

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA**

**E. A. P. DE MEDICINA VETERINARIA**

**Saneamiento y detoxificación de carne de llama (Lama  
glama) con Sarcocystis aucheniae mediante cocción,  
horneado, fritura y congelado**

**TESIS**

para optar el título profesional de Médico Veterinario

**AUTOR**

Roxana Beatriz Godoy Zegarra

**Lima – Perú**

**2006**

## **Dedicatoria**

---

*A Dios padre mío y a mis Queridos Tíos que están en el cielo Nola R. y José A. A mi familia por el amor y el apoyo incondicional que me ofrecen día a día, a mi Madre Clara Z. y a mi Padre Poly G. Por estar siempre a mi lado. A mi Tía Violeta, a mi Mamita Mayela, y a mis hermanos Richard y Milagros, los quiero mucho. ....*

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a la colaboración de los miembros de jurado por la revisión de la tesis, Dra. Perales, Dra. Casas y Dr. Manchego, el director de tesis Dr. Vilca y a mi asesor Dr. Gonzales, definitivamente sin su ayuda no habría conseguido desarrollar la tesis.

La obtención de los inóculos corresponde al apoyo del área de inmunológica, Dr. Sam a la cual agradezco su ayuda y paciencia. Al Dr. Alvarado por el apoyo ofrecido en el Laboratorio de Patología Clínica. Al Dr. Leyva por sus sugerencias e ideas ofrecidas para el desarrollo de la investigación. Al apoyo del área de Epidemiología y Estadística, Dr. Falcón y Dr. Gavidia gracias por la revisión y por contribuir en la tesis.

Agradezco también a la fuente de financiamiento Incagro Sub-proyecto “Estrategias de manejo genético y sanitario para la expresión de la capacidad genética de un núcleo de reproducción de llamas para producción de carne”.

Asimismo doy gracias a todas las personas que me apoyaron durante todo el tiempo que duro el desarrollo de la tesis, a mis amigos a los cuales los llevo en mi corazón déjenme decirles que son todos un amor de gente.

## TABLA DE CONTENIDO

TABLA DE CONTENIDO.....	i
RESUMEN.....	iii
SUMARY.....	iv
INDICE DE ABREVIATURAS.....	v
LISTA DE CUADROS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	vii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
1. PRODUCCIÓN DE CAMÉLIDOS EN EL PERÚ.....	3
2. LA CARNE DE LLAMA Y ALPACA.....	4
2.1. Características Organolépticas y Nutritivas.....	4
2.2. Importancia y Problemática de la Producción de Carne de CSA.....	4
2.3. Aplicaciones Industriales de la Carne de CSA.....	7
3. <i>SARCOCYSTIOSIS</i> .....	8
4. <i>SARCOCYSTIOSIS</i> EN CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS.....	10
4.1. Ciclo Biológico del <i>Sarcocystis</i> sp.....	11
4.1.1. Infección en el Hospedero Definitivo.....	11
4.1.2. Infección en el Hospedero Intermediario.....	12
4.2. Signos.....	13
4.2.1. En los Hospederos Definitivos.....	13
4.2.2. En el Hospedero Intermediario.....	13
4.3. Patología del <i>Sarcocystis</i> .....	14
4.3.1. Patología en el Hospedero Definitivo.....	14
4.3.2. Patología en el Hospedero Intermediario.....	14
4.4. Diagnóstico.....	16
4.4.1. En el Hospedero Definitivo.....	16
4.4.2. En el Hospedero Intermediario.....	16
4.5. Epidemiología.....	17
4.6. Tratamiento de la Sarcocystiosis en el Hospedero.....	19
4.7. Tratamiento de la Sarcocystiosis en la Carne Infeccionada.....	20
4.8. Control del <i>Sarcocystis</i> sp.....	21
5. IMPORTANCIA EN SALUD PÚBLICA DE LA <i>SARCOCYSTIOSIS</i> .....	22
6. DESNATURALIZACIÓN PROTÉICA.....	24
7. TRATAMIENTOS FÍSICOS DE LA CARNE.....	25
7.1. FRÍO.....	25
7.1.1. Congelación.....	26
A. Modificaciones Físicos y Químicos.....	27
B. Modificaciones Biológicas.....	28

7.2.	CALOR.....	29
	A. Modificaciones Físicas y bioquímicas.....	30
	B. Modificaciones Biológicas.....	32
III.	MATERIALES Y METODOS.....	34
1.	LUGAR DE ESTUDIO.....	34
2.	ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.....	34
	2.1. Obtención y Preparación de los Conejos.....	34
	2.2. Obtención y Preparación previa de los Perros.....	35
3.	METODOLOGÍA.....	36
	3.1. Preparación de la Carne de Llama.....	36
	3.2. Evaluación Biológica de la Carne de Llama.....	39
	3.2.1. Tamaño Muestral y Distribución de los Animales.....	39
	3.2.2. Evaluación de la Detoxificación de Carne de Llama Tratada por los métodos físicos.....	41
	3.2.2.1. Preparación del Inóculo.....	41
	3.2.2.2. Determinación de la concentración proteínas totales proveniente de los extractos de bradizoitos de <i>S.aucheniae</i> .....	42
	3.2.3. Evaluación del Riesgo Potencial de Infección del Hospedero Definitivo.....	43
	3.2.3.1. Examen Copro-parasitológico.....	43
	3.3. Análisis de los Resultados.....	43
IV.	RESULTADOS.....	44
1.	Evaluación de la Detoxificación de la Carne de Llama.....	44
2.	Evaluación de la Interrupción del Ciclo Biológico de <i>Sarcocystis</i> .....	48
V.	DISCUSIÓN.....	49
VI.	CONCLUSIONES.....	52
VII.	LITERATURA CITADA.....	53
	ANEXO.....	61
	INDICE HONOMÁSTICO.....	63

## INDICE DE ABREVIATURAS

CSA	:	Camélidos Sudamericanos.
Conacs	:	Consejo Nacional de Camélidos Sudamericanos.
CONCYTEC	:	Consejo Nacional de Ciencia, tecnología e innovación, tecnológica y Tecnología.
CID	:	Coagulación Intravascular Diseminada
ELISA	:	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay Inmuno (Ensayo Enzimático).
EDTA/Cu	:	Ethylenediaminetetraacetic acid, copper
SPF	:	Simulated Body Fluid (Tampon Salino Fosfatado).
Minag	:	Ministerio de Agricultura.
<i>S. aucheniae</i>	:	<i>Sarcocystis aucheniae</i> .
FMV	:	Facultad de Medicina Veterinaria.
UNMSM	:	Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
CRA	:	Capacidad de Retención de Agua.
NOBIVAC® DHPPi	:	Vacuna combinada a virus vivo modificado contra virus de Distemper canino (CDV), Adenovirus canino tipo I (CAV1) y II (CAV2), Parvovirus canino (CPV) y Virus Parainfluenza canina (CPi).
PV	:	Peso Vivo
IL-1	:	Interleukin 1 (Interleuquina 1)

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Distribución de animales según el método físico y la evaluación de los parámetros biológicos.....	40
Cuadro 2. Temperatura rectal promedio por grupo experimental en conejos, registrado antes de la inoculación y a 1h, 4h, 8h, 16h post inoculación de la sustancia proteica de <i>S. aucheniae</i> .....	45
Cuadro 3. Supervivencia de conejos post inoculación de Sustancia proteica (extracto de bradizoito de Sarcocystis) del grupo control positivo.....	47
Cuadro 4. Número de quistes y concentración de proteínas medidas en µg. por ml. Obtenidos de carnes tratada y no tratada por métodos físicos.....	61
Cuadro 5. Dosis de inóculo estandarizado a 1ml. Conteniendo 100µg/Kg PV de sustancia proteica obtenida de los quistes de las carnes tratadas y no tratadas físicamente.....	62

## LISTA DE FIGURAS

Fig. 1	Desnaturalización Proteica (Lesk, 2001).....	24
Fig. 2	Jaula Tipo Batería con los Conejos de Experimento.....	35
Fig. 3	Canil de Experimentación (perros de experimento).....	36
Fig. 4	Zona del Cuello de Llama con Macroquistes de <i>Sarcocystis</i> .....	37
Fig. 5	Carne de Llama Expuesta al Calor (cocción).....	38
Fig. 6	Carne de Llama Expuesta al Frío (congelado).....	38
Fig. 7	Ultrazonicado de Bradizoitos de <i>Sarcocystis</i> .....	42
Fig. 8	Inóculos de Experimento Conteniendo Extracto de Macroquistes....	43
Fig. 9	Conjuntiva Ocular Congestionada en Conejos.....	46
Fig. 10	Diarrea Observada en Conejos post Inoculados.....	46
Fig. 11	Muerte de Conejo del Grupo Control Positivo.....	47
Fig. 12	Hemorragia en el Endocardio.....	48



## RESUMEN

Con el objetivo de sanear y detoxificar carne de llama infectada con *Sarcocystis aucheniae* fue tratado con los métodos físicos cocción (100° por 10 min.), horneado (105°C por 65 min.), fritura y congelado (-20°C por 10 días). Es decir, volviéndolo inviable al parásito y desnaturalizando la proteína contenida dentro del macroquiste la cual es tóxica para el humano. Sustancia proteica a partir de extracto de macroquistes provenientes de carnes tratada físicamente y no tratada fueron inoculados subcutáneamente en conejos (30) a dosis de 100µg de proteína por kilogramo de peso vivo. Así mismo, cachorros (13) fueron alimentados aprox. con 200gr de carne de llama tratada físicamente y no tratada conteniendo un mínimo de 100 macroquistes de *Sarcocystis aucheniae*. Ningún conejo perteneciente a los grupos tratados físicamente murió en el transcurso del experimento, sólo los conejos pertenecientes al grupo congelado presentaron moderada sintomatología tóxica caracterizada por hipertermia, anorexia, congestión de mucosas y depresión. Los perros pertenecientes al grupo tratado por los métodos físicos no eliminaron esporoquistes durante los 30 días de observación que duró el experimento.

**Palabras claves:** *Sarcocystis aucheniae*, macroquistes, esporoquistes, conejos, perros.

## SUMMARY

With the objective to sanitize and to detoxify meat of llama infected with *Sarcocystis aucheniae* was dealt with the physical methods boiled (100°C by 10 min.), baked (105°C by 65 min.), dried and frozen (-20°C by 10 days). That is to say, returning it nonviable to the parasite and denaturing the protein contained within the macrocyst which is toxic for the human. Protein substance from extract of originating macrocysts of meats treated and physically treated was not inoculated subcutaneously in rabbits (30) to dose of 100µg of protein by kilogram of body weight. Also, puppies (13) were fed approx with 200gr on meat on llama treated and physically not treated containing a minimum about 100 macrocysts of *Sarcocystis aucheniae*. No rabbit pertaining to the treated groups physically died in the course of the experiment, only the rabbits pertaining to the frozen group displayed moderate toxic symptomatology characterized by hyperthermia, anorexia, congestion of mucous and depression. The dogs pertaining to the group treated by the physical methods did not eliminate sporozoites during the 30 days of observation that lasted the experiment.

**Key words:** *Sarcocystis aucheniae*, macrocysts, sporozoites, rabbits, dogs.

## I. INTRODUCCIÓN

La *Sarcocystiosis* es una enfermedad importante en salud pública debido a los trastornos digestivos presentados por personas luego de consumir carnes infectadas con quistes de *Sarcocystis*. Este hecho se atribuye a la sustancia tóxica (sarcocystina) que se encuentra dentro del quiste. Esta sustancia presenta una actividad neurotóxica a nivel de músculo cardíaco y tejido nervioso gastrointestinal (Hiepe *et al.*, 1981). Las personas, principalmente niños que consumen en forma cruda o mal cocida carne de llama infectada con quistes de *Sarcocystis* presentan dolor abdominal, diarrea, escalofríos, náuseas y vómitos. (Leguía, 1989<sup>a</sup>) Estos signos son más drásticos después de consumo de músculo cardíaco infectado con microquistes (Leguía, 1999).

*Sarcocystis* es un parásito que necesita de un hospedero definitivo para desarrollarse, siendo el perro el que interviene en la *Sarcocystiosis* en camélidos sudamericanos (Leguía, 1987). Los perros infectados, eliminan millones de esporoquistes por las heces permaneciendo viables por meses en condiciones de humedad y bajas temperaturas, contaminando los pastizales que serán consumidos por los Camélidos Sudamericanos (CSA) (Leguía, 1999). El ciclo biológico de *Sarcocystis* es de tipo predator-presa, con estadios sexuales en el intestino del predator (hospedero definitivo) y reproducción asexual en el endotelio vascular y músculos de la presa, (hospedero intermediario) (Leguía *et al.* 1989<sup>a</sup>). Actualmente se reportan conocen tres especies de *Sarcocystis* en los

CSA, *Sarcocystis tilopodi* (*S. guanicoecanis*) en guanacos, *Sarcocystis aucheniae* en alpacas, llamas y vicuñas y *Sarcocystis lamacanis* en llamas y alpacas (Leguía, 1999).

*S. aucheniae* produce quistes macroscópicos en las fibras musculares esqueléticas del esófago, costillar, lomo, brazuelo y cuello (Medrano, 2006; Castro, 1973, Guerrero *et al.*, 1967). Su prevalencia en llamas y alpacas se encuentra entre 70 a 100%, y lleva a pérdidas económicas por decomiso de canales de aproximadamente 300.000 dólares anuales (Leguía, 1991; Alva *et al.*, 1980). Esta enfermedad entraña una relación entre hospederos, los cuales mayormente se infectan en ambientes rurales (Cordero del Campillo, 1999). Por lo tanto, la estrecha convivencia de los perros con los CSA y el acceso de éstos a su carne hacen difícil su control al igual que la hidatidosis (Leguía, 1991). Siendo el hombre muchas veces el difusor de esta enfermedad debido a la alimentación de sus mascotas (perros) con huesos conteniendo músculos o despojos como esófago, vejiga y corazón (Cordero del Campillo, 1999).

Una alternativa de solución a este problema limitante en la producción de carne camélida es sanearla es decir volverla inocua. Un método muy antiguo es la preparación de charqui pero, se puede aplicar otras tecnologías (Leguía y Arévalo, 1990). Sin embargo el problema más importante en *S. aucheniae* es la toxina, ésta toxina es de característica protéica (Sam, 1988). por tanto puede ser desnaturalizada y perder su actividad biológica mediante tratamientos que causen dicha acción (Durán, 2004). Por lo expuesto anteriormente, los objetivo del presente estudio tienen como finalidad identificar los métodos físicos que logren detoxificar la carne de llama parasitada con *S. aucheniae*. La carne de llama usualmente llega a los perros de los alpaqueros y de otros consumidores de esa carne, por tanto, también se evaluará el riesgo potencial de infección del hospedero definitivo verificando la interrupción del ciclo biológico de *S. aucheniae* a consecuencia de los métodos físicos aplicados a las carnes parasitadas.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 1. PRODUCCIÓN DE CAMÉLIDOS EN EL PERÚ

De las seis especies de camélidos existentes en el mundo cuatro son sudamericanas. Las cuales mayormente se ubican en el altiplano del Perú y Bolivia. Los Camélidos considerados especies silvestres son la Vicuña (*Vicugna vicugna*) y el Guanaco (*Lama guanicoe*), y como especies domésticas a la llama (*Lama glama*) y la alpaca (*Lama pacos*) (Moro, 1968; Escóbar, 1999).

