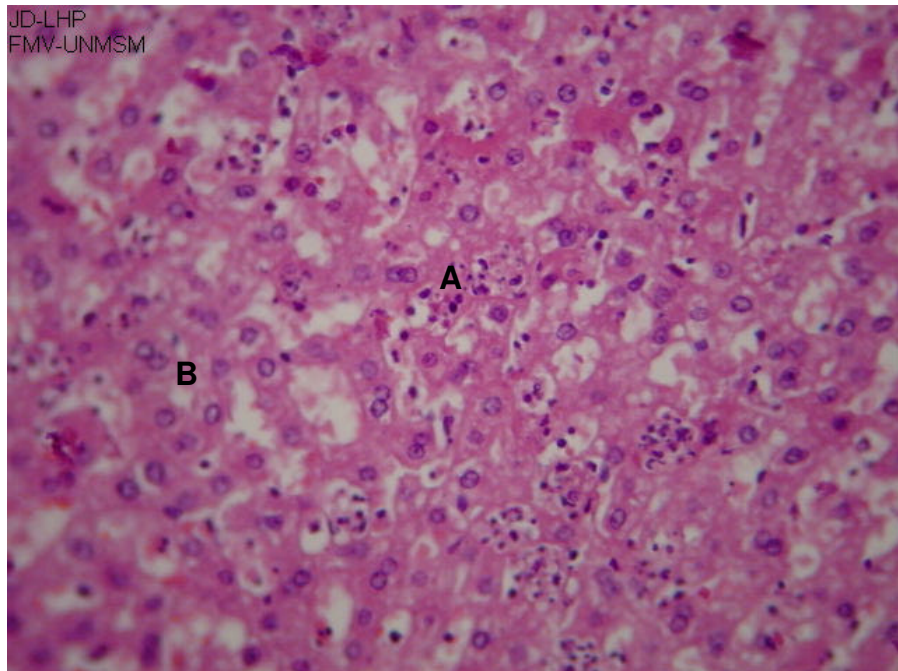


Figura 3. Hígado de un conejo inoculado con LMS. Se muestra la presencia notoria de figuras apoptóticas (A) y tumefacción celular (B). 40X. H-E.

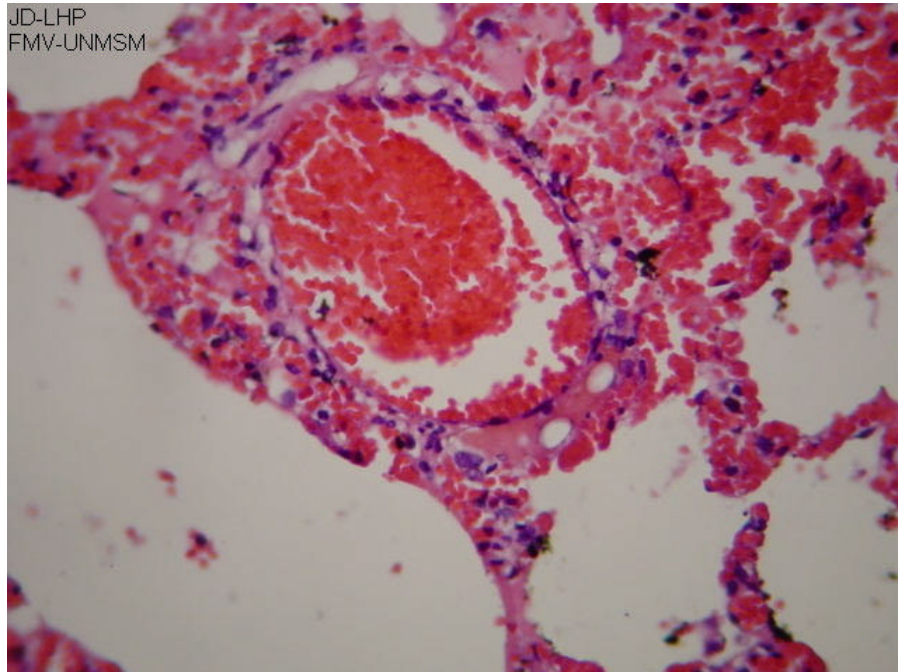


Figura 4. Pulmón de un conejo inoculado con LMS. Se muestra una severa congestión y zonas hemorrágicas. 40X. H-E.

