

**SOBRE LA PREVALENCIA DE LA SARCOSPORIDIOSIS
OVINA EN LA PROVINCIA DE LEON, CON UN ESTUDIO
COMPARATIVO DE DIVERSOS METODOS DIAGNOSTICOS**

Por Pablo Díez-Baños

En los últimos años, con la denominada «revolución de los coccidios», se ha replanteado el papel de los sarcosporidios, sobre todo al haberse comprobado su relación con otros protozoos patógenos, además de la naturaleza zoonósica de algunas especies.

Ante el creciente interés hacia este tema y la escasez de trabajos en nuestro país, nos hemos propuesto la realización de estudios centrados en la especie ovina, con animales procedentes de distintas zonas de la provincia leonesa, cuyas condiciones agrícolas hacen posible la presencia de rebaños en pastos y rastrojeras, en los que con mucha probabilidad se encuentran formas infectantes, eliminadas por los hospedadores definitivos.

Lo que pretendemos con nuestro trabajo, es, por una parte, determinar la prevalencia de la sarcosporidiosis en ovinos, a través de investigaciones *post-mortem*, comprobando la posible influencia de diversos factores y, de otra parte, estudiar qué método serológico podría ser más indicado para revelarnos el grado de parasitación, en animales vivos.

Durante el período comprendido entre mayo de 1974 y junio de 1977, tomamos 467 muestras de esófagos y 366 sueros correspondientes a ovinos, sacrificados en el matadero Municipal de León, que agrupamos según la edad y zonas de procedencia.

La investigación parasitológica directa se realizó sobre la musculatura esofágica por medio del método compresorio y digestión artificial, en tanto que la investigación serológica se realizó por métodos de aglutinación, inmunofluorescencia indirecta, inmunoelectroforesis e inmunoprecipitación.

En ausencia de preparados comerciales de antígeno, el material lo obtuvimos a partir de quistes macroscópicos de sarcosporidios ovinos.

En relación con la investigación directa, podemos deducir que, cuando la positividad es clara, tanto el método del compresorio como el de la digestión pépsica proporcionan resultados satisfactorios. La ventaja del método del compresorio sobre la digestión es de tipo práctico y, en cambio, con la digestión podemos tener un conocimiento más aproximado del grado de infección, ya que permite análisis cuantitativos. De este modo observamos cómo el número de zoitos por gramo de músculo digerido, guarda estrecha relación directa con la edad de los animales parasitados, lo que da idea de la relativa facilidad con que los ovinos pueden infectarse y supone la ausencia de inmunidad protectora.

Englobando los animales positivos, tanto con macroquistes como con microquistes, totalizaron un 68,95 % del total. Este análisis lo realizamos de modo conjunto porque, a pesar de conocerse, por el momento, la existencia de dos especies de sarcosporidios para los ovinos, no es fácil su diferenciación rápida.

Los autores consultados observan porcentajes de positividad mayores, si bien sus comprobaciones se realizan, de modo general, en grupos de animales adultos. En efecto, según nuestros resultados, hubo una acentuada dependencia de la edad, de modo especial entre los grupos extremos de edad ya que, mientras que el parasitismo era particularmente inexistente en los corderos menores de tres meses, a partir de esa edad y, sobre todo, en animales mayores de un año, la presencia de sarcosporidios en músculos alcanza la mayor intensidad. Además, comprobamos mayor frecuencia en las hembras, con cálculos estadísticos que evidenciaron diferencias significativas.

Al relacionar la parasitación con las distintas épocas del año, la incidencia fue mayor en épocas con temperaturas más suaves, ya que en otoño y primavera obtuvimos mayores porcentajes que en invierno y verano. Por ello, pensamos que existe una influencia clara de los factores climáticos sobre las formas infectantes, a pesar de la considerable resistencia de los esporocistos de sarcosporidios. La humedad y temperatura son más favorables en las estaciones citadas.

En relación con las distintas zonas de recogida, no obtuvimos diferencias estadísticamente significativas en los porcentajes de parasitación, que fué mayor en la zona de Campos, quizás atribuible a las condiciones climáticas menos rigurosas, que en las zonas de montaña y de transición.

La investigación serológica, orientada a la detección de anticuerpos, la comenzamos con pruebas de aglutinación rápida y lenta, que no dieron resultados en completa concordancia respecto a la presencia de quistes musculares, si bien es cierto que detectaron respuestas ante la infección, puesto que, cuando las aglutinaciones eran positivas, en su mayor parte se evidenciaron quistes musculares.