La población de CSA se estima en 7 481 205 cabezas, y se encuentran en un 90 % en Perú y Bolivia. No obstante, la mayor población de alpacas y llamas se encuentra concentrada en el altiplano del sur del Perú (Gamarra, 1994).

Su crianza representa uno de los pocos medios que hace posible el aprovechamiento de la vegetación natural dispersa en las zonas altas de los andes, donde la agricultura y ganadería común no son viables (Howard, 1996). Por lo tanto constituyen el único medio de subsistencia de las familias campesinas de estos lugares (Conacs, 2004; Minag, 2004). Además su crianza esta orientada a la producción de fibra (Gamarra, 1994).

## **2. LA CARNE DE LLAMA Y ALPACA**

### **2.1. Características Organolépticas y Nutritivas.**

La carne de los CSA se caracteriza por su color rojo cereza, olor sui géneris, sabor agradable y textura medio suave, pero como en todas las especies animales las características sensoriales varían con la edad, sexo, estado sanitario y fundamentalmente la nutrición, sin embargo las carnes provenientes de animales engordados tienen un sabor más acentuado debido al componente graso cambiando su color a un rojo cremoso (Tellez, 1992).

En base a la composición química de la carne de Camélidos criados tradicionalmente se deduce el gran valor alimenticio, presentando un 77.22% de tejido muscular, 21.62% de tejido óseo y 1.16% en tejido adiposo (Tellez, 1992). Su calidad nutritiva con relación a otras especies es superior por poseer mayores niveles proteicos, donde la llama presenta un 24.82% y la alpaca 21.88 %. Por otra parte la llama posee un bajo tenor graso y sus niveles de colesterol en carne son mínimos, menores inclusive que la carne de res y con un sabor muy agradable (Escóbar, 1999).

### **2.2. Importancia y Problemática de la Producción de Carne de CSA.**

La carne de Camélidos en su forma fresca o deshidratada (charqui) constituye una de las principales fuentes de proteína de los habitantes de las alturas andinas. Existiendo un aumento en la demanda de carne de CSA en Perú y Bolivia (Leguía, 1989a; Ayala, 1999). La carne es un recurso tan importante como la fibra que produce desde un punto de vista económico y social en un país como el nuestro donde todavía no se ha podido resolver el problema alimentario (CONCYTEC, 1988).

Los CSA se han criado para producir fibra pero la producción de carne es cada vez más importante. Por cada llama criada en una empresa asociativa se produce 9.2 kilos de carne anual y en las comunidades sólo 8.6 kg; la carne de alpaca llega a 4.0 Kg. y 2.7 Kg, respectivamente. En las empresas del centro del

Perú la producción de carne es mayor debido a la alta natalidad (62%) que el promedio en Puno (50%), además la mortalidad es más baja y se practica el engorde con pasturas cultivadas. No obstante, la gran caída de los precios de la fibra ha hecho que la proporción del peso económico de la carne sobre la fibra se haya invertido, por lo cual la proporción de ingresos resulta de 66% para carne y 34% para fibra (Gamarra, 1994).

Muy poco se considera a la Llama como animal de saca por ser usado preferentemente como animal de carga, sin embargo ésta presenta excelentes perspectivas como animal carnicero por su alto rendimiento y peso (Vilca, 1996), tomando en cuenta la altura media de 1-1,2 mts a la cruz y el peso aprox. de 120 Kg. Además, la Llama es más rústica que la alpaca y los ovinos, presentando menores exigencias en su alimentación, siendo más eficiente en la conversión alimenticia que otras especies domésticas (Franco *et al.*, 1998).

En cuanto a los precios de comercialización, el precio de la carne de CSA es menor que la carne de res (Escóbar, 1999). En Puno la carne es 30-40% menos que la de vacuno y ovino, en el centro su precio es 50% menos y la menudencia tiene escaso o nulo valor igual que la piel de adultos (Gamarra, 1994). Actualmente la comercialización de carne de camélidos es uno de los problemas más agudos de todo el sistema de producción. Este producto no ha logrado aun su valorización comercial, Por lo tanto se pierde un apreciable volumen de su producción (Ayala, 1999).

Se han señalado varios factores que limitan el mayor consumo de carne a mejores precios, como son: el rechazo por prejuicios socioculturales de los estratos de mayores ingresos en el mercado del consumidor urbano, alto decomiso por la incidencia de *Sarcocystiosis*, falta de normas técnicas de clasificación de carnes, falta de canales de comercialización adecuados, falta de canales adecuados y técnicas de beneficio, distorsión de precios por intermediación comercial (Gamarra, 1994; Rojas, 1994; Tellez, 1992; Ramirez *et al.*, 1998).

La *Sarcocystiosis* es un protozoo que afecta en forma masiva las fibras musculares esqueléticas, cardiacas y a veces células del sistema nervioso central, formando quistes microscópicos y macroscópicos (Leguía *et al*, 1990b). Esta característica asexual del parásito proporciona un mal aspecto a la carne, confundiendo con otras enfermedades de índole zoonótico (triquinosis y cisticercosis) no reportadas en camélidos (Ayala, 1999). Estudios efectuados por Castro *et al.*, (2004) indican que la infección con *Sarcocystis* en CSA es generalmente subclínica y aumenta a partir del primer año de edad, presentando un 89.7% de seropositividad al análisis de Elisa Indirecta.

En el Perú se han establecido parámetros de selección para el beneficio de CSA, estableciendo medidas basadas en la edad de los animales. Sabiendo que a menor edad la presentación de este parásito es menor (Sánchez y Torres, 2001) y, cuanto más adulta se sacrifica la Llama o Alpaca, la carne está más severamente invadida de quistes, lo que baja su valor comercial llevándose a veces al decomiso de toda la carcasa (Leguía, 1989<sup>a</sup>; Alva *et al.*, 1980). Los animales que tienen más de 3 años presentan un 100% de parasitosis, de 2.5 a 1.5 años representan un porcentaje bajo (Sánchez y Torres, 2001).

Las pérdidas que ocasionan los parásitos más comunes en la crianza de los camélidos es de 1 542 320 dólares anuales, dentro de los cuales se determinó que *Sarcocystis auchenia* y *Lamanema chavezii* son objeto de decomiso (CONCYTEC, 1988). En 1980, Alva determinó que la *Sarcocystiosis* causa pérdidas económicas de \$ 294.547 dólares anuales, asimismo Leguía en 1991 reporta una pérdida de \$ 296 822.

Esta parasitosis atenta contra las ventajas comparativas que tienen los CSA frente a las carnes de otros animales domésticos, tomando en cuenta el porcentaje de proteína y grasa (Rojas, 2004). Asimismo, las investigaciones científicas efectuadas en el mejoramiento genético y nutricional de los animales, se ven mermadas por la parasitosis masiva que encuentran las llamas y alpacas en su medio ecológico (Howard, 1996). No obstante, las pérdidas económicas por *Sarcocystis* no han sido cuantificadas ni tan siquiera aquellas que se derivan de



los daños directos como son, disminución de la producción y abortos (Dubey, 1976; Dubey, 1983; Cordero del Campillo, 1999).

### 2.3. Aplicaciones Industriales de la Carne de CSA.

La carne de CSA es una fuente de sustento en las zonas de crianza y también un producto muy útil para fines de comercialización mostrando buenas perspectivas para el mercado industrial (Vilca, 1996). Por su valor nutricional podría crear pequeñas actividades agroindustriales logrando desarrollo y fomento, así como una mayor retribución económica y una diversificación de productos cárnicos para su consumo (Tellez, 1992).

La carne de camélidos es utilizada en el procesamiento de embutidos, carne enlatada, carne deshidratada y una variedad de productos de gran aceptación. Actualmente los productores alpaqueros del distrito de Pilpichaca, en Huancavelica, iniciaron la venta de dos toneladas quincenales de carne de alpaca y llama a la empresa Salchichería Alemana, que luego de rigurosos estudios de calidad, se encuentra industrializando gran variedad de embutidos de este camélido, de esta manera, la carne se venderá a 6 soles ochenta el kilo, generando ganancias por 13 mil 600 soles, ingresos económicos nunca antes registrados por el sector alpaquero en Huancavelica (Conacs, 2004).

Tratamientos expuestos por Leguía y Arévalo (1990) establecieron que la cocción (80°C por 5 min.), congelación (-10°C por 10 días), y el seco-salado (charqui) constituyen medios eficaces para lograr sanear la carne. Estos tratamientos podrían permitir la utilización de carne de llama infestada como carne industrial evitando su decomiso. Sin embargo, es necesario inactivar la toxina contenida dentro del quiste (sarcocistina) (Hiepe et al, 1981). La cual presenta características intrínsecas como molécula protéica, por tanto puede ser alterada estructuralmente, llevándola a su desnaturalización y consecuentemente, a la pérdida de su letalidad (Sam *et al.*, 1998; Durán, 2004). Si bien es cierto, existen tecnologías para la transformación de esta carne hay factores en contra, como la presencia de *Sarcocystis*, que disminuye su calidad sanitaria (CONCYTEC, 1988).

### 3. **SARCOCYSTIOSIS.**

El *Sarcocystis* es un organismo unicelular (protozoo), parásito que al igual que *Toxoplasma gondii* se encuentran parasitando la musculatura de los animales y el hombre. Desde su descubrimiento por Miescher en 1843 los sarcosporidios se han descrito en la musculatura de reptiles, aves y casi todos los mamíferos incluidos el hombre (Mehlhorn y Plekarski, 1993; Fayer, 1976). Los *Sarcocystis sp.* habitualmente se desarrollan en un ciclo de 2 hospederos que comprende un hospedero intermediario (presa) y un hospedero definitivo (predador) (Rojas, 2004).

Originalmente se creía que cada tipo de hospedero intermediario solo era afectado por una especie de *Sarcocystis* y que los distintos quistes que se encontraban en un mismo hospedador eran estadios evolutivos de un mismo parásito, sin embargo experimentos han demostrado que un hospedador definitivo o intermediario puede estar parasitado por varias especies de *Sarcocystis* (Dubey, 1983; Fayer *et al*, 1976). Como es el caso de la zarigüeya (*Didelphys virginiana*) que padece infecciones mixtas con *S.neurona*, *S.falcatula* y *S.speeri* actuando como hospedero definitivo (Dubey, 2000a). Su ciclo completo permaneció oscuro hasta 1972, donde Fayer observó en cultivos celulares conjuntos de zoítos quísticos, gametos coccidianos y ooquistes en distintos estadios de evolución.

La taxonomía actual lo clasifica como Phylum Apicomplexa, Clase Sporozoasida, Subclase Coccidiasina, orden Eucoccidiorida, Familia Sarcocystidae, Subfamilia Sarcocystinae, Genero *Sarcocystis* (Levine, 1986). Actualmente se conocen varias especies de *Sarcocystis*, compuestos por más de 130 especies (Tenter, 1995).

Su reproducción asexual lo desarrolla en el endotelio vascular, en los músculos y en otros tejidos blandos en forma de macroquistes y microquistes, los cuales pueden encontrarse en varios hospederos intermediarios (hombre, caballos, bovinos, ovejas, cabras, cerdos, aves, roedores y reptiles). Su tamaño varía según el hospedero y la especie del parásito (Dubey, 2000a).

Los merozoitos en las células endoteliales y los metrocitos en el tejido muscular son semejantes a las formas equivalentes de *Toxoplasma*, sin embargo, los bradizoitos difieren del *Toxoplasma* ya que presentan una pared gruesa y están divididos por tabiques que separan los parásitos en grupos. Estas enormes formaciones (quistes) están incluidas dentro de la célula hospedera la cual queda reducida en un estrecho ribete (Radchenko y Beier, 2004). Los zoitos poseen organelas secretoras que contienen proteínas necesarias para la invasión de la célula hospedera y la supervivencia intracelular (Hoane, 2003).

La envoltura primaria de los quistes se caracteriza en las distintas especies de *Sarcocystis* por las invaginaciones más variadas donde el parásito mismo es el que determina su formación (Mehlhorn y Plekarski, 1993). En el interior de las formaciones puede haber túbulos, microtúbulos, filamentos y gránulos de diferentes tamaños, la función de estas estructuras aun se desconoce (Melo, 2003). La entrada de los nutrientes en el interior del quiste se realiza mediante la formación de vesículas en determinados puntos no engrosados de la envoltura primaria. Así mismo, los parásitos que se encuentran dentro del quiste reducen drásticamente su metabolismo en cuanto adquieren la forma de bradizoitos plataniforme (Radchenko y Beier, 2004; Mehlhorn y Plekarski, 1993).

La reproducción sexual se desarrolla en las células intestinales del hospedero definitivo donde se forman macrogametos, microgametos y oocitos, estos oocitos esporulan dentro del hospedador formando ooquiste esporulados. Los ooquiste presentan un tamaño aproximado de 12-16 por 9-11  $\mu\text{g}$  y son de tipo *Isospora* (dos esporoquistes con 4 esporozoitos cada uno), los cuales salen al medio ambiente esporulados, poseen forma elipsoide, carecen de cuerpo de Stieda y en su interior aparte de los esporozoitos contienen por lo general un residuo granular disperso o con forma de mórula, localizado lateralmente o en uno de sus polos. La pared del ooquiste es muy delgada y frágil, a menudo se rompe fácilmente en su trayecto intestinal dejando libres a los esporoquistes (Fayer, 2004).

*Sarcocystis* es poco patógeno para el hospedero definitivo, sólo *S.suihominis* puede causar una enfermedad de cuidado en el humano (Acha,

2003). Asimismo perros y gatos han sido infectados con varias especies de *Sarcocystis* pero, sólo algunos perros mostraron vómitos o una anorexia pasajera (Barriga, 2002; Leguía *et al.*, 1990<sup>b</sup>). Su patogenicidad reside principalmente sobre el hospedador intermediario (Rojas, 2004; Ramírez *et al.*, 1998, Mehlhorn y Plekarski, 1993). Las infecciones débiles reducen la tasa de crecimiento de los animales de engorde, haciendo necesario un alargamiento del periodo de cebo (Leeke *et al.*, 1977; Dubey, 1976; Dubey *et al.*, 2000<sup>b</sup>; Duncan *et al.*, 2000).

Por otro lado, la *Sarcocystiosis* presenta importancia en salud pública ya que el hombre puede actuar tanto de hospedador definitivo como intermediario para algunas especies de *Sarcocystis* (Fayer, 2004). En 1968 se observó por primera vez un presunto sarcocisto en los músculos del hombre, al que se le denominó *S. lindemani*, la relación ecológica entre la especie y el hombre todavía es incierto. Actualmente no se ha investigado la patogenicidad de éstos quistes tisulares pero se ha relacionado a procesos de debilidad muscular, dolores musculares, miositis, periarteritis, tumefacción subcutánea y vasculitis (Acha, 2003).