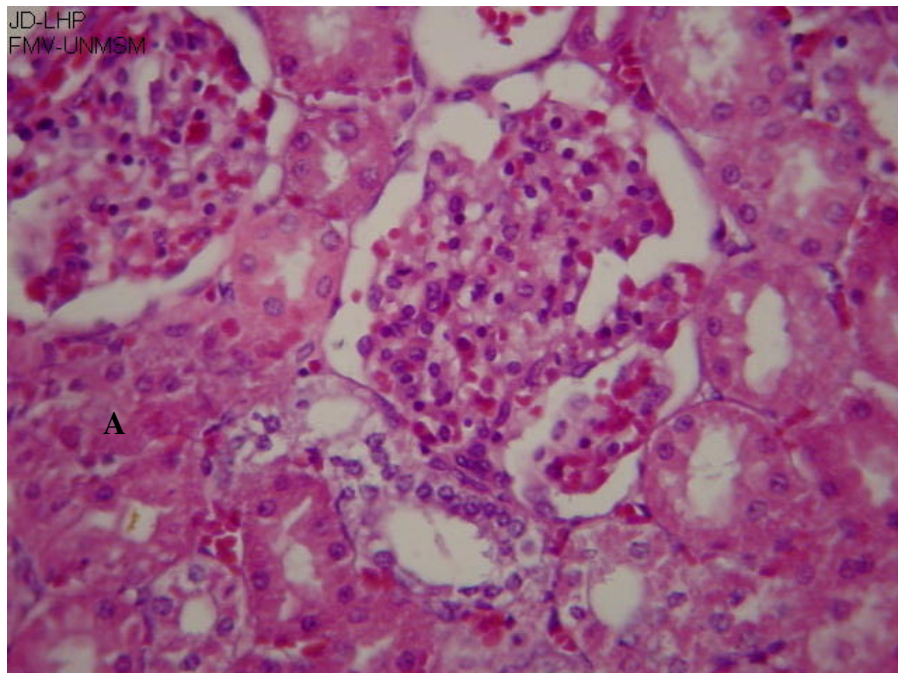


Figura 5. Riñón de un conejo inoculado con LMS. Se muestra una severa congestión, dilatación del pelotón glomerular y tumefacción de células de túbulos renales (A). 40X.H-E.

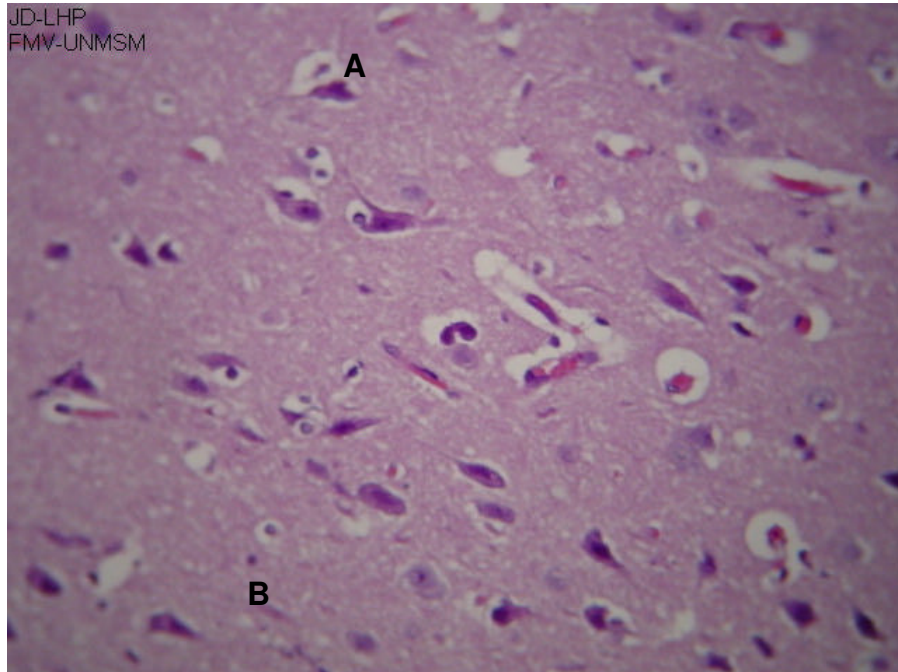


Figura 6. Cerebro de un conejo inoculado con LMS. Se muestra edema perivascular y perineural, satellitosis (A) y gliosis (B). 40X. H-E.