#### **4. SARCOCYSTIOSIS EN CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS.**

Se han reportado 3 especies de *Sarcocystis* en CSA, *S. tilopodi* (*S. guanicoecanis*) en guanacos, *S. aucheniae* en alpacas, llamas y vicuñas, estas dos especies producen quistes macroscópicos de crecimiento y maduración lenta en la musculatura esquelética y *S. lamacanis*, en alpacas y llamas el cual produce quistes microscópicos infectivos en corto tiempo en la musculatura miocárdica y esquelética (Leguía, 1999). Su ciclo biológico es de tipo predador-presa, con estadios sexuales en el intestino del predador u hospedero definitivo y reproducción asexual en el endotelio vascular y músculos de la presa u hospedero intermediario (Leguía, 1989<sup>a</sup>). Por lo tanto, experimenta esporogonia y gametogonia en el intestino del hospedero definitivo y, esquizogonia, fisión múltiple y enquistamiento en los tejidos de los hospederos intermediarios (Dubey, 1983; Fayer *et al.*, 1976).

#### 4.1. Ciclo Biológico del *Sarcocystis sp.*

Es una coccidia de ciclo indirecto, por lo tanto necesita de 2 hospederos para su desarrollo, a los predadores como hospederos definitivos y a las presas como hospederos intermediarios (Rojas, 2004). Los perros y carnívoros silvestres se infectan al ingerir carne cruda parasitada con micro y macroquistes (Dubey, 1976; Fayer 2004). y los CSA (hospederos intermediarios) adquieren la infección al ingerir pasto o agua contaminada con ooquistes esporulados (Leguía, 1999).

##### 4.1.1 Infección en el Hospedero Definitivo.

Luego de ingerir los perros y cánidos silvestres la carne parasitada, los bradizoitos plataniformes son liberados por digestión de los quistes en el estómago. Invadiendo inicialmente las células calciformes del epitelio del intestino delgado para pasar rápidamente a la lámina propia, donde completan la gametogonia. Después de la fecundación del macrogameto por los microgametos flagelados y móviles se forma el cigoto rodeado de una pared compleja llamado ooquiste (Farmer *et al.*, 1978; Dubey, 1976, Cordero del Campillo, 1999). El periodo prepatente de *S. aucheniae* es de 11 a 20 días y de *S. lamacanis* de 9 a 14 días. Asimismo el periodo patente es de 20 a 42 días y 60 a 72 días respectivamente (Leguía *et al.*, 1989<sup>b</sup>).

La infección natural por *Sarcocystis sp.* en perros es asintomático y breve, cualquier perro que haya tenido acceso a consumir carne cruda parasitada eliminará ooquistes o esporoquistes de vez en cuando, padeciendo poco o ningún trastorno (Fayer, 2004). Cabe señalar que la infección se contrae por ingestión de carne del hospedero intermediario que contenga los quistes completamente desarrollados e infectivos (Georgi, 1994).

En CSA los quistes de *S. aucheniae* alcanzan su mayor tamaño y madurez entre 14 a 18 meses aproximadamente y *S. lamacanis* a partir de los 10 meses (Leguía, 1989<sup>a</sup>).

#### 4.1.2 Infección en el Hospedero Intermediario.

Después de la ingestión del ooquiste por el hospedero intermediario, los esporoquistes liberan a los esporozoitos, los cuales penetran en el revestimiento intestinal e invaden el endotelio del árbol arterial mesentérico (Dubey, 1983). Luego de unos días se produce la esquizogonia, los esquizontes de la primera generación se encuentran en células de identidad indeterminada situadas inmediatamente por debajo del endotelio, provocando la prominencia de éste hacia la luz. La segunda generación esquizogónica se desarrolla en las células endoteliales de los capilares de todo el cuerpo especialmente en pulmones y los glomérulos renales, cabe señalar que todos los estadios desarrollados en las células de los vasos sanguíneos tienen contacto directo con el citoplasma es decir, no existe vacuola parasitófora (Georgia, 1994, Mehlhorn y Plekarski, 1993).

Los merozoitos producidos por la segunda y posteriores generaciones de esquizontes se localizan preferentemente en las células musculares estriadas de contracción voluntaria e involuntaria (esofágica y cardíaca) y en las fibras de purkinje (algunas especies de *Sarcocystis*), formando los macroquistes y microquistes (Lindsay *et al.*, 2004). Inicialmente solo se encuentran células madre denominadas metrocitos, las cuales experimentan repetidas fisiones antes de diferenciarse en innumerables bradizoitos (Georgi, 1994). Los quistes se encuentran separados del citoplasma de la célula hospedadora por una vacuola parasitófora cuya membrana se llega a incorporar a la pared del quiste conservando durante más de un año su capacidad de infección (Georgi, 1994; Mehlhorn y Plekarski, 1993).

Los quistes de *Sarcocystis* en el Perú han sido hallados en canales de bovinos, alpacas y llamas, etc. Pero adquiere importancia en carcasas de camélidos por la mala presentación visual, llevando a decomisos (Rojas, 2004).

## 4.2. Signos.

### 4.2.1 En los Hospederos Definitivos.

Algunas especies de *Sarcocystis* pueden producir signos en los hospederos definitivos pero mayormente se observa la presentación subclínica de la enfermedad. En el hombre, *S. suihominis* provoca diarrea, vómitos, sudoración, escalofríos y colapso de la circulación, signos que empiezan a las 6 a 24 horas después de la ingestión y continúan por 12 a 24 horas después (Frenkel, 2000; Fayer, 2004).

Asimismo *S. lamacanis* puede ser muy patógena para el perro dependiendo de las susceptibilidades individuales, observándose cuadros clínicos agudos caracterizados por anorexia, fiebre, anemia, diarrea muco-sanguinolenta, incoordinación, postración y muerte (experimentalmente). (Leguía *et al.*, 1990a) Sin embargo, perros inoculados con macroquistes de *S. aucheniae* presentaron sólo diarrea muco-sanguinolenta (Leguía, 1987; Leguía *et al.*, 1989b).

### 4.2.2. En el Hospedero Intermediario.

La ingestión de un elevado número de esporoquistes de determinadas especies de *Sarcocystis* puede dar lugar a una grave enfermedad e incluso provocar la muerte en los hospedaderos intermediarios (Lane *et al.*, 1998; Duncan *et al.*, 2000). Asimismo, *S. suihominis*, *S. bovicanis* y *S. ovis* pueden provocar la muerte aun en infecciones leves. En bovinos se observa anorexia, pirexia (42 C, o más), anemia, caquexia, adenomegalia, sialorrea y pérdida de pelo en la extremidad de la cola y en ovinos anorexia, ataxia y aborto como los principales signos clínicos agudos (Dubey, 1976).

Si bien es cierto los CSA no presentan signos clínicos evidentes como ocurre en otros animales domésticos, se consideran a las lesiones vasculares como los daños esenciales en la patología de esta enfermedad (Ramirez *et al.*, 1998; Leguía, 1991). No obstante la enfermedad bajo condiciones de campo tiene generalmente un curso subclínico produciendo atraso en el crecimiento,

enflaquecimiento, fibra quebradiza, dificultad respiratoria después de caminatas normales y se hacen más susceptibles a contraer enfermedades infecciosas (Dubey, 1976; Leguía *et al.*, 1989b).

Sin embargo es posible la presentación de cuadros clínicos agudos y subagudos que pueden llegar a producir aborto y muerte de los animales debido a la alta contaminación del medio ambiente con esta coccidia (Dubey *et al.*, 1989). Experimentalmente Sam (1988), demostró que *S. lamacanis* era patógeno si el hospedero intermediario lo consumía en grandes cantidades. Asimismo Inoculó 160 000 esporoquistes de *S. lamacanis* a 3 tuis de alpacas, y observó un cuadro agudo entre 19 a 21 días post ingestión caracterizado por anorexia, fiebre, salivación excesiva, anemia, disnea, ausencia de movimientos ruminales, pérdida de peso, debilidad, incoordinación, postración y muerte entre 3 a 4 días después.

#### 4.3. Patología del *Sarcocystis*.

Los factores más importantes para el desarrollo de la enfermedad clínica se atribuyen al estado inmune del hospedero y a la cantidad de quistes y esporoquistes ingeridos. Por lo tanto el estrés, gestación, estado nutricional deficiente y lactación son los principales predisponentes a favorecer la gravedad de la infección (Cordero del campillo, 1999).

##### 4.3.1. Patología en el Hospedero Definitivo.

Sólo un perro murió experimentalmente luego de la inoculación de quistes de *S. lamacanis*. En la necropsia se observó palidez de las serosas, dilatación del intestino delgado con abundante contenido sanguinolento y biliar, mucosa intestinal edematosa y fuertemente congestionada e infartos múltiples en el bazo (Leguía, 1987; Leguía *et al.*, 1989b).

##### 4.3.2. Patología en el Hospedero Intermediario.

Durante la multiplicación asexual del parásito en las células endoteliales, el parásito rompe la célula hospedera radicada en la intima del vaso causando



endoarteritis y aumento de la permeabilidad capilar, favoreciendo la salida de líquidos, sangre y células móviles. Los restos de las células fraccionadas que permanecen en las paredes de las arterias como los liberados al torrente sanguíneo desencadenan en vasos o pequeños capilares aumentando la presión sanguínea por obstrucción de la luz, consecuentemente se desarrollan edemas y hemorragias. Una respuesta restauradora de la endoarteritis es la activación del fenómeno de fijación de los trombocitos y de los sistemas de coagulación sanguíneos, los cuales estimulan la formación de microtrombos y retardan el flujo sanguíneo causando una cuagulopatía sistémica (CID) con propensión a las hemorragias.

Durante el proceso de coagulación se producen sustancias como el factor de XII de Hageman que, aparte de provocar la producción de sustancias vasoactivas que favorecen el aumento de permeabilidad capilar, activan el sistema de fibrinólisis y consecuentemente el inicio de la cascada del complemento, donde algunos de sus componentes tienen acciones quimiotácticas y vasoactivas coadyuvantes en la formación e incrementos de los edemas, hemorragias y áreas de infiltración leucocitaria (Cordero del Campillo, 1999). Este proceso nos hace entender los signos clínicos que se observan en una infección masiva.

Las lesiones observadas en los tuis inoculados experimentalmente fueron una severa congestión, edema y hemorragias equimóticas en las serosas de todo el tracto gastrointestinal, órganos torácico-abdominales y sistema nervioso central, extensas áreas hemorrágicas y necrosis de los músculos esqueléticos y cardíacos y abundante líquido serohemorrágico en el tórax, pericardio y peritoneo (Sam, 1988).

Experimentos similares fueron reportados por Leek *et al*, (1977) quienes después de inocular vía oral 1 millón de esporoquistes de *S. ovis* a corderos observaron una enfermedad clínica aguda caracterizada por anemia, anorexia, pérdida de peso y fiebre, observando en la necropsia hemorragia en la musculatura estriada y los órganos viscerales aumentados de tamaño.

La forma crónica de la enfermedad se observa cuando la llama ingiere pasto con pequeñas cantidades de ooquistes durante un tiempo largo de exposición produciendo la enfermedad sin síntomas visibles (Leguía, 1989a). Este hecho se atribuye a contagios reiterados y frecuentes, llevando a que el hospedador se relacione con el parásito (Hernandez, 2006).

No obstante después de la formación de los quistes no se observa una respuesta patológica, sin embargo el hospedero intermediario ve comprometido su crecimiento (Melo, 2003). Asimismo las alteraciones presentadas en las células musculares son mas graves cuando los parásitos están libres y por invadir a la célula hospedera que en la etapa quística.

En la necropsia se observan formaciones blanquecinas en la musculatura estriada (cuello, esófago, diafragma, pectorales, intercostales, etc. que muchas veces llegan a calcificarse, sobretodo en quistes de cierta antigüedad (Leguía, 1987).

Ayala (1999), observó que el 13% de los quistes en CSA correspondían a calcificaciones de color pardo las cuales en el análisis microscópico no contienen merozoitos contaminantes. Sin embargo el 87% restante correspondían a quistes de color blanquecino con presencia de líquido y merozoitos contaminantes.

#### 4.4. Diagnóstico.

4.4.1. En el hospedero definitivo, se realiza por copromicroscopía con la finalidad de observar esporoquistes de *Sarcocystis*, mediante el método de flotación con solución saturada de sal (Alva *et al.*, 1980; Leguía y Arévalo, 1990; Leguía *et al.*, 1989b; Fayer, 1976).

4.4.2. En el hospedero intermediario, debido a la aparente ausencia de síntomas en infecciones naturales, la *Sarcocystiosis* muchas veces no puede diagnosticarse clínicamente (Dubey *et al.*, 1989; Leguía, 1987). Sin embargo en la necropsia se puede observar quistes macroscópicos a simple vista en la

musculatura esquelética y, quistes microscópicos por microscopía en la musculatura cardiaca.

Para el diagnóstico de la enfermedad en casos agudos se desarrolla la evaluación epidemiológica y clínica de la enfermedad, complementada con la utilización de pruebas inmunodiagnósticas como ELISA indirecta (Sam, 1988; Castro *et al.*, 2004) y Hemaglutinización indirecta (Leguía, 1999) y moleculares como el PCR, esta prueba diferencia tipos de sarcocystis (Medrano, 2006).

#### 4.5. Epidemiología.

La alta prevalencia (70%-100%) de micro y macroquistes hallados en la musculatura de alpacas, llamas y vicuñas revelan los altos niveles de contaminación de los pastizales con esta coccidia, situación favorecida por:

- Una estrecha convivencia de llamas y alpacas con perros, los cuales son alimentados con carne de estos hospederos intermediarios infestada con quistes. Además se adiciona la excesiva población de perros en las zonas ganaderas y la acción predatoria de zorros. Estos hospederos definitivos no desarrollan inmunidad debido a la ausencia de reproducción asexual (formas que mayormente producen resistencia), siendo reinfectados continuamente.
- Es evidente que existe una inmunidad humoral y celular detectable *in vitro* sin embargo, cuando se realizan pruebas *in vivo* de transferencia o administración de sueros homólogos inmunes no existe ningún tipo de inmunidad adquirida, y los animales cuando son infectados desarrollan un proceso patológico semejante a los animales no inmunizados.
- Estudios efectuados por Leguía *et al* (1989<sup>b</sup>), señalan que la mayor cantidad de esporoquistes es eliminada por los perros el día 22 post ingestión de músculo cardiaco de camélidos con microquistes de *Sarcocystis*, alcanzando una cantidad de 50.000 esporoquistes por g. de heces, el cual nos da un promedio de 2 millones de esporoquistes por día. Asimismo perros alimentados con 100 macroquistes eliminan el día 15 post

ingestión, 18.000 esporoquistes por g. de heces lo que implica una eliminación promedio de 560.000 esporoquistes por día.

- Los esporoquistes son inmediatamente infectivos y pueden permanecer viables por mucho tiempo en condiciones de humedad y bajas temperaturas. Sin embargo, viven por poco tiempo en climas secos y calurosos.

- La supervivencia en el medio de los esporoquistes es muy grande. En condiciones atmosféricas propias de climas templados pueden permanecer viables alrededor de un año, sometidos a temperaturas de 4°C en frigorífico mantienen la capacidad infectante durante 2 años, por debajo de 0°C son capaces de sobrevivir dos meses. Incluso son resistentes en condiciones de sequedad donde mantienen su viabilidad durante tres meses. El éxito de la supervivencia está determinado por la biología del parásito, el cual sale esporulado con las heces, por lo que no tienen que supeditarse a las limitaciones térmicas. En este caso sólo deben sobrevivir no evolucionar. Además, carecen de cuerpo de Stieda característica que lo hace resistente a la acción de los agentes químicos del medio.