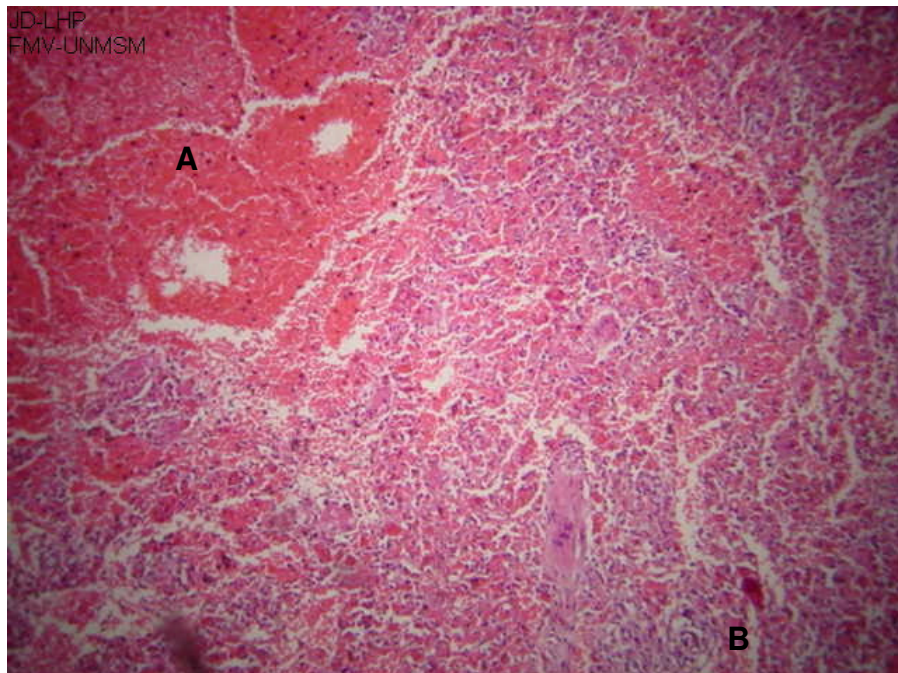


Figura 7. Bazo de un conejo inoculado con LMS. Se muestra zonas hemorrágicas (A) y depleción linfoide. Arteriola central (B). 10X. H-E.

histopatológicas en conejos inoculados con un lisado de macroquistes de *S. aucheniae* extraídos de carne de alpaca a la que no se le sometió a ningún tratamiento. Por otro lado, se observó la presencia notoria de figuras apoptósicas en diferentes partes del tejido hepático afectado, las cuales no fueron descritas en estudios anteriores (Fig. 3).

En los pulmones, se aprecia una severa congestión pulmonar, presencia de edema en diferentes zonas, neumonía intersticial y zonas hemorrágicas (Fig. 4). Sam *et al.* (1998) manifiesta estas mismas lesiones y además nota la presencia de espasmos arterial y arteriolar. Los cambios vasculares y alteraciones pulmonares apreciadas en las arterias, parecen constituir un espasmo de la musculatura, asociada al efecto de la toxina sobre el endotelio vascular (Sam *et al.*, 1998).

En los riñones se observó una severa congestión en la zona cortical y medular, la estructura glomerular fue afectada, mostrando dilatación del pelotón glomerular, tumefacción glomerular, degeneración y colapso de glomérulos (Fig. 5). Así también, tumefacción de células de túbulos renales, descamación de células epiteliales y diferentes zonas de necrosis. Estas lesiones son similares a las descritas por Sam *et al.* en 1998 en conejos que fueron inoculados con el lisado descrito anteriormente.

Otros órganos afectados fueron el corazón, el cerebro y el bazo. El miocardio presentó trastornos circulatorios agudos, caracterizados por congestión, hemorragias y procesos degenerativos de fibras miocárdicas; similar al reporte de Sam *et al.* en 1998. En el caso del cerebro, se observó zonas de congestión y edema perivascular y perineural, dilatación de los vasos de la meninge, satelitosis y gliosis (Fig. 6). Asimismo, el bazo presentó hemorragia, edema, disgregación de folículos linfoides, zonas de necrosis, presencia de procesos degenerativos en linfocitos y la disminución de estos (Fig. 7).

Las lesiones observadas en los diferentes órganos descritos son producidas por la acción tóxica de la sustancia proteica de los macroquistes de *S. aucheniae*. Esta genera alteraciones agudas en órganos vitales, especialmente en órganos detoxificadores, como el riñón e hígado (Sam *et al.*, 1998).

3. DESNATURALIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DE LMS

Como se produjo la muerte en todos los conejos inoculados con el LMS de las carnes que fueron tratadas con los tratamientos descritos, se procedió a realizar el tratamiento térmico de todos los inóculos (100° C por un periodo de 10 minutos), y del control positivo (100°, 80° y 60° C por un periodo de 10 minutos). Los resultados luego de la inoculación mostraron que los conejos no tuvieron signos clínicos que evidencien alguna toxicidad, se mostraron aparentemente normales y no murieron (cuadro 2). Esto se realizó con el fin de desnaturalizar la sustancia proteica contenida en los macroquistes y así eliminar su letalidad.

Cuadro 2.- Resultados de la inoculación de Lisado de Macroquistes de *S. aucheniae* en conejos; bajo tratamientos térmicos a 100° C, y a 80° y 60° C en el control positivo, por un periodo de 10 minutos; la variación de la temperatura y la sobrevivencia de los animales en los diferentes grupos experimentales. Lima, 2003.

GRUPOS EXPERIMENTALES	T° Pre-inoculación.	T° 1 hora Post-inoculación	SIGNOS CLÍNICOS
CONTROL POSITIVO (100° C)	38.6	38.8	No murieron Aparentemente Normales
(80° C)	38.4	38.6	
(60° C)	38.7	38.8	
GRUPO A (Ahumado en caliente x 2 hrs.)	38.9	38.7	No murió Aparentemente Normal
GRUPO B (Ahumado en caliente x 4 hrs.)	39.0	39.0	No murió Aparentemente normal
GRUPO C (Ahumado en frío x 24 hrs.)	38.5	38.7	No murió Aparentemente normal
GRUPO D (Curado húmedo)	39.1	39.2	No murió Aparentemente normal
GRUPO E (Curado seco)	39.0	39.2	No murió Aparentemente normal
GRUPO F (Curado húmedo y ahumado)	39.4	39.6	No murió Aparentemente normal
GRUPO G (Curado seco y ahumado)	39.5	39.5	No murió Aparentemente normal

I. CONCLUSIONES

- La toxina del parásito no fue detoxificada, debido a que los lisados de macroquistes de *S. aucheniae* de todas las carnes a las que se le aplicó los tratamientos físicos-químicos causaron la muerte de todos los conejos.
- Los métodos domésticos descritos no logran detoxificar los macroquistes de la carne de alpaca infectada.
- Los conejos inoculados con un lisado de macroquistes de *S. aucheniae* de carne tratada presentaron las mismas alteraciones histopatológicas que conejos inoculados con un lisado de carne sin tratar.
- El tratamiento térmico de los lisados de macroquistes de *S. aucheniae* a 100° C, y a 80° y 60° C en el control positivo; por un periodo de 10 minutos desnaturizó la sustancia proteica que se encontraba en los macroquistes, debido a que no causó la muerte en los conejos.

I. BIBLIOGRAFÍA

1. ALVA J., Rojas M., Núñez, A. 1980. Decomisos por parasitosis y su importancia económica en alpacas (*Lama pacos*). Rev. Inv. Pec. (IVITA) UNMSM, Lima, 5(1):61-62.
2. ALVA, J., BAZALAR, H., GUERRERO, D. Y NÚÑEZ, L. 1981. Observaciones del ciclo de vida del *Sarcocystis aucheniae* de alpacas (*Lama pacos*). Res. V Cong. Per. Microb. Y Parasit. Arequipa. Perú.
3. AYALA C. 1999. Estudio detallado de la ocurrencia de *Sarcocystis* en el altiplano Boliviano. En: Progress in South American Camelids research, P. 181-185. The European Association for Animal Production. Gottingen, Germany.
4. BRIGGS, M.; FOREYT, W. 1985. *Sarcocystis* in cattle. Continuing Education 6 (7):3.
5. BUTCHER, M., LAKRITZ, J., HALANEY, A., BRANSON, K., GUPTA, G.D., KREEGER, J., MARSH, A. 2002. Experimental inoculation of domestic cats (*Felis domesticus*) with *Sarcocystis neurona* or *S. neurona-like* merozoitos. Vet parasitol. 107:1-14.
6. CARRIGAN, M.J. 1986. An outbreak of sarcocistiosis in dairy cattle. Aust Vet J. 63:22-24.