- Los hospederos definitivos actúan como difusores de ooquiste y esporoquistes durante un mes o poco más si no se produce reinfecciones. La concentración o dispersión de los esporoquistes esta en función a la motilidad de dichos hospedadores, de tal manera que si estos se desplazan continuamente los difunden en mayor espacio.

- La infección puede efectuarse durante todo el año, sin embargo los pastos se contaminan con mayor cantidad de ooquistes durante la época de lluvia ya que estas lavan las heces de los predadores esparciéndolo en los pastizales.

- Pese a que los hospederos intermediarios adquieren inmunidad después de la exposición de pequeñas dosis infectivas, esto no evita su cronicidad lo que se traduce en micro y macroquistes.

- Los macroquistes de *S. aucheniae* requieren un periodo de maduración más largo que los microquistes para ser infectivos, siendo de 14 a 16 meses para los macroquistes y para los microquistes sólo 10 meses (Leguía *et al.*, 1989b).

- Los quistes tisulares conservan durante más de 1 año su capacidad de infección para el hospedero definitivo, pero no inducen ninguna reacción en el hospedero intermediario.
- La matanza clandestina de llamas y alpacas hace fácil el acceso a los perros vagabundos, éste hecho se da por la carencia de camales rurales y deficientes condiciones higiénico-sanitarias
- Los bajos niveles socio económico y cultural de las poblaciones andinas, lleva al desconocimiento de la enfermedad y a la consecuente infección de los animales.
- El hombre, gato y felinos silvestres hasta donde se conoce no forman parte del ciclo biológico de la *sarcocystiosis* en Camélidos Sudamericanos (Leguía, 1999; Ramirez *et al.*, 1998).

#### 4.6. Tratamiento de la Sarcocystiosis en el hospedero.

En el hospedador definitivo no existe tratamiento profiláctico ni terapéutico que evite el desarrollo de los ooquistes, los coccidiostatos no tienen efecto sobre las formas sexuales de ésta coccidia (Fayer, 2004). Sin embargo tratamientos sintomáticos han sido efectuados en el hombre a base de corticoides luego de infecciones con *S. suihominis* y *S. bovihominis* (Gascon, 2006). Asimismo en equinos se han reportado tratamientos a base de antibióticos que inhiben la reproducción del protozoario sumado a antiinflamatorios que limitan la afección del S.N.C y terapia de soporte (Melhorn, 1993; Barriga, 2002).

En equinos se utilizan inhibidores de Enzima dihidrofolatoreductasa (Sulfa y Pirimetamina), los cuales inhiben la enzima dihidrofolatoreductasa, esta enzima actúa como cofactor en varias reacciones metabólicas, incluso en producción de nucleótidos (Linsay y Blagburn, 1995).

La administración de drogas anticoccidiales como el Amprolium (50-100 mg/kg PV) por un periodo de 30 días puede prevenir la *Sarcocystiosis* clínica en los hospederos intermediarios pero, sólo si se administra al inicio de la enfermedad, este efecto se atribuye únicamente a la acción sobre los merontes de la infección inicial, no así en los quistes musculares (CONCYTEC, 1988;

Leguía, 1987). Anticoccidiales (amprolium, salinomocina, monensina, halofuginona, etc) administradas en vacunos y ovinos infectados con dosis letales de esporoquistes evitó la muerte o redujeron la severidad de los síntomas clínicos (Leguía, 1999).

Drogas nuevas como el Triazinedione y Diclazuril han sido probadas con la finalidad de erradicar las formas asexuales del *Sarcocystis*. El Diclazuril es un benzeneacetonitril anticoccidial que tiene actividad contra las etapas extraintestinales de *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum*. Sin embargo esta droga puede usarse como un agente terapéutico en el tratamiento de la mieloencefalitis protozoaria equino (Lindsay, 2000; Dubey *et al.*, 2001b).

El Diclazuril es utilizado en caso de tratamientos que no responden a terapias tradicionales, actúa inhibiendo las últimas fases de diferenciación celular. Produciendo muerte del parásito. La dosis es de 5 a 10 mg por kg/ día, durante 28 días (Bentz *et al.*, 2000).

El Toltrazuril, derivado triazínico, ha sido utilizado en *Sarcocystis* en cerdos, su efecto radica en la interrupción en vías intracelulares importantes para el metabolismo energético celular, como lo es la división celular; así mismo, se usa Ponazuril el cual es un metabolito sulfonado de Toltrazuril, la dosis es de 5 mg/kg/día por 28 – 90 días (Dubey *et al.*, 2001a; Lindsay *et al.*, 2000).

Los medicamentos probados hasta la fecha son caros y no muy prácticos de administrar (Leguía, 1989a). Además los CSA están continuamente infectándose y el efecto del fármaco es bastante corto. Por lo tanto la prevención y el control es lo más importante (CICCS, 1987).

#### 4.7. Tratamiento de la Sarcocystiosis en la carne infectada.

Estudios reportados por Fayer (1975), hace mención a la cocción y congelación como tratamientos sobre las carnes, que ejercen un efecto letal sobre la viabilidad de los quistes de *Sarcocystis* en vacunos y ovinos. Así mismo en el 2004 indica que temperaturas de 60, 70, y 100°C por espacio de 20, 15, y 5

minutos logra matar a bradizoitos provenientes de quistes ubicados en la musculatura de cerdos, y la congelación a -4 y -20°C por 48 y 24 h demostró el mismo efecto. Leguía y Arévalo (1990), reportaron a la congelación (-10°C por 10 días), cocción (80°C por 5 minutos) y deshidratado (charqui) como medios efectivos para la destrucción e inactivación de *Sarcocystis* en alpacas.

Sin embargo los tratamientos anteriormente mencionados por Leguía y Arévalo (1990), no logran desnaturalizar la proteína contenida dentro de los quistes, no obstante Durán (2004) demostró que las temperaturas altas en autoclavado (60°C, 80°C y 100°C por 10 minutos) lograban desnaturalizar la toxina.

#### 4.8. Control del *Sarcocystis* sp.

El control debe estar orientado esencialmente a prevenir la enfermedad a través de la interrupción del ciclo de vida del parásito, por lo tanto no debe permitirse que el perro y otros carnívoros silvestres ingieran carnes o vísceras crudas, ni despojos de reses muertas (CONCYTEC, 1988 Ramirez *et al.*, 1998; Leguía, 1999). La alimentación debe ser a base de comida enlatada, seca o cocida, y evitar que las mascotas cacen. No obstante, la educación de las personas es importante ya que la enfermedad al igual que la hidatidosis es creada por el hombre al no alimentar adecuadamente a sus animales (Leguía, 1990b)

Estudios realizados por Hung *et al* (2006) demostraron el control de *Sarcocystis* a través de una vacuna, la cual ha sido elaborada con antígeno de macroquistes, logrando inmunizar a las crías de alpacas a los dos meses de edad, antes que la inmunidad materna descienda totalmente, La vacuna probada en forma experimental, debe ser validada a través de su aplicación en animales de aproximadamente un mes para observar si bajo condiciones de campo (naturales), se observa la misma respuesta de anticuerpos y posteriormente la protección contra la formación de los macroquistes.

Leguía, (1999) recomienda que la prevención es el método más importante para el control de la enfermedad señalando como medidas la implementación de

programas de educación sanitaria, inspección sanitaria por médico veterinario, prohibición de matanza clandestina, mejoramiento higiénico sanitarias de los camales, incineración o entierro de canales no aptos para el consumo, no dejar abandonado en el campo alpacas o llamas muertas por diversos motivos, limitación del número de perros en zonas ganaderas y eliminación de perros vagabundos y zorros, en caso necesario la carne de los animales infestados con macroquistes debe ser tratada previamente antes de ser utilizado para cualquier fin.

## **5. IMPORTANCIA EN SALUD PÚBLICA DE LA *SARCOCYSTIOSIS*.**

Las sustancias tóxicas producidas por los protozoos generalmente no son verdaderas toxinas. La única que corresponde a una verdadera toxina es la Sarcocystina (Hiepe *et al*, 1981). La cual tiene una acción endotoxina a nivel de músculo cardíaco y tejido nervioso gastrointestinal (Briggs y Foreyt, 1985).

Lisados de macroquistes de *S aucheniae* ocasiona un efecto letal en conejos provocando la muerte de estos luego de ser inoculada subcutáneamente, en ellos produce alteraciones histopatológicas agudas en los diferentes órganos vitales del animal, esta sustancia podría contener elementos o compuestos con propiedades toxicas compatibles con los constituyentes de la toxina denominada Sarcocystina referida por Hiepe (1981) (Mansilla, 1993).

Sam (1998) observó por microscopia las lesiones que producía la sustancia proteica inoculada en conejos, el pulmón (órgano mas afectado) mostraba una severa hiperemia, neumonitis, espasmo arteriolar y arterial, enfisema, colapso y hemorragia. En riñón, tumefacción glomerular, severa congestión, trastornos degenerativos del epitelio tubular. En hígado, severa congestión de vasos portales y sinusoides hepáticos, degeneración de hepatocitos, hiperplasia de los conductos biliares y edema en tejido conjuntivo de espacios portales. En miocardio hiperemia, hemorragia y degeneración de fibras miocárdicas. Estas alteraciones son similares a los reportadas por duran (2004) y Céspedes (2005).



Desde el punto de vista de Salud Pública la *Sarcocystiosis* en el hombre es considerada una zoonosis parasitaria y toxica. El hombre actúa como hospedador definitivo en *S. hominis* (Acha, 2003) y *S. suihominis*. (Dubey, 1976).

Ensayos realizados con voluntarios mostraron que entre 3 a 6 horas después de ingerir carne bovina cruda o insuficientemente cocida presentaron alteraciones del peristaltismo intestinal, náusea, dolor abdominal, y diarrea (con grandes pérdidas de agua). Igualmente, después de ingerir carne de cerdo infectado con *S. suihominis*, las personas presentaron un periodo de silencio asintomático de 6 a 24 horas, los síntomas de intensidad variable fueron diarrea, vómito, dolor abdominal, meteorismo, deshidratación e hipotensión arterial. Estos síntomas declinaron espontáneamente al cabo de 12 a 24 horas. Sin embargo, dos a tres semanas después algunos pacientes presentan nuevamente diarrea no tan intensa, correspondiendo a la máxima eliminación de esporoquistes en sus heces (Acha, 2003; Fayer, 2004).

El hombre como hospedador intermediario de *S. lindemani* muy pocas veces muestra signos clínicos, los cuales incluye fiebre, malestar e hinchazones musculares y subcutáneas. Actualmente se desconoce cual es el hospedador definitivo de *S. lindemanni* (Fayer, 2004).

*S. aucheniae* no se reproduce en el hombre, sin embargo la toxina (Sarcocystina) que se encuentra en los quistes produce náusea, vómito, cólicos abdominales, diarrea, escalofrío, falta de apetito durante 4 a 12 horas, para luego recuperarse sin ningún tratamiento (Leguía, 1989a). Al parecer conejos y humanos posiblemente presenten células con receptores de superficie para esta toxina. (Mansilla, 1993). Observándose cuadros gastroentéricos en personas que consumieron carne insuficientemente cocida, infectada con sarcocystis.

En 1990, Leguía produjo en monos alimentados con carne de alpaca infestada con micro y macroquistes un cuadro clínico de gastroenteritis, diarrea, cólicos, escalofríos entre 3 a 8 horas después de dicha ingestión durante 3 días seguidos, recuperándose sin tratamiento alguno. El examen coproparasitológico no reveló la presencia de ooquistes u esporoquistes en heces de los animales.

## 6. DESNATURALIZACIÓN PROTEICA.

La desnaturalización consiste en la pérdida de configuración espacial característica de la proteína, adoptando una configuración al azar. La proteína muestra un desplegamiento de la estructura nativa plegada característica de la cadena polipeptídica de las moléculas de la proteína globular, efecto que lo lleva a perder su función biológica (Lehninger, 1987).

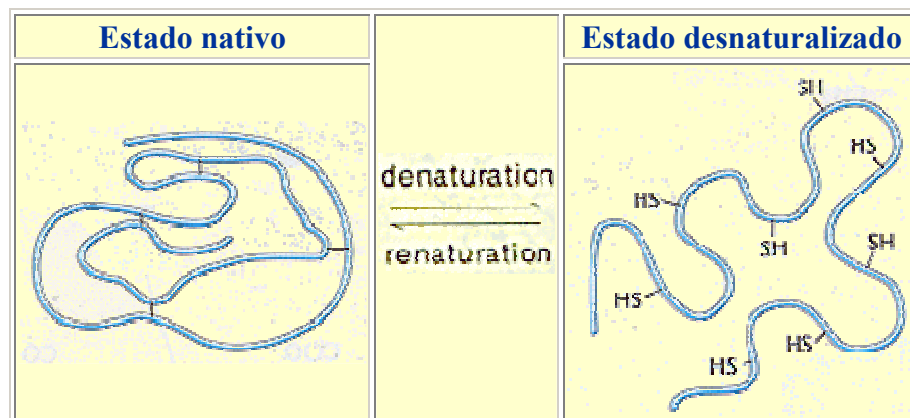


Fig. 1. desnaturalización proteica (Lesk, 2001)

Entre los factores que pueden provocar la desnaturalización proteica se encuentran las variaciones de presión, temperatura, determinadas radiaciones electromagnéticas (agentes físicos), variaciones de pH, así como los cambios en concentración salina o determinadas sustancias química como la urea (agentes químicos) (Garrido, 2002).

Cuando la temperatura se eleva hay un aumento de la energía cinética de las moléculas, y cuando es muy elevada se desorganiza la envoltura acuosa de las proteínas, destruyendo las interacciones débiles y la estructura de la proteína, de forma que el interior hidrofóbico interacciona con el medio acuoso produciéndose la agregación y precipitación de la proteína desnaturalizada (Lesk, 2001).

Asimismo, cuando las temperaturas son bajas, los cristales de hielo que se forman crecen y extraen agua ligada a las proteínas, de tal forma que estas se

desorganizan siendo luego incapaces de recuperar esa agua durante la descongelación. Dicho efecto se da mayormente cuando el congelamiento es lento o se ha producido fluctuaciones de temperatura durante el almacenamiento (Jasper y Placzek, 1978; Lawrie, 1998).

## **7. TRATAMIENTOS FÍSICOS DE LA CARNE.**

El objetivo de los tratamientos físicos y químicos sobre la carne es retardar o evitar determinados cambios que la inutilizan como alimento o que reduzcan su calidad, estos tratamientos se dirigen principalmente a combatir los microorganismos, destruyéndolos o inhibiendo su actividad metabólica y reproductiva (Shweigert y Price, 1971).

Estos efectos se logran:

- Por esterilización por calor o irradiación, logrando la destrucción parcial de los microorganismos.
- Mediante calor o irradiación (sobreviven las esporas).
- Mediante nitritos.
- Mediante microorganismos (fermentación).
- Mediante distintos componentes del humo.
- Inhibiendo el metabolismo y la reproducción de los microorganismos mediante la acción del frío, deshidratación, sal común, ácido ascórbico, fosfatos, ácidos, etc.