7. CASTRO, J. 1974. *Sarcocystis aucheniae* en llamas (*Lama glama*). Rev. Inv. Pec. IVITA, UNMSM, 3:91-92.
8. CASTRO, E. 2003. Evaluación de la edad como factor de riesgo de seropositividad a *Sarcocystis aucheniae* en alpacas. [Tesis para optar el título de Médico Veterinario]. Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 50 p.
9. CLUBB, S.L., FRENKEL, J.K. 1992. *Sarcocystis falcatula* of opossums: transmission by cockroaches with fatal pulmonary disease in psittacine birds. J. Parasitol. 78:116-124.
10. CONACS. 2004 a. <http://www.conacs.gob.pe/camelidos.shtml#1>.
11. CONACS. 2004 b. http://www.conacs.gob.pe/domest_logros.shtml#1.
12. CHEADLE, M.A., TANHAUSER, S. M., DAME, J. B., SELTON, D. C., HINES, M., GIM, P.E., MACKAY, R.J., GREINER, E.C. 2001. The nine-banded armadillo (*Dasypus novemcinctus*) is an intermediate host for *Sarcocystis neurona*. Int. J. Parasitol. 31:330-335.
13. DUBEY, J.P. 1976. A review of *Sarcocystis* of domestic animals and other coccidia of cats and dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 169:1061-1078.
14. DUBEY, J.P.; LEEK, R.G.; FAYER, R. 1986. Prevalence, transmission, and pathogenicity of *Sarcocystis gigantea* of sheep. J. Am. Vet. Med. Assoc. 188:151-154.
15. DUBEY, J.P.; SPEER, C.A.; FAYER, R. 1989. Sarcocystiosis of animals and man. CRC Press. 215 p. Boca Ratón, FL, USA.
16. DUBEY, J.P.; DAVIS, S.W.; SPEER, C.A.; BOWMAN, D.D.; de LAHUNTA, A.; GRANSTROM, D.E.; TOPPER, M.J.; HAMIR, A.N.; CUMMINGS, J.F.; SUTER, M.M. 1991^a. *Sarcocystis neurona* n. Sp. (Protozoa: Apicomplexa), the etiologic agent of equine protozoal myeloencephalitis. J. Parasitol. 77:212-218.
17. DUBEY, J.P.; SPEER, C.A. 1991b. *Sarcocystis canis* n. sp. (Apicomplexa: Sarcocystidae), the etiologic agent of generalized coccidiosis in dogs. J. Parasitol. 77:525-527.
18. DUBEY, J.P., HAMIR, A.N. 2000. Immunohistochemical confirmation of

- Sarcocystis neurona* infections in raccoons, mink, cat, skunk and pony. J. Parasitol. 86:1150-2
19. DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; SAVILLE, W.J.A.; REED, S.D.; GRANSTROM, D.E.; SPEER, C.A. 2001. A review of *Sarcocystis neurona* and equine protozoal myeloencephalitis (EPM). Vet. Parasitol. 95:89-131.
 20. FAYER, R.; JONSON, A.J. 1973. Development of *Sarcocystis fusiformis* in calves infected with sporocysts from dogs. J. Parasitol. 59:1135-1137.
 21. FEHLHABER, K.; JANETSCHKE, P. 1995. Higiene Veterinaria de los alimentos. Edit. Acribia. Zaragoza. España. P. 171-332.
 22. FRENKEL, J. K. 2000. Sarcosporidiosis. En: Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases. Ed. G. Thomas Strickland. Fifth Edition. Edit. W. B. Saunders Company. Philadelphia. P 707-709.
 23. GARNER, M.M.; BARR, B.C.; PACKHAM, A.E.; MARSH, A.E., BUREK-HUNTINGTON, K.A.; WILSON, R.K.; DUBEY, J.P. 1997. Fatal Hepatic Sarcocystosis in two polar bears (*Ursus maritimus*). J. Parasitol. 83:523-526.
 24. GIRARD, J. P. 1991. Tecnología de la carne y de los productos cárnicos. Edit. Acribia. Zaragoza. España. P. 183-192.
 25. GORMAN, T. R., ALCAINO, H.A., MUÑOZ, H., CUNAZZA, C. 1984. *Sarcocystis sp.* in guanaco (*Lama guanicoe*) and effect of temperature on its viability. Vet Parasitol. 15:95-101.
 26. GUERRERO, C.; HERNANDEZ, J.; ALVA, J. 1967. *Sarcocystis* en alpacas. Rev. Fac. Med. Vet. Lima. 69-76.
 27. HAMIR, A.N.; DUBEY, J.P. 2001. Myocarditis and encephalitis associated with *Sarcocystis neurona* infection in raccoons (*Procyon lotor*). Vet. Parasitol. 95:335-340.
 28. HIEPE, F.; HIEPE, T.; HLINAK, P.; JUNGSMANN, R.; HORSCH, R. Y WEIDANER, B. 1979. Experimentelle Infektion des Menschen und Von Tieraffen (*Urcopithecus allitrichus*) mit Sarkosporidien-Zysten Von Rind und schwei. Arch. Exp. Veterinaermend. 33:819.
 29. HIEPE, F.; LIETZKE, L.; SCHEIBNER, G.; JUNGSMANN, R.; HIEPE, T.;

- MONTAG, T. 1981. Untersuchungen zur toxischen Wirkung von Extrakt aus *Sarcocystis ovifelis*-Macrozysten auf Kanichen. Mh. Vet. Med. 36:908-910.
30. LA PERLE, K.; SILVERIA, D.; ANDERSON, E.; BLOMME, E. 1999. Dalmeny disease in an alpaca (*Lama pacos*): sarcocystosis, eosinophilic myositis and abortion. J. Comp. Pathol. 121(3):287-293.
31. LEGUÍA, G.; GUERRERO, C.; SAM, R.; ROSADIO, R. 1988. Patología de *Sarcocystis aucheniae* en alpacas infectadas experimentalmente. X Cong. Pan. Cienc. Vet. Lima, Perú.
32. LEGUÍA, G.; GUERRERO, C.; SAM, R.; CHÁVEZ, A. 1989. Infección experimental de perros y gatos con micro y macroquistes de *Sarcocystis* de alpacas (*Lama pacos*). MV Rev. Cienc. Vet. 5(3): 10-13.
33. LEGUÍA, G.; ARÉVALO, F. 1990. Efecto de la cocción, refrigeración, congelación y deshidratación (charqui) sobre la viabilidad del *Sarcocystis* de alpacas. MV Rev. Cienc. Vet. 6(1):19 - 28.
34. LEGUÍA, G. 1991. Enfermedades Parasitarias. En: Avances y Perspectivas del Conocimiento de los Camélidos Sudamericanos. FAO. Santiago, Chile. 429 p.
35. LEGUÍA, G.; CASAS, E. 1999. Enfermedades Parasitarias y Atlas Parasitológico de Camélidos Sudamericanos. Edit. De Mar. Lima, Perú. 190 p.
36. LEGUÍA. 2003. Comunicación personal.
37. LEVINE, N. 1986. The taxonomy of *Sarcocystis* (Protozoa: Apicomplexa) species. Parasitology Today. 7:54-56.
38. LINDSAY, D.S., ROSYPAL, A. C., SPENCER, J.A., CHEADLE, M. A., ZAJAC, A. M., RUPPRECHT, CH., DUBEY, J. P., BLAGBURN, B. 2001. Prevalence of agglutinating antibodies to *Sarcocystis neurona* in raccoons, *Procyon lotor*, from the United States. Vet Parasitol. 100:131-134.
39. MEHLHORN. 1993. Parasitología Veterinaria. 1ª ed. Editorial Gross-Iatros. P. 50-52, 190-195.
40. MINAG. 2004. http://www.portalagrario.gob.pe/sect_pecuario_imp.shtml.