La refrigeración es el único método que no altera sustancialmente las propiedades del producto (Prändl *et al.*, 1994).

### **7.1. FRÍO.**

El fundamento estriba en crear condiciones que imposibiliten la multiplicación de microorganismos o que reduzcan ésta a su mínima expresión, atenuando las transformaciones físico-químicas (Jasper y Placzek, 1978). Las temperaturas bajas provocan un choque por frío que puede ser mortal para los

microorganismos sin embargo, por regla general no produce una destrucción significativa de los microorganismos. Existen 2 métodos de conservación en función al frío: La refrigeración, que se caracteriza por el mantenimiento de la temperatura del producto ligeramente por encima de 0°C y la congelación, la cual es una disminución de la temperatura netamente por debajo de 0°C. (Girard, 1991).

La pérdida de calor de la canal tiene lugar a través de 4 mecanismos diferentes. El más importante es la convección, donde el aire (o el líquido) al pasar sobre la superficie de la canal toma el calor de la superficie y lo conduce hasta otro punto separado de ésta (Warris, 2003).

#### 7.1.1 La Congelación.

La congelación siempre daña en mayor o menor medida a los microorganismos. Estos daños que pueden ser reversibles o por el contrario provocar la muerte de las células bacterianas dependen de la velocidad de congelación y del procedimiento empleado. La carne comienza a congelarse a una temperatura entre -0.6°C y -1.2°C (punto crioscópico) pero, bajo determinadas condiciones no se inicia la formación de cristales hasta que se alcanzan temperaturas más bajas. La congelación puede ser lenta (-15°C), semi-lenta (-22°C), rápida (-25 ó -30°C), ultrarrápida (-35°C ó -40°C) (Collin, 1977).

Una congelación rápida y a temperaturas muy bajas no dañan las células bacterianas o sólo lo hace mínimamente, sin embargo una congelación lenta y a temperaturas relativamente altas (hasta -10° C) pueden provocar daños considerables (Prändl *et al.*, 1994; Warris, 2003).

A -7°C la cristalización llega a un 80% del agua congelable, a -18°C esta proporción se eleva a un 99%. Esta cristalización se inicia con la transformación de cristales de hielo del líquido que rodea las células. Por lo tanto si la cristalización ha sido lenta, se forma gruesas agujas que al descongelarse perforan las membranas de las células y dejan salir el agua contenida en ellas, asimismo si la congelación ha sido rápida, los finos cristales de hielo son

reabsorbidos mas fácilmente (Collin, 1997). Esto explica por que una congelación rápida a temperaturas bajas no daña las células bacterianas o sólo lo hacen mínimamente. Estos estudios se pueden transpolar a células parasitarias.

#### A. Modificaciones Físicos y Químicos.

Uno de los cambios, es la pérdida de peso que se registra al tratar la carne por el método del frío, el cual es el resultado de la evaporación superficial.

El mecanismo se encuentra en el elevado porcentaje de agua que contienen los alimentos, este hecho hace que sobre su superficie exista una elevada humedad relativa del aire, que en todo caso esta por encima de la humedad media del ambiente de la nave de refrigeración o congelación. Esta humedad media de 98 y 99% de la superficie de la carne vs. la humedad media de 90-95% del recinto refrigerado hace una diferencia de tensión de vapor que deseca rápidamente la carne (Jasper y Placzek, 1978).

Las retracciones celulares y la elevación de la concentración de jugo celular se producen por un enfriamiento lento, Además se forman en los espacios intercelulares grandes cristales de hielo que deforman y destruyen los tejidos (Lawrie, 1998; Collin, 1977).

Las proteínas experimentan modificaciones. Este hecho se debe que al separarse el agua solidificada, se altera la distribución de las partículas protéicas de manera que se produce agregaciones o desagregaciones. Este factor es el principal responsable de la perdida de capacidad de retención de agua de las proteínas musculares y de la incapacidad de las fibras para reabsorber. Lo que se traduce en la aparición de exudado al descongelar (Lawrie, 1998). En virtud a tales manifestaciones de desnaturalización no se da la reconstitución del alimento descongelado a la vez que aumenta su sensibilidad frente a las alteraciones enzimáticas y microbianas. Pero estas eventuales desnaturalizaciones no repercuten en la calidad nutricional de la carne (Girard. 1991).

Entre los muchos componentes del líquido exudado se encuentran proteínas, péptidos, aminoácidos, ácido láctico, purinas, vitaminas del complejo B, diversas sales y otras sales hidrosolubles. Este exudado no influye demasiado en la jugosidad del producto, ya que las pérdidas de jugos causadas por la cocción son de 5 a 10 veces superiores. Asimismo, la ausencia de fracción de agua solidificada como vehículo transportador de sustancias químicas que participan en las reacciones produce el retardamiento de estas. Por lo tanto al disminuir la temperatura las enzimas microbianas disminuyen su actividad producto de la suspensión de la multiplicación de los microorganismos (Jasper y Placzek, 1978).

#### B. Modificaciones Biológicas.

El descenso del crecimiento microbiano a temperaturas bajas obedece a la limitación de la fracción de agua libre utilizable por los microbios y a la destrucción directa de éstos por deformación celular o trastornos del equilibrio biológico interno. Que puede deberse a causa de un shock térmico, a la formación de hielo, a la deshidratación o a la concentración de solutos provocando la muerte con periodos de almacenamientos más prolongados (Warris, 2003).

En el proceso de congelación una parte de los microorganismos mueren, ésta fracción asciende al 40-80% con los métodos de congelación habituales. Sin embargo, la congelación lenta favorece la destrucción de una parte de la población microbiana, debido al aumento de la fuerza iónica de la fase líquida de importancia entre  $-2^{\circ}\text{C}$  y  $-7^{\circ}\text{C}$ . Rangos donde se produce las reacciones de desnaturalización de las proteínas, tanto de las membranas como de las enzimas (Girard, 1991). A temperaturas inferiores a  $-22^{\circ}\text{C}$  se produce la masiva muerte de microorganismos (Jasper y Placzek, 1978).

Las carnes y los pescados a veces se encuentran contaminados por parásitos que se destruyen con un almacenado suficientemente largo a una temperatura negativa. Éste almacenamiento en estado congelado causa la muerte de los parásitos del músculo (triquina y cisticerco) (Prändl *et al.*, 1994). En Alemania se exige que la carne de buey cisticercósica haya sido mantenida tres semanas a la temperatura de congelación y la carne de cerdo durante quince días

(Collin, 1977). Por otro lado, Girard (1991) señala que los cisticercos de la *Taenia saginata* (vacunos) y la *Taenia solium* (cerdos) mueren a  $-7^{\circ}\text{C}$  en tres semanas. Asimismo la reglamentación francesa ordena que la carne de bovino débilmente infectada se sanee por 10 días a  $-18^{\circ}\text{C}$ . La *Trichinella spiralis* es más resistente que el cisticerco pero, pueden destruirse con entera seguridad mediante congelación durante 10 a 20 días a  $-25^{\circ}\text{C}$ . Este tratamiento para el saneamiento de las carnes triquinosas no está admitido legalmente (Prändl *et al.*, 1994).

En lo referido a *Sarcocystis* en CSA, Leguía y Arévalo (1990), proponen que la carne congelada a  $-10^{\circ}\text{C}$  por 10 días inactiva la reproducción del parásito. Sin embargo Céspedes (2005) demostró que el mismo tratamiento anteriormente señalado no lograba desnaturalizar la toxina contenida en el quiste de *S. aucheniae*.

## 7.2 CALOR.

La carne y los productos cárnicos se calientan para volverlos aptos al consumo humano, asimismo para conservarlos y con fines culinarios, es decir para hacerlo más apetitosa (Prändl *et al.*, 1994; Warris, 2003). Éste calentamiento supone una elevación de la temperatura resultante de un aporte de energía, el cual se da por irradiación, convección y conducción. La carne puede considerarse en una primera aproximación como un sólido, y por ello la transferencia de calor a tener en cuenta es la conducción. Pero es raro que el aporte de energía se deba a una sola forma de transferencia de calor, no obstante, en cada tipo de cocción predomina un modo de transferencia (Girard, 1991).

En la convección debemos tener en cuenta la naturaleza del fluido calefactor, así tenemos: agua en las carnes hervidas, vapor de agua en los casos de cocción en olla a presión, aire húmedo en los asados al horno y grasas en el caso de las frituras (Girard, 1991). Según su condición de humedad se clasifica en procedimientos secos y húmedos de calentamiento, los procedimientos secos de calentamiento más importantes son la fritura, el asado y la parrilla y los húmedos son la cocción, el escaldado y el estofado. El calentamiento en seco a altas

temperaturas (150-180) llamado asado se aplica relativamente poco en la industria cárnica (Prändl *et al.*, 1994).

En algunos casos particulares el calentamiento no se produce por transferencia de calor, se produce directamente por la disipación de energía por la masa del producto a calentar, éste tipo de calentamiento se da por microondas y por conducción eléctrica (Girard, 1991). Su radiación se transforma en calor al ser absorbida y por ello la carne puede calentarse rápidamente en toda su masa, pero su poder de penetración es limitado por lo cual no permite calentar piezas de carne con más de 7 cm. de grosor (Shweigert y Price, 1971).

#### A. Modificaciones Físicas y bioquímicas.

Los factores más importantes que contribuyen a las pérdidas por calentamiento son la temperatura, la duración del calentamiento efectivo, la estructura del producto y la viscosidad del jugo. Además debemos de recordar la influencia del pH de la carne particularmente importante en la retención de agua y, el grado de contracción de las fibras (Girard, 1991).

La modificación de la capacidad de retención de agua (CRA) se debe principalmente a la experimentada por la estructura de los tejidos durante el calentamiento. Su disminución se aprecia a partir de 40°C siendo la más importante entre los 40 y 50°C. La duración del calentamiento influye poco en la C.R.A. incluso aunque ella sea extremadamente corta (Girard, 1991). Estas pérdidas que se producen durante la cocción se deben a la desnaturalización de las proteínas, las cuales determinan una considerable reducción de la C.R.A. (Lawrie, 1998).

El endurecimiento de la carne se produce en 2 fases. La primera ocurre entre 40 y 50°C producto de la desnaturalización e insolubilidad de las proteínas contráctiles. La segunda ocurre entre 65 y 75°C al parecer debido a la retracción de las fibras de colágeno desnaturalizado. Por encima de 75°C y con el incremento del tiempo de cocción la dureza disminuye a medida que se degrada el colágeno. Este proceso obedece a la ruptura de los puentes de hidroxiprolina



que actúan de uniones transversales entre las moléculas de colágeno. Como consecuencia de ello estas moléculas adquieren capacidad de hidratación y movilidad (Prändl *et al.*, 1994). Por otro lado aunque la conversión del colágeno en gelatina a 100°C tenderá a incrementar la capacidad de retención de agua, esta es compensada por los cambios en las proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares mencionados, con el resultado final de un marcado descenso de la capacidad global de retención de agua a medida que la temperatura se eleva de 80 a 100°C.

Investigadores elucidaron además el mecanismo de pérdida de fluido durante la cocción de miofibrillas individuales. Demostraron que al calentar las fibras musculares a 45-60 °C su diámetro se retraía, por encima de 65°C se acortaban activamente llegando a ser completo a 80°C después de 10 minutos de calentamiento (Girard, 1991). Sin embargo existe una menor retracción de la carne después de sumergirla en agua hirviendo en lugar de ir elevando lentamente la temperatura del agua inicialmente fría. Además es más jugosa que la cocida lentamente a la misma temperatura (Lawrie, 1998).

La elevación de la temperatura es más rápida con calor húmedo que con calor seco. Por lo tanto, las pérdidas son mayores con calor húmedo que con calor seco, siendo tal diferencia a consecuencia de la formación de una corteza en los tratamientos con calor seco (Girard, 1991). Éste hecho se atribuye a la coagulación de las proteínas de la superficie, inhibiendo la salida (pérdida) de fluido, y cuanto más rápido es el calentamiento tanto más veloz es la formación de dicha capa y menor la retracción (Lawrie, 1998).

La desnaturalización de las proteínas es la transformación más relevante a consecuencia del calentamiento. Esta consiste en un fenómeno de coagulación mediante el cual las proteínas pasan a un estado insoluble en agua y en disoluciones salinas (Prändl *et al.*, 1994). Conforme aumenta la temperatura de la carne se desarrollan varios cambios. Entre 30 y 50 °C las proteínas miofibrilares comienzan a desnaturalizarse, produciéndose una disminución de la capacidad de retención de agua y de la solubilidad proteica (Girard, 1991).

A 55°C existe una desnaturalización y coagulación proteica considerable que provoca una retracción del entramado miofibrilar y un aumento de la dureza. A 65°C la mayoría de las proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares han coagulado y gran parte del agua se ha perdido. Entre 65 y 70°C se desnaturaliza el colágeno y entre 70 y 90°C hay un aumento de la dureza proveniente del componente miofibrilar (Warris, 2003). Así a temperaturas de cocinado más elevadas se observaron mayores pérdidas de peso, aumentando en torno al 30% a 65°C hasta más o menos el 40% a 80°C (Warris, 2003).

La cantidad de jugo obtenido al calentar aumenta aún más entre 107°C y 155°C, esto probablemente se deba a la degradación de algunas proteínas con destrucción de aminoácidos, que ocurre en tales rangos de temperatura (Girard, 1991). Además se menciona que la única característica de la carne que influye realmente en las pérdidas por calentamiento es el pH. Las variaciones de pH están relacionadas con las condiciones de matanza, con el grado de maduración y con los tratamientos sufridos por la carne. Se observaron pérdidas de 4.4% cuando el pH de la carne cruda estaba comprendida entre 6.7 y 6.9 y de 23.3% cuando era de 5.4 a 5.6.

Otro factor que influye en las pérdidas de líquido es la grasa. Las pérdidas en carne de buena calidad tienden a ser menor que la carne de baja calidad. Mientras que la primera pierde más grasa esta pierde menos agua posiblemente por que los cambios estructurales causados por la presencia de grasa estimulan la capacidad de retención de agua (Lawrie, 1998).

## B. Modificaciones Biológicas.

El tratamiento térmico de las carnes y productos cárnicos es el método que más se emplea para destruir los microorganismos potencialmente toxigénicos y los causantes de alteración que puedan contener. Sin embargo, aunque algunos microorganismos sobreviven al tratamiento térmico, estos quedan lesionados y no crecen (Shweigert y Price, 1971).

Es conveniente distinguir entre pasteurización y esterilización. La pasteurización es un calentamiento a menos de 100°C, el cual destruye a la mayoría de los microorganismos vegetativos, pero no afecta a las esporas y a las bacterias termorresistentes. La esterilización es el tratamiento por calor que destruye tanto las formas vegetativas como las esporas. Cabe señalar que las formas vegetativas de una especie microbiana se destruyen en cuanto se aplican temperaturas ligeramente superiores a la temperatura máxima de crecimiento de esa especie. Esta destrucción es causada por la desnaturalización de determinadas proteínas vitales para la supervivencia de los mismos (Girard, 1991).