41. QUIROGA, D.; LOMBARDERO, O.; ZORRILLA, R. 1969. *Sarcocystis tilopi* n. sp. en guanacos (*Lama guanicoe*) de la República Argentina. Gaceta Veterinaria. 31:67-70.
42. QUIROZ, H. 1997. Parasitología y Enfermedades Parasitarias de animales domésticos. Edit. Limusa. México. 876 p.
43. ROJAS, M. 1990. Parasitismo de los Rumiantes Domésticos. Terapia, Prevención y Modelos para su Aprendizaje. Edit. Mijosa. Lima, Perú. 383 p.
44. RUIZ DE CASTILLA, M. 1994. Camelicultura: Alpacas y Llamas del sur del Perú. 1ra. Ed., Edit. Mercantil, Cusco. P. 164-174.
45. SAM, R. 1988. *Sarcocystis aucheniae*: Caracterización parcial de componentes antigénicos y patología clínica experimental en alpacas. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Biológicas. Univ. Nac. Mayor de San Marcos, Lima. 118 p.
46. SAM, R.; MANSILLA, I.; MORALES, C.; RAMÍREZ, A. 1998. Efecto tóxico de macroquistes de *Sarcocystis aucheniae* en ratones, cobayos y conejos. Rev. Inv. Pec. IVITA (Perú) 1998 (Nº Extraordinario); 9 (2): 11-18.
47. SCOTT, J. W. 1943. Economic Importance of Sarcosporidia with special reference to *Sarcocystis tenella*. Univ. Wyo. Agric. Exp. Stn. Bull. 262:5.
48. SCHNEIDER T.; KAUP, F.J; DROMMER, W.; THIEL, W.; ROMMEL, M. 1984. Fine structure and development of *Sarcocystis aucheniae* in llamas. Z. Parasitenkd. 70:451-458.
49. SOULSBY, E.J. 1987. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7ª Edición. Edit. Interamericana. México. P. 693-7.
50. TADROS, W . y ALARMAN, J. J.1982. Current concepts on the biology, evolution and taxonomy of tissue cyst-forming eimeriid coccidian. Adv. Parasitol. 20:293.
51. TELLO, R. 2000. Coccidiosis. Diagnóstico. 39:118-119.
52. TÉLLEZ, J. 1992. Tecnología e Industrias Cárnicas. 1ª .Edición. Tomo II. Edit. Acribia. Zaragoza. P 360-374
53. TENTER, A.M. 1995. Current research on *Sarcocystis* species of domestic animals. Int. J. Parasitol. 25:1311-30.

54. URQUHART, G. M., ARMOUR, J., DUNCAN, J. L., DUNN, A. M., JENNINGS, F. W. 1996. Veterinary Parasitology. 2^a . Ed. Blackwell Science. Oxford. 307 p.
55. VILCA, M. 1991. Producción, Tecnología e Higiene de la Carne. En: Avances y Perspectivas del Conocimiento de los Camélidos Sudamericanos. FAO. Santiago, Chile. 429 p.
56. WHITE, S. 1998. Sarcocystosis: A Parasite Endemic to Andean Alpacas. Vol III, N° 1. The Alpaca Registry Journal; en: www.alpacaregistry.net/journal/win98j-12.html

APÉNDICE

ENSAYO DE VIABILIDAD DE QUISTES

Se desarrolló de manera complementaria al experimento para determinar si mediante los tratamientos cárnicos que se emplearon se inactivan los macroquistes de *S. aucheniae*, es decir, observar si el ciclo de la infección en el canino queda interrumpido.

Preparación y mantenimiento de los perros. Conformación de grupos experimentales

Se adquirió 18 perros cachorros de distinto sexo de aproximadamente 3 a 5 meses de edad, que fueron mantenidos en los caniles de la FMV-UNMSM, en cuarentena, durante el tiempo de duración del experimento. Los caniles fueron limpiados, desinfectados y flameados antes de la llegada de los cachorros. Los perros fueron evaluados clínicamente y observados para verificar el estado sanitario de forma individual. Luego se les desparasitaron con una combinación de Praziquantel y Febendazol en dosis de 50 mg/kg de peso vivo durante tres días consecutivos para los parásitos internos y con Fipronil en aerosol en dosis de 7.5 a 15 mg/kg de peso para los parásitos externos.

Previo al tratamiento y luego de él se realizó el control parasitológico de los canes mediante examen copoparasitológico.

Posteriormente los cachorros fueron vacunados contra Distemper, Hepatitis, Parvovirus, Parainfluenza y Leptospirosis para mantener y asegurar un estado óptimo de salud en los canes.

Los perros fueron alimentados con alimento concentrado comercial (aproximadamente 250 g diarios a cada uno) y agua *ad libitum* durante el tiempo que se llevó a cabo el experimento. Diariamente se limpiaron y

desinfectaron los caniles y se evitó que los cachorros tengan contacto con otros animales no tratados o extraños.