El medio que se utiliza para calentar a los microorganismos influye de formas muy variadas sobre la resistencia al calor. Un incremento de la concentración de iones de hidrogeno (descenso del valor de pH) reduce la resistencia al calor de los microorganismos. Asimismo los microorganismos son considerablemente mas resistentes en un medio seco que en uno húmedo (Prändl *et al.*, 1994). Lo que respecta a toxinas, algunas como las de los estafilococos son termorresistentes. Por el contrario la toxina botulínica la más peligrosa es termosensible y no resiste a una elevación de la temperatura superior a los 100°C (Girard, 1991).

Leguía y Arévalo (1990), demostraron que la cocción (80°C por 5 min.) es un medios efectivos para la destrucción del *Sarcocystis* en CSA. Sin embargo la toxina (Sarcocystina) no es afectada a esa temperatura (Céspedes, 2005). Sólo el autoclavado logra desnaturalizarla (Durán, 2004).

## **II. MATERIALES Y METODOS**

### **1. LUGAR DE ESTUDIO.**

El presente estudio se efectuó en las instalaciones de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM, ubicada en el distrito de San Borja, Lima – Perú, en el Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental, Lab. de Parasitología, Lab. de Inmunología y Lab. Patología Clínica.

### **2. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.**

Se utilizaron 15 llamas adultas, machos y hembras, seleccionadas al azar entre aquellas destinadas al beneficio, en el camal de Huancavelica y parasitadas con *Sarcocystis*. Así mismo, se utilizaron 30 conejos para evaluar el efecto detoxificante de los métodos físicos y 13 perros (cachorros) para evaluar el riesgo potencial de infección, observando la interrupción del ciclo biológico de *Sarcocystis aucheniae*

#### **2.1 Obtención y preparación de los Conejos.**

Se obtuvieron treinta conejos, de ambos sexos, de raza Nueva Zelanda, de 4 a 5 meses de edad, provenientes del Bioterio de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM, los cuales fueron utilizados para evaluar el efecto

detoxificante de los métodos físicos sobre la carne de llama parasitada con *S. aucheniae*. Se emplearon conejeras ubicadas en un local apropiado, previamente lavado y desinfectado con detergente e hipoclorito de sodio respectivamente. En ellas fueron mantenidos los conejos, en cuarentena y acostumbramiento, por 30 días antes del experimento, observándose su estado nutricional y sanitario. La limpieza de las instalaciones fue diaria. Cada animal fue alimentado con aprox. 100 g de alimento balanceado comercial y agua ad libitum.



Fig. 2 Jaula Tipo Batería con los Conejos de Experimento

## 2.2 Obtención y Preparación previa de los Perros.

Se obtuvieron trece perros de ambos sexos cruzados, de 2 a 5 meses de edad, para evaluar el riesgo potencial de infección verificando la interrupción del ciclo biológico del *Sarcocystis aucheniae* a consecuencia de los métodos físicos aplicados a las carnes parasitadas. Se alojaron en caniles apropiados previamente lavados y desinfectados mediante hipoclorito de sodio y además flameados. Asimismo fueron limpiados diariamente de la misma forma. Luego de recepcionados, los perros fueron desparasitados externamente como internamente. Para los parásitos externos (pulgas y garrapatas) se aplicó a cada animal el insecticida Fipronil, vía aspersion, a una dosis de 6 ml/kg PV. Internamente la desparasitación consistió en una dosis mixta de Praziquantel y Fenbendazol (Panacur, 50 mg/Kg de PV), administrándoseles una segunda dosis siete días después. Durante la 3ra semana se evaluó la presencia de parásitos

mediante copromicroscopía en las heces, verificándose que los animales estaban completamente libres de parásitos internos.

Luego de la desparasitación externa e interna, para la prevención contra distemper, parvovirus, leptospira, hepatitis y parainfluenza todos los cachorros fueron inmunizados con una vacuna quintuple (NOBIVAC\* DHPPI). Se les administró un refuerzo de la misma vacuna 21 días después. Los cachorros fueron alimentados cada uno con aprox. 140 g de alimento balanceado comercial y agua ad libitum.



*Fig. 3 Canil de Experimentación (perros de experimento)*

### **3. METODOLOGÍA.**

#### **3.1 Preparación de la carne de llama.**

Cada una de las 15 llamas, fueron beneficiadas convencionalmente y, luego de verificar la presencia de macroquistes de *Sarcocystis*, se tomaron partes de su canal. Las muestras obtenidas fueron conservadas en refrigeración (4<sup>o</sup> C) y posteriormente fueron descarnadas y fileteadas a 1 cm. de grosor aprox. Toda la carne obtenida fue dividida en 5 porciones, 4 porciones fueron destinadas a los métodos físicos (Cocción, Horneado, fritura y Congelado) y 1 porción sin tratamiento físico (control positivo).

De cada porción de carne, luego del respectivo tratamiento, el 40% se destinó a la preparación del inóculo para conejos y el 60 % fue destinado a la alimentación de perros.



*Fig. 4 Zona del Cuello de Llama con Macroquistes de Sarcocystis*

Los métodos físicos fueron:

- a) Método Físico 1:** cocción en agua. Se sumergió en agua caliente hasta alcanzar una temperatura interna de la carne de 100° C, permaneciendo a esta temperatura por 10 minutos. La temperatura fue medida por un termómetro digital específico apropiado (Cole-Parmer, Digi-Sense).
- b) Método Físico 2:** horneado. Se envolvió la carne en papel metálico y se introdujo al horno eléctrico (Windmere-T02000) a una temperatura de 205°C por un tiempo de 65 minutos hasta su cocción, verificándose c/15 min.
- c) Método Físico 3:** fritura. La carne fue frita en aceite caliente, hasta su cocción. La fritura se logró en un periodo promedio de 15 minutos.
- d) Método Físico 4:** congelado. Se envolvió la carne en bolsa plástica y se introdujo a una congeladora eléctrica vertical (Bosh) a una temperatura de – 20°C por un periodo de 10 días. La temperatura fue medida por un termómetro específico (Physitemp ret-1). Luego de transcurrida el tiempo se llevó a descongelar la carne en refrigeración por un periodo de 12 horas.



*Fig. 5 Carne de Llama Expuesta al Calor (cocción)*



*Fig. 6 Carne de Llama Expuesta al Frío (congelado)*



### 3.2. Evaluación biológica de la carne de llama.

Esta evaluación se realizó en 2 fases: La I fase para determinar el efecto tóxico de la Sarcocystina de la carne de llama parasitada y tratada mediante los métodos físicos mencionados. La II fase evaluó el riesgo potencial de infección de los perros luego de consumir estos la carne tratada con los métodos físicos, es decir para apreciar la probable interrupción del ciclo biológico de *Sarcocystis*,

#### 3.2.1 Tamaño muestral y distribución de los animales.

a) Tamaño muestral: La formula utilizada para determinar el tamaño de muestra de acuerdo con Snedecor & Cochran (1989). 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 Tabla para el nivel de confianza al 95%= 1.64

- **Z(b)** = valor de la Tabla para la potencia al 90%= 1.64

- **p<sub>1</sub>** = proporción en la población 1 = 0.90

- **p<sub>2</sub>** = proporción en la población 2 = 0.10

- **p<sub>1</sub>\*q<sub>1</sub>**= varianza de la proporción en la población 1 = p<sub>1</sub>\*(1-p<sub>1</sub>)

- **p<sub>2</sub>\*q<sub>2</sub>**= varianza de la proporción en la población 2 = p<sub>2</sub>\*(1-p<sub>2</sub>)

$$n = \left[ \frac{1.64 + 1.64}{0.90 - 0.10} \right]^2 * (0.90 * 0.10 + 0.10 * 0.90)$$

De acuerdo a los resultados, se requirió de tres animales como mínimo por grupo experimental.

b) Distribución de los animales: fue realizada al azar, dividiéndolos en 6 grupos experimentales.

- Grupos Tratamientos (4): 20 conejos fueron inoculados subcutáneamente con 100µg/kg peso vivo de proteína proveniente de lisado de macroquistes de *Sarcocystis* extraídos de carnes a las cuales previamente se les aplicó uno de los cuatro métodos físicos descritos. 8 perros fueron alimentados con carne de llama tratada por uno de los métodos físicos mencionados (Cuadro 1).
- Grupos Control Positivo: 5 conejos fueron inoculados subcutáneamente con 100µg de proteína/kg. peso vivo, provenientes de lisado de macroquistes de *Sarcocystis* de carne no tratada por los métodos físicos. 3 perros fueron alimentados con carne de llama parasitada y sin ningún método físico aplicado.
- Grupos Control Negativo: 5 conejos fueron inoculados subcutáneamente con 1 ml de suero fisiológico, asimismo 2 perros fueron alimentados con alimento concentrado.

Cuadro 1: Distribución de animales según el métodos físicos y la evaluación de los parámetros biológicos\*.

MÉTODOS FÍSICOS	EVALUACIÓN DE PARÁMETROS BIOLÓGICOS	
	CONEJOS (Detoxificación)	PERROS (Interrupción del ciclo)
Cocción	5	2
Horneado	5	2
Fritura	5	2
Congelado	5	2
Grupo control positivo	5	3
Grupo control negativo	5	2

\* Elaboración propia.

### 3.2.2 Evaluación de la detoxificación de carne de llama tratada por los métodos físicos.

Se extrajo macroquistes de las carnes tratadas físicamente y no tratadas. Los macroquistes fueron lisados para obtener sustancia proteica a partir de extractos de bradizoitos de *Sarcocystis*, cuyas concentraciones fueron medidas por espectrofotómetro en  $\mu\text{g/ml}$ . De cada solución obtenida se preparó por dilución, una dosis de  $100 \mu\text{g/ml}$  de proteína para ser administrada por cada kilogramo de peso vivo animal, utilizándose como vehículo Suero Fisiológico Fosfatado (PBS) La dosis fue inoculada subcutáneamente a cada conejo y fueron observados por un periodo de 27 horas post inoculación (Sam, 1998; Durán, 2004; Céspedes 2005). El grupo control negativo solo recibió subcutáneamente 1 ml. de suero fisiológico.

El efecto tóxico de la sustancia proteica fue evaluado por la presentación de signos clínicos, postración, disnea, pupila contraída, hipertermia, congestión conjuntival, diarrea y muerte. (Sam 1998, Duran, 2004, Céspedes, 2005). Los signos se evaluaron desde leve, moderado y severo, teniendo el criterio de leve a los animales que exhibieron al menos uno de los signos clínicos de toxicidad, moderada a los animales con más de un signo clínico y severo a los animales que murieron en el transcurso del experimento. Asimismo, se midió la temperatura rectal de los conejos 1 hora antes de la inoculación y 1, 4, 8 y 16 horas post inoculación. La hora de muerte cuando ocurrió, fue registrada y los animales muertos fueron sometidos a necropsia para la observación macroscópica de las lesiones de los órganos.

#### 3.2.2.1 Preparación del Inóculo.

El Lisado de *S. aucheniae* se hizo a partir de macroquistes libres de tejidos cárnicos. Estos macroquistes fueron colectados de músculo estriado esquelético e inmediatamente fueron suspendidos en solución salina de fosfatos (SPF) 0.15 M pH 7.2. A continuación los quistes fueron decantados, machacados en un mortero congelado, a temperatura de  $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , hasta obtener una pasta homogénea, luego

se añadió 8 ml de PBS, se tamizo a través de una gasa estéril y fue depositado en un beacker estéril de 10 ml.

Posteriormente las estructuras celulares fueron lisadas por ultrasonido (Fisher-300) a 60 ciclos/s en 4 intervalos de 60S, observándose a microscopio la destrucción de las membranas celulares. Luego se centrifugó a 12,000 g/20 minutos (Sam, 1998). A la solución resultante se le añadió antibiótico (100 unidades internacionales de penicilina y 100 mg de estreptomina). De la solución centrifugada se colectó el sobrenadante en frascos estériles de 10 ml y se llevó a congelación -20°C. Se usó 0.5 ml de cada solución para la medición del contenido de proteína total.



Fig. 7 Ultrazonicado de Bradizoitos de *Sarcocystis*

3.2.2.2 Determinación de la concentración proteínas totales proveniente de los extractos de bradizoitos de *S. aucheniae*.

La proteína fue medida en el Laboratorio Clínico de la FMV-UNMSM, haciendo uso del espectrofotómetro (Photometro 4010 Manheim Boehringer) con una longitud de onda de 540 nm. En tres tubos de fotocolorímetro se colocó 50 µl de agua destilada en el tubo B (blanco), 50 µl de suero patrón en el tubo S (estándar de 4.9 gr/dl de proteínas totales) y 50 µl. de muestra en el tubo D (desconocido). Luego se agregó a todos los tubos 3.5 ml. de reactivo EDTA/Cu, se mezcló con una varilla y se dejó incubando por 15 minutos a 37°C. Luego se leyó la concentración de proteínas en el espectrofotómetro (anexo nº 1).



Fig. 8 Inóculos de experimento conteniendo extractos de *Macroquistes*

### 3.2.3. Evaluación del riesgo potencial de infección del hospedero definitivo.

La evaluación se realizó en cachorros, verificando la interrupción del ciclo biológico del *Sarcocystis*. La observación de las heces se realizó por microscopía. Los cachorros recibieron aprox. 200 g. de carne cada uno, conteniendo un mínimo de 100 quistes (Leguía y Arévalo, 1990; Durán, 2004; Céspedes, 2005). Los cachorros del grupo control positivo recibieron la misma cantidad de carne infestada de *sarcocystis* no expuesta a método físico y los del grupo control negativo solo recibieron alimento comercial.

#### 3.2.3.1 Examen Copro-parasitológico.

Se examinaron las heces de los perros por el método de flotación con solución saturada de sal (Soulsby, 1988). El análisis de heces de los grupos experimentales se efectuó diariamente por un periodo de 30 días considerando que el periodo prepatente del *Sarcocystis aucheniae* en perros es de 11 a 20 días (Leguía *et al.*, 1989b).

### 3.3. Análisis de los Datos.

Se utilizó el método estadístico de regresión de Cox, siendo la variable independiente TRATAMIENTO y la variable dependiente MUERTE a una significancia de 0.05

## **IV. RESULTADOS**

### **1. Evaluación de la Detoxificación de la Carne de Llama.**

Se observó la sobrevivencia de todos los conejos tratados por los métodos físicos. Los conejos del grupo cocción, horneado y fritura mostraron sólo hipertermia a las 4 horas post inoculación de la sustancia proteica.

El cuadro No. 2, expone la temperatura rectal de los conejos registrados antes de la inoculación, a 1, 4, 8 y 16h post inoculación. Entre las 4 y 8 h hubo incremento de la temperatura que fluctuó entre 40.4°C – 41.1°C en los animales de los grupos experimentales inoculados con sustancia proteica (extracto de bradizoito) de carne infestada tratada físicamente, mientras que el grupo control positivo tuvo la mayor temperatura rectal (41.3° C); sin embargo, el grupo que recibió solo suero fisiológico (grupo control negativo) la temperatura fue aparentemente normal entre 38.6 °C a 39.6 °C (Flecknell, 1999).

A las 16h la temperatura rectal disminuyó en todos los grupos experimentales. Sin embargo estas temperaturas registradas fueron todavía mayores que la temperatura al momento de la inoculación, siendo más alta la del grupo congelado (40.2° C). Al grupo control positivo no se le hizo la medición por muerte de los animales.

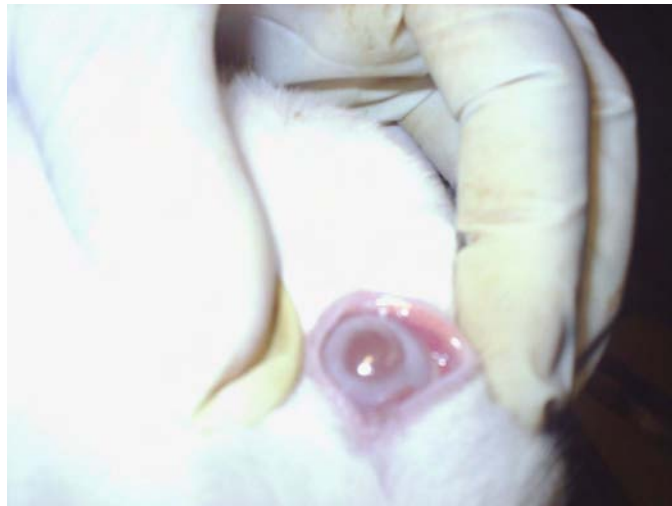
Cuadro 2: Temperatura rectal promedio por grupo experimental en conejos, registrada antes de la inoculación y a 1h, 4h, 8h, 16h post inoculación de la sustancia proteica de *S. aucheniae*\*.

GRUPOS EXPERIMENTALES	TEMPERATURA RECTAL PROMEDIO EN °C				
	Pre-inoc	1 h	4 h	8 h	16 h
CONTROL POSITIVO	38.3	39.4	41.3	40.4	Animales muertos
TRATAMIENTO 1 (cocción)	38.5	38.7	40.4	40.6	39.0
TRATAMIENTO 2 (horneado)	38.4	38.6	40.8	40.4	39.7
TRATAMIENTO 3 (fritura)	38.3	38.7	40.7	40.6	39.4
TRATAMIENTO 4 (congelado)	38.6	39.2	41.1	40.7	40.2
CONTROL NEGATIVO	38.6	38.4	39	39.6	38.9

\* Elaboración propia.

Los conejos pertenecientes al grupo congelado mostraron una moderada sintomatología tóxica, presentando hipertermia, depresión, congestión de conjuntiva y anorexia, sin embargo estos signos fueron disminuyendo en el transcurso del experimento y fueron menos marcados que los presentados en el grupo control positivo.

El grupo control positivo presentó anorexia, depresión, postración, conjuntiva ocular congestionada, lagrimeo, heces líquidas, inestabilidad, ataxia, opistótonos y muerte. Las muertes de los animales ocurrieron entre las 8h y las 10h 45' (cuadro 3).



*Fig. 9 Conjuntiva ocular congestionada en conejos*



*Fig. 10 Diarrea observada en conejos post inoculados*





*Fig. 11 Muerte de conejo del grupo control positivo*

Cuadro 3: Sobrevivencia de conejos post inoculación de Sustancia proteica (extracto de bradizoito de Sarcocystis) del grupo control positivo\*.

Animales	HORAS DE MUERTE				
	1	2	3	4	5
Grupo Control Positivo	8h	8h	8h 50´	10h 15´	10h 45´

\* Elaboración propia

Los resultados obtenidos en la necropsia de los animales que murieron en el transcurso del experimento mostraron como lesiones macroscópicas congestión de hígado, pulmón, riñón, bazo y traquea, hemorragia pulmonar, severo desprendimiento de mucosa gástrica, hemorragia en endocardio, hemopericardio en solo un animal y leve edema cerebral.



*Fig. 12. Hemorragia en el endocardio*

## **2. Evaluación de la interrupción del ciclo biológico de *Sarcocystis*.**

El examen coprológico detectó que los perros del grupo control positivo eliminaron esporoquistes a partir de los 14 días post ingestión de carne de llama no tratada físicamente. Por otro lado, no hubo eliminación de esporoquistes en los perros alimentados con carne infestada tratada con los métodos de cocción, horneado, frito y congelado. Asimismo, los perros del grupo control negativo, alimentados con concentrado comercial no eliminaron esporoquistes en el transcurso del experimento.

## V. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el objetivo uno demuestran que los métodos físicos aplicados sobre la carne de llama infectada lograron detoxificar toda vez que los conejos sobrevivieron a la inoculación de lisados de macroquistes de *Sarcocystis aucheniae*. Por lo tanto las carnes de llama parasitada con macroquistes expuestas a altas temperaturas como lo es la cocción, horneado y fritura; dadas las condiciones de temperatura y tiempo, logran inactivar la toxina presente en los extractos de macroquiste de *S. aucheniae*. Estos resultados coinciden con los hallados por Durán (2004) y Céspedes (2005) quienes reportan que el efecto del calor (autoclavado), logra desnaturalizar la sustancia proteica de los quistes.

Este efecto se atribuye a los cambios efectuados por las altas temperaturas, las cuales aumentan la energía cinética de las moléculas con lo que se desorganiza la envoltura acuosa de las proteínas, y se desnaturalizan (Lesk, 2001). Es decir, un aumento de la temperatura destruye las interacciones débiles y desorganiza la estructura de la proteína, de forma que el interior hidrofóbico interacciona con el medio acuoso y se produce la agregación y precipitación de la proteína desnaturalizada (Pränd *et al.*, 1994, Girard, 1991).

Por otro lado, el método de congelación no logró del todo inactivar la toxina, pero sí eliminó su letalidad, observándose por tanto en los conejos signos

de toxicidad moderada y su supervivencia. La congelación a  $-20^{\circ}\text{C}$  por 10 días parecería tener un efecto parcial el cual se atribuye a la formación de cristales de hielo, los cuales extraen agua ligada a las proteínas, de tal forma que estas se desorganizan (Jasper y Placzek, 1978; Lawrie, 1998). Sin embargo, los mayores daños celulares se dan en una congelado lento y a temperaturas relativamente altas (hasta  $-10^{\circ}\text{C}$ ) (Prändl *et al.*, 1994; Warris, 2003).

La hipertermia observada post inoculación de la sustancia proteica (extracto de bradizoito de *Sarcocystis*) se atribuye a los agentes desencadenantes llamados pirógenos exógenos, que actúan mediante un pirógeno endógeno idéntico a la interleucina 1 (IL-1). Esta interleucina al ponerse en contacto con las neuronas del área preóptica del hipotálamo, actúa sobre el termostato elevando su nivel (Guinart y López, 1997; Sam, 1998; Durán, 2004). En el grupo tratamiento congelado, la temperatura se mantuvo alta a las 16 horas, en comparación con los otros grupos experimentales, sin embargo fue inferior a la temperatura medida a las 4 horas post inoculación, lo que nos hace pensar que la desnaturalización de la proteína se logró en gran parte de la toxina.

Los signos observados en los conejos del grupo control positivo coinciden con los efectos letales reportados por Sam *et al* (1998), Durán (2004) y Céspedes (2005). Por otro lado, las lesiones macroscópicas observadas en los órganos de los conejos coinciden con las descritas por Sam *et al* (1998), atribuyéndolo a la acción tóxica de la sustancia proteica (extracto de bradizoito), que altera de manera aguda los órganos vitales y detoxificadores.

Los resultados obtenidos en el objetivo dos confirma el efecto de los métodos de cocción y congelado usado por Gorman (1984) Leguía y Arévalo (1990) y Céspedes (2005) en las carnes infestadas con macroquistes evaluadas en cachorros, resultando en la eliminación de la viabilidad de los macroquistes y consecuentemente la ausencia de esporoquistes en las heces. Similar efecto, se obtuvo con el horneado el cual también es reportado por Céspedes (2005) y con el método de fritura, siendo este último efecto que por primera vez es reportado. Estos resultados asemejan a lo descrito por Fayer en 2004, donde expone como medio efectivo en la destrucción de bradizoitos en músculo de cerdo,

temperaturas de 60, 70 y 100°C por un espacio de 20, 15 y 5 minutos. Se conoce que la temperatura alta degrada las proteínas, destruye las interacciones débiles y hasta los amino ácidos (Lawrie, 1998). La temperatura de congelación produce shock térmico por la formación de hielo, deshidratación y la concentración de solutos, conducentes a la muerte de las células de cualquier organismo (Girard, 1991; Warris, 2003), estos mecanismos explicarían el efecto de los tratamientos expuestos.

La eliminación de esporoquistes en las heces de perros del grupo control positivo confirma la viabilidad de los quistes utilizados en el experimento. Así mismo la ausencia de esporoquistes en las heces del grupo control negativo durante la fase experimental, confirman que los cachorros no estuvieron infestados al inicio y no adquirieron la infección en el transcurso del experimento respectivamente. Por lo tanto, el tratamiento garantiza que el perro que consuma carne tratada con uno de los métodos físicos no se infectará, consecuentemente no reproducirá el ciclo biológico del *Sarcocystis*.

El análisis estadístico obtuvo Haz Ratio de 0.84 con un 95% intervalo de confianza (0.50 – 1.40). Lo que nos dice que no hubo significancia entre los grupos tratados y el grupo control.

## VI. CONCLUSIONES

- Todos los conejos de los grupos experimentales inoculados con extracto de bradizoito de macroquistes presentes en esas carnes luego de los respectivos tratamientos de cocción, horneado, fritura y congelado sobrevivieron a su efecto letal. Sin embargo, el grupo congelado presentó leve sintomatología tóxica, es decir:

a.- Los métodos físicos: cocción, horneado y fritura lograron desnaturalizar la toxina contenida dentro de los quistes de *Sarcocystis aucheniae*, produciendo así su detoxificación.

b.- El tratamiento congelado logró eliminar la letalidad de la toxina contenida dentro de los macroquistes de *S. aucheniae*, produciendo una detoxificación parcial suficiente para causar signos pero no la muerte de los animales.

- Los perros alimentados con carne de llama parasitada tratada por uno de los métodos físicos descritos no eliminaron esporoquistes, confirmando además de la detoxificación de la carne su respectivo saneamiento es decir, los quistes dejan de ser viables.

## VII. LITERATURA CITADA

1. ACHA, P.; SZYFRES, B. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre a los animales. 3ª ed. 3:84-87. Chile
2. ALVA, J.; ROJAS, M.; NUÑEZ, A. 1980. Decomisos por Parasitosis y su Importancia Económica en Alpacas (*Lama pacos*). Rev. Inv. Pec. IVITA. UNMSM., Lima 5(1) 61-62.
3. AYALA, C. 1999. Estudio Detallado de la Ocurrencia de *Sarcocystis* en el altiplano Boliviano. En: Progress in South American Camelids research, The European Association for Animal Production. Gottingen, Germany. P. 181-185.
4. BARRIGA, O.; 2002. Las enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos en Latino América. Pg. 194-195. Ed. Germinal. Chile..
5. BENTZ, B.G.; DIRIKOLU, L.; CARTER, W.G.; SAVILLE, W.; WILLIAMS, N.M.; BERNARD, W.V.; WULFF-STROBEL, C.; BAKER, C.B.; McCRILLIS, S.; REED, S.; HARKINS, J.D.; GRANSTROM, D.E.; TOBIN, T. 2000. Diaciazuril and equine protozoal myeloencephalitis (EPM): a clinical report. Equine Veterinary Education. 12(4):195-200.
6. BRIGGS, M; FOREYT, W. 1985. *Sarcocystis* in cattle. Continuing Education 6 (7): 3.
7. CASTRO. J. 1974. *Sarcocystis aucheniae* en Llamas (*Lama glama*). Rev. Inv. Pec. (IVITA). UNMSM. 3(1): 91-92.
8. CASTRO, C.; SAM, R.; LOPEZ, T.; GONZÁLEZ, A.; SILVA, M. 2004. Evaluación de la Edad como Factor de Riesgo de Seropositividad a *Sarcocystis* sp. en Alpacas. Rev. Inv. Vet., Perú 15(1):83-86.

9. CESPEDES, C. 2005. Saneamiento y Detoxificación de la Carne de Alpaca con Sarcocistiosis Mediante Tratamientos Físicos y Químicos (Marinado y Salazón) de Uso Doméstico. Tesis de Médico Veterinario, Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima 75p.
10. COLLIN, D. 1977. La carne y el frío en: producción, transformación, comercialización. Ed. Paraninfo. España. p.41-456,82-103.
11. CONCYTEC. 1988 Seminario-Taller sobre producción, procesamiento, transformación y consumo de Carne de Camélidos domésticos. P 48. Dic. Puno.
12. CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1999. Parasitología veterinaria. p. 319-328. Ed. Interamericana Mc. Graw-Hill. España.
13. DUBEY, J. 1976. A review of *Sarcocystis* of domestic animals and of other coccidia of cats and dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. Nov 15; 169(10):1061-1078.
14. DUBEY, J. 1983. Experimental infections of *Sarcocystis cruzi*, *Sarcocystis tenella*, *Sarcocystis capracanis* and *Toxoplasma gondii* in red foxes (*Vulpes vulpes*). Wildl. Dis. 19(3): 200-203.
15. DUBEY, J. P.; SPEER, C. A.; FAYER, R. 1989. *Sarcocystiosis* of animals and man. CRC. Press. 215p. Boca Ratón, FL, USA.
16. DUBEY, J. 2000a. Prevalence of *Sarcocystis* species sporocysts in wild-caught opossums (*Didelphis virginiana*). J. Parasitol. 86(4):705-10.
17. DUBEY, J.; QUIST, C.; FRITZ, D. 2000b. Systemic Sarcocystosis in a wild turkey from Georgia. Wildl. Dis, 36(4): 755-760
18. DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; SAVILLE, W.J.A.; REED, S.M.; GRANSTROM, D.E.; SPEER, C.A. 2001a. A review of *Sarcocystis neurona* and equine protozoal myeloencephalitis (EPM). Veterinary Parasitology, 95:89-131,
19. DUBEY, J.; FRITZ, D.; LINSAY, D; SHEN, S.; KWOK, O.; THOMPSON, K. 2001b. Diklazuril preventive therapy of gamma interferon knockout mice fed *Sarcocystis neurona* sporocysts. Vet. Parasitol: 94(20): 257-264



20. DUNCAN, R.; FOX, J.; LINDSAY, D.; DUBEY, J.; ZUCCARO. 2000. Acute sarcocystosis in a captive white-tailed deer in Virginia. *J. Wildl. Dis.* 36(2): 357-361.
21. DURÁN, J. 2004. Saneamiento y Detoxificación de la Carne de Alpaca con Sarcocistis Mediante la Aplicación de Tratamientos Físicos – Químicos Apropriados para Uso Doméstico. Tesis de Médico Veterinario, Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima 54p.
22. ESCOBAR, F. 1999. La llama, reina de los Andes, conquista el mundo moderno. OEI. La Paz. Bolivia. On. Line: <http://www.oei.org.co/sii/entrega14/art09.htm#aa> (14/05/2005)
23. FARMER, J.; HERBERT, I.; PARTRIDGE, M.; EDWARDS, G. 1978. The prevalence of *Sarcocystis* spp in dogs and red foxes. *Vet Rec.* Jan; 102:78 - 80.
24. FAYER, R. 1972. Gametogony of *Sarcocystis* sp. in cell culture. *Science.* Jan. 7; 175(17):65-67.
25. FAYER, R. 1975. Effects of refrigeration, cooking, and freezing on *Sarcocystis* in beef from retail food stores. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 42:138-140
26. FAYER, R.; JOHNSON, A.; HILDEBRANDT, P. 1976. Oral infection of mammals with *Sarcocystis fusiformis* bradyzoites from cattle and sporocysts from dogs and coyotes. *J. Parasitol.* Feb;62(1):10-4
27. FAYER, R. 2004. *Sarcocystis* spp. in human infections. *Clin. Microbiol. Rev.* Oct; 17(4): 894-902.
28. FLECKNELL, P. 1999. Conejos En: Manual de animales exóticos. P. 81-95. P. Beynon.; J. Cooper (ed). Ed. Harcourt Brace. Madrid.
29. FRANCO, E.; GARCIA, W.; PEZO, D. 1998. Manual de Crianza de Llamas. Pub. Tec. FMV. (33):13-14, 20-21.
30. FRENKEL, J. K. 2000. Sarcosporidiosis. En: Hunter's tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases. Ed. G. Thomas Strickland. Fifth. Edition. Ed. W. B. Saunders Company. Philadelphia. P. 707-709.
31. GAMARRA, M. 1994. Problemática de la Crianza y Producción de la Alpaca en el Perú: Situación Actual y Alternativas de Solución. *MV Rev. Cien. Vet., Lima.* 10(4): 19-24.