Los perros estuvieron distribuidos en los siguientes grupos de 2 perros c/u:

- a) Grupo Control Positivo (2): Fueron alimentados con aproximadamente 100 quistes macroscópicos o más contenidos en aproximadamente 200 g de carne cruda de alpaca.
- b) Grupo Tratamiento (14) : Fueron alimentados con aproximadamente 100 quistes macroscópicos ó más contenidos en aproximadamente 200 g de carne de alpaca con macroquistes de *S. aucheniae* a la que previamente se le aplicó uno de los tratamientos tecnológicos descritos.
- c) Grupo Control Negativo (2): Fueron alimentados sólo con alimento concentrado comercial.

Examen coproparasitológico

El examen de heces se realizó al momento de la llegada de los perros para observar su estado y formular el programa de desparasitación que se debía realizar. Para el examen de heces se aplicó el método de flotación con solución saturada de sal (Leguía y col., 1989), a las heces de los perros desde 5 días antes del ensayo hasta los 20 días posteriores, para verificar presencia/ausencia de parásitos gastrointestinales, como si los perros eliminaban o no ooquistes de *Sarcocystis aucheniae* en la materia fecal, y determinar así si el tratamiento físico – químico dado a la carne de alpaca inactivó o no los macroquistes de *Sarcocystis aucheniae*.

RESULTADOS DEL ENSAYO DE VIABILIDAD DE MACROQUISTES

En el ensayo de viabilidad de macroquistes que se llevo a cabo con los perros, como se muestra en el cuadro 3, los resultados obtenidos de acuerdo a los exámenes coproparasitológicos, muestran que la mayoría de los tratamientos brindados a la carne de alpaca en el experimento inactivaron los quistes, ya que los perros de dichos grupos experimentales no eliminaron esporoquistes; excepto los del grupo experimental C, correspondiente al tratamiento físico – químico de ahumado en frío (20 -22º C) durante 24 horas que sí eliminaron esporoquistes. Los perros del grupo control positivo eliminaron igualmente esporoquistes, confirmando así la infectividad de la carne de alpaca con quistes de *S. aucheniae*. Asimismo, los canes del grupo control negativo alimentados con alimento concentrado comercial no eliminaron esporoquistes hasta el término del experimento. Leguía (1990) reporta que perros alimentados con carne congelada (-10ºC x 10 días), cocida (80ºC x 5 minutos) y deshidratada (charqui); no eliminaron esporoquistes, precisando que estos métodos constituyen medios efectivos para la destrucción e inactivación de este parásito en su ciclo de vida en el hospedador definitivo, lo cual coincide con lo encontrado en el presente estudio.

Por lo tanto, queda demostrado que los tratamientos: ahumado en caliente durante 2 horas, ahumado en caliente durante 4 horas, curado húmedo, curado seco, curado húmedo y ahumado, y curado seco y ahumado inactivan al *S. aucheniae*. Esto podría deberse, en el caso de los tratamientos de ahumado, a la acción del humo que tiene efecto bacteriostático, bactericida y desinfectante a una determinada temperatura; y en el caso de los tratamientos de curado, a la acción de sal curante de nitritos que tienen efectos inhibitorios sobre algunos microorganismos y bacterias. Finalmente, se podrían extrapolar estos tratamientos en beneficio de la salud pública, para estudios posteriores en carnes parasitadas con *S. bovi hominis* y *S. sui hominis*, donde el hombre actúa como hospedador definitivo.

Cuadro 3.- Resultados del examen coproparasitológico (heces) en perros para la detección de ooquistes o esporoquistes, luego de la inoculación de macroquistes de *S. aucheniae* , en los diferentes grupos experimentales. Lima, 2003.

GRUPOS EXPERIMENTALES (2 por grupo)	RESULTADO DE EXAMEN DE HECES	DÍAS DE OBSERVACIÓN
CONTROL POSITIVO	Positivo	25
	Positivo	
GRUPO A (Ahumado en caliente por 2 hrs.)	Negativo	25
	Negativo	
GRUPO B (Ahumado en caliente por 4 hrs.)	Negativo	25
	Negativo	
GRUPO C (Ahumado en frío por 24 hrs.)	Positivo	25
	Positivo	
GRUPO D (Curado húmedo)	Negativo	25
	Negativo	
GRUPO E (Curado seco)	Negativo	25
	Negativo	
GRUPO F (Curado húmedo y ahumado)	Negativo	25
	Negativo	
GRUPO G (Curado seco y ahumado)	Negativo	25
	Negativo	
CONTROL NEGATIVO	Negativo	25
	Negativo	