32. GARRIDO, B. 2002. Propiedades de las proteínas, desnaturalización. On Line: <http://w3.cnice.mec.es/eos/MaterialesEducativos/mem2002/proteinas/tema/propiedades.html>.
33. GASCÓN BRUSTENGA J. 2006. Tratamiento de las enfermedades gastroenterológicas. AEG - Asociación Española de Gastroenterología. Ed. Doyma, S.L. On Line: <http://www.aegastro.es/cgi-bin/wdbcgi.exe/aeg/libro.fulltext?pident=13021568> (14/03/06)
34. GEORGI, J.; GEORGI, M. 1994. Parasitología en clínica canina. p. 80-81,86-87. Ed. Interamericana Mc Graw-Hill. México.
35. GIRARD, J. P. 1991. Tecnología de la carne y de los productos cárnicos. p. 5-29, 35-79,89-119. Ed. Acribia. Zaragoza.
36. GUINART, N.; LÓPEZ, J. 1997. ¿Qué sabemos de la fiebre?. Rev Cubana Med Gen Integr 13(2). On Line: [http://www.bvs.sld.cu/revistas/mgi/vol13\\_2\\_97/mgi09297.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/mgi/vol13_2_97/mgi09297.htm). (04/08/2005)
37. GORMAN, T.; ALICAINO, H.; MUÑOZ, H. 1984. *Sarcocystis sp* in Guanaco (*Lama guanicoe*) and Effect of Temperature on its Viability. *Vet Parasit* 15:95-101.
38. GUERRERO, C.; HERNANDEZ, J.; ALVA, J. 1967. *Sarcocystis* en Alpacas. Rev. Fac. Med. Vet. Lima. 69 - 76.
39. HERNANDEZ, S. 2006. Symposium del Toro de Lidia. Zafra. Sarcocistiosis Bovina. On Line: <http://www.simposiotorozafra.org/simposio.phtml?menu=5&codigo=127> (07/10/2005)
40. HIEPE, F.; LIETZKE, L.; SCHEIBNER, G.; JUNGSMANN, R.; HIEPE, T.; MONTAG, T. 1981. Untersuchungen zur toxischen Wirkung von Extrakten aus *Sarcocystis ovifelis*-Macrocysten auf Kanichen. *Mh. Vet. Med.* 36:908-910.
41. HOANE, J.; CARRUTHERS, V.; ATRIEPEN, B.; MORRISON, D.; ENTZEROTH, R.; HOWE, D. 2003. Analysis of the *Sarcocystis* neuron microneme protein SnMIC10: protein characteristics and expression during intracellular development. *Inter. Journal. Parasitol.* 33(7): 671-679.
42. HOWARD, S. 1996. Nutrición en Llamas y Alpacas. Pub. IVITA. (27):1-26.

43. HUNG, A. 2006. Avance de la Investigación en Sarcocistiosis de Camélidos Sudamericanos. Foro. Auditorio de la Dirección Regional Agraria de Puno. ON Line: <http://tumi.lamolina.edu.pe/estrategia/descarga/archivo1.pdf#search=%22FORO%3A%20AVANCE%20DE%20LA%20INVESTIGACION%3%93N%20EN%20SARCOCISTIOSIS%20%22>. (23/09/06)
44. JASPER, W.; PLACZER, R. 1978. Conservación de la carne por el frío. p.4-25,60-108. Ed. Acribia.
45. LANE, J.; MANSFIELD, K.; JACKSON, L.; DITERS, R.; LIN, K.; MACKEY, K. 1998. Acute fulminant sarcocystosis in a captive-born rhesus macaque. Vet. Pathol. 35: 499-505.
46. LAWRIE, R. 1998. Ciencia de la carne. 3ª Ed. P. 187-281. Ed. Acribia. Zaragoza.
47. LEEKE, R.; FAYER, R.; JOHNSON, A. 1977. Sheep experimentally infected with *sarcocystis* from dogs. I. Disease in young lambs. J Parasitol. Aug, 63(4):642-650
48. LEGUIA, G. 1987. Enfermedades Infecciosas y Parasitarias de las Alpacas. CICCS UNMSM-IVITA. 4. oct. P. 38-43.
49. LEGUIA, G.; CLAVO. 1989a. *Sarcocystiosis* o "Triquina". Bol. Téc. 7. agosto. CICCS. Lima. p. 1-19.
50. LEGUIA, G.; GUERRERO, C.; SAM, R.; CHAVEZ, A. 1989b. Infección Experimental de Perros y Gatos con Micro y Macroquistes de *Sarcocystis* de Alpacas (*Lama pacos*). Rev. Cienc. Vet. IVITA. Lima 5(3): 10-13.
51. LEGUIA, G.; GUERRERO, C.; SAM, R.; ROSARIO, R. 1990a. Patología del *Sarcocystis lamacanis*. *N. sp.* En Alpacas Inyectadas Experimentalmente. Rev. Cienc. Vet., Lima 6(3):11-13.
52. LEGUIA, G.; GUERRERO, C.; CHAVÉZ, A.; ARÉVALO, F.; SAM, R. 1990b. Estudio de la *Sarcocystiosis* En: Avances sobre Investigación en Salud Animal. CSA. UNMSM. Bol.23. ener. p. 43-46.
53. LEGUIA, G.; ARÉVALO, F. 1990. Efecto de la Cocción, Refrigeración, Congelación y Deshidratación (Charqui) sobre la Viabilidad del *Sarcocystis* de Alpacas. Mv. Rev. Cienc. Vet., Lima 6(1):19-20.

54. LEGUIA, G. 1991. The Epidemiology and Economic Impact of Llama Parasites. *Parasitology Today*. 7(2): 54-56.
55. LEGUIA, G. 1999. enfermedades parasitarias y atlas parasitológico de camélidos sudamericanos. 1<sup>a</sup>. ed. p. 23-29. Ed. De mar. Lima. Perú.
56. LEHNINGER, A. 1987. Bioquímica de las bases moleculares de la estructura y función celular. 2<sup>a</sup>. ed. P. 64-65. Ed. Omega S.A. Barcelona España.
57. LESK, A. 2001. Introduction to protein architecture. The Structural Biology of Proteins. Oxford University Press New York. On Line: <http://www.ehu.es/biomoleculas/PROT/PROT2.htm>
58. LEVINE, N. 1986. The Taxonomy of *Sarcocystis* (Protozoa: Apicomplexa) Species. *Parasitology Today*. 7: 54-56
59. LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L. 1995. Antiprotozoan drugs. In: ADAMS, H.R. *Veterinary pharmacology and therapeutics*, 7<sup>th</sup> ed., Iowa State University: Ames, p.955- 983.
60. LINDSAY, D.; DUBEY, J.; KENNEDY, T. 2000 determination of the activity of ponazuril against *Sarcocystis neurona* in cell cultures. *Veterinary parasitology*. 92: 165-169.
61. LINDSAY, D.; MICHELL, S.; VIANNA, M.; DUBEY, J. 2004. *Sarcocystis neurona* (Protozoa: Apicomplexa): description of oocysts, sporocysts, sporozoites, excystation, and early development. *J. Parasitol.* Jun; 90(3):461-465.
62. MANSILLA, D. 1993. Efecto Histopatológico del Lisado de Macroquistes de *Sarcocystis aucheniae* en ratones, conejos y cobayos. Tesis para Optar el Título de Médico Veterinario. Facultad de medicina veterinaria. Universidad nacional mayor de san marcos. 60p
63. MEDRANO, G. 2006. estudio Filogenético de *Sarcocystis* basado en el análisis del gen SSU rRNA, Estudio ultraestructural y detección molecular temprana en alpacas del Perú. Tesis para Optar el Grado Académico de Doctor en Ciencias con Mención en Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Peruana Cayetano Heredia. 131p.

64. MEHLHORN, H.; PLEKARSKI, G. 1993. Fundamentos de Parasitología, Parásitos del Hombre Y de los Animales Domésticos. 3ª ed. p. 72-78. Ed. Acribia. Zaragoza.
65. MELO, D. 2003. Aplicación de la Microscopía en el Estudio de la Biología Celular de *Sarcocystis sp* en el Músculo Estriado de la Alpaca (*Lama pacos*). Tesis para Optar el Grado Académico de Magíster en Biología aplicada. Lima-Perú. 70p
66. MINISTERIO DE AGRICULTURA DEL PERÚ. 2004. Sector Pecuario en el Perú. On Line: <http://www.minag.gob.pe/pecuario.shtml>. (16/02/2005)
67. MORO, M. 1968. Enfermedades de los Auquénidos. IVITA. UNMSM. 3er. Boletín Extraordinario. Dic. Perú. 61-66
68. PRÄNDL, O.; FISCHER, A.; SCHMIDHORFER, T.; SINELL, H. 1994. Tecnología e higiene de la carne. p. 237-302. Ed. Acribia. España.
69. RADCHENKO, A.; BEIER, A. 2004. Structural and functional characterization of cyst cells in *Sarcocystis sp.* (Sporozoa, Apicomplexa) *Tsitologiya*. 46(7):592-600. Russian.
70. RAMIREZ. A; FRANCO. E; PEZO. D; GARCIA. W. 1998. Diagnóstico y control de enfermedades en camélidos sudamericanos. *Pub. Tec. FMV*. Mar. (34): 70 – 73.
71. ROJAS, M.; LOBATO, I.; MONTALVO, M. 1994. Fauna Parasitaria de Camélidos Sudamericanos y Ovinos en Pequeños Rebaños Mixtos Familiares. *Rev. Pec. Inv. IVITA (Perú)*. 6(1):22-27.
72. ROJAS, M. 2004. Nosoparasitosis de los rumiantes domésticos peruanos. 2ª. ed. P. 132-133. Lima-Perú.
73. SAM, R. 1988. *Sarcocystis aucheniae*: Caracterización parcial de componentes antigénicos y patología clínica experimental en alpacas. Tesis para optar el Grado Académico de Doctor en Ciencias Biológicas. p.118. Univ. Nac. Mayor de San Marcos, Lima-Perú.
74. SAM, R.; MANSILLA, I.; MORALES, C.; RAMIREZ, A. 1998. Efecto Tóxico de Macroquistes de *Sarcocystis aucheniae* en ratones, cobayos y conejos. *Rev. Inv. Pec. IVITA (Perú)*. 9 (2): 11-18.
75. SHWEIGERT, B.; PRICE, J. 1971. Ciencias de la carne y de los productos cárnicos. p. 413-434. Ed. Acribia. Zaragoza.

76. SNEDECOR. G., COCHRAN, W\_ 1989. Statistical methods. 8th edition. The Iowa State University Press. 503 p.
77. SOULSBY, E. 1988. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7ª ed. p. 681-697. Ed. Interamericana. México.
78. TELLEZ, J. 1992. Tecnología e industrias cárnicas. 1ª ed. Tomo II. P. 360-376,460-468. Ed. Acribia. Zaragoza.
79. TENTER, A. 1995. Current research on *Sarcocystis* species of domestic animals. Int. J. Parasitol. 25:1311-30
80. TORRES, D.; SANCHEZ, A. 2001. Transformación de Carne de Camélidos- Perspectivas de Mercadeo. Rev. Inv. Vet. Perú; Suplemento. 1: 125-127.
81. VILCA, M.; MONTOYA, L. 1996. El Beneficio de Camélidos en Camales Municipales Altoandinos. MV. Rev. De Cien. Vet., Lima. 12(4): 23-28.
82. WARRIS. P. 2003. Ciencia de la Carne. p. 204-212. Ed. Acribia. Zaragoza.

## ANEXO N° 1

### Determinación de la concentración de las proteínas purificadas

En el cuadro 4, se observa la concentración de proteínas obtenidas del número de quistes colectados de las carnes de los grupos tratados y no tratados. Un menor número de quistes se obtuvieron con el método de fritura y horneado que con los métodos congelado, cocción y el control positivo. Por otro lado, los datos muestran que a mayor número de quistes mayor es la concentración de proteínas purificadas, por consiguiente; la mayor concentración se obtuvo del grupo control positivo y grupo congelado quienes tuvieron el mayor número de quistes y la menor concentración del horneado y fritura. Esto demuestra que el grupo control positivo y el grupo congelado obtuvieron la concentración más alta de proteína.

Cuadro 4. Número de quistes y concentración de proteínas medidas en  $\mu\text{g}$ . por ml. Obtenidos de carnes tratada y no tratada por métodos físicos\*.

	<b>N° DE QUISTES</b>	<b>CANTIDAD DE PROTEÍNAS (<math>\mu\text{g}/\text{ml}</math>)</b>
Cocción	105	10.5000
Horneado	80	7.700
Fritura	46	8.300
<b>Congelado</b>	<b>140</b>	<b>17.200</b>
<b>Control positivo</b>	<b>166</b>	<b>21.400</b>

\*Elaboración propia.

## ANEXO Nº 2

### Estandarización del inóculo a 1ml.

Cuadro 5. Dosis de inóculo estandarizado a 1ml. Conteniendo 100ug/Kg PV de sustancia proteica obtenida de los quistes de las carnes tratadas y no tratadas físicamente.

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>PESO PROMEDIO DEL CONEJO EN KG.</b>	<b>DOSIS<sup>1</sup> EN ml.</b>
Cocción	2.2	0.02
Horneado	2.1	0.025
Desecado	2.6	0.01
Fritura	2.1	0.025
Congelado	2.4	0.014
Grupo control positivo	2.5	0.012

<sup>1</sup> Estas cantidades fueron completados a 1 ml con PBS para la inoculación de los conejos.

\* Elaboración propia.