Basados en el estudio de sueros ovinos, con la técnica de inmunofluorescencia indirecta, podemos afirmar que, cuando los resultados son positivos a diluciones iguales o superiores a 1/40, cuentan con las máximas posibilidades de corresponder a animales parasitados, aunque no sea posible determinar si se trata de quistes macro o microscópicos. Cuando los resultados son negativos, no se puede eliminar la posibilidad de la presencia de quistes, a pesar de que representen un porcentaje pequeño.

Frente a los mismos sueros ovinos estudiamos, de modo orientativo, las técnicas de geldifusión e inmunoelectroforesis, utilizando antígenos obtenidos por diversos métodos. La geldifusión no nos proporcionó resultados muy concluyentes, mientras que, a través de la inmunoelectroforesis, se apreciaron arcos de precipitado, pero sin relación muy estrecha con otros resultados serológicos, ni con la parasitación muscular, determinada de modo directo. Estos resultados plantean la cuestión de obtener el antígeno más idóneo, así como su comportamiento en la electroforesis.

La reacción de inmunoelectroforesis cruzada en tiras de «cellogel» detectó respuestas positivas traducidas por la formación de líneas de precipitado, cuya especificidad y sensibilidad tratamos de comprobar a través de comparaciones con otras pruebas serológicas y con el diagnóstico directo. Con esta técnica no se detectan positividades, comprobadas por inmunofluorescencia y aglutinación, si bien, estos casos representan porcentajes bajos. Por otra parte, la coincidencia con la parasitación muscular tampoco fue completa, aunque sí bastante indicativa.

Considerando los resultados anteriormente expuestos, hemos llegado a las siguientes conclusiones:

1. La prevalencia de la parasitación por *Sarcocystis* spp., en los 467 ovinos estudiados, fue del 68,95 %, con el 43,47 % portadores de microquistes exclusivamente y el resto (25,48 %), con parasitismo apreciable macroscópicamente, sobre todo en los animales mayores de un año.

Salvo la lesión esofágica, en los casos en que era patente, no se observaron otras alteraciones atribuibles al parasitismo.

2. La frecuencia de la sarcosporidiosis de los ovinos guarda estrecha relación con la edad. Hasta tres meses prácticamente no se observaron quistes; entre tres y seis meses estaban parasitados el 65,5 %, entre seis meses y un año, el 90,48 %; entre uno y dos años, el 92,46 % y en los mayores de dos años el 95,60 %.

3. Cuando se consideraron el sexo y las diferentes épocas del año, se hallaron diferencias estadísticamente significativas, estando las hembras más parasitadas que los machos y siendo la parasitación más elevada en otoño y primavera. En cambio, no observamos significación en los resultados obtenidos de las tres zonas de estudio, montaña, transición y de Campos.

4. Tanto el método del compresorio como el de la digestión, son técnicas que proporcionan buenos resultados para diagnosticar la presencia de microquistes, sean de *Sarcocystis ovicanis*, HEYDORN, 1975, o bien formas iniciales de *S. ovifelis* (= *S. tenella*, pro parte).

5. El nivel de respuesta serológica no guarda relación estrecha con la presencia de macro o microquistes.

5.1. Los resultados de las aglutinaciones rápida (en porta) y lenta (en tubo) coinciden, en general. A partir de 1/80, en ambas técnicas es de esperar la presencia de quistes por encima del 86 % de los animales. Títulos inferiores no ofrecen tal concordancia.

5.2. La IFI resultó superior a las aglutinaciones en el diagnóstico de la sarcosporidiosis, estimándose como positivos los títulos de 1/40 y superiores, con los cuales la coincidencia con la presencia de quistes musculares fue del 94,83 %.

5.3. La comparación entre los resultados de las reacciones de aglutinación y de IFI demuestra la existencia de una discordancia, atribuible a la distinta naturaleza de los anticuerpos y a la diversa cinética de los mismos.

5.4. Con las técnicas de inmunoelectroforesis e inmunodifusión, no se obtuvieron resultados satisfactorios, con los antígenos y en las condiciones en que las realizamos. En cambio, la inmunoelectroforesis en tiras de «cellogel» detectó respuestas positivas, si bien, su eficacia fue inferior a la de la IFI y a la de la aglutinación.

SHEEP SARCOSPORIDIOSIS IN LEON (SPAIN) WITH A COMPARISON OF SEVERAL DIAGNOSTIC PROCEDURES

Some aspects of sheep sarcosporidiosis have been studied in León province (Spain). The number of animals tested was 467, their ages, sex and origin being very varied. The prevalence was 68.95 %, assessed by means of peptic digestion, compressorium and macroscopic examination.

The frequency of sarcosporidiosis is closely related to age, being more than 90 % in animals older than one year, and to sex, being higher in females than in males. There are also seasonal variations, the highest frequency being observed in fall.

Peptic digestion and compressorium methods are good techniques to examine *Sarcocystis* spp microcysts.

366 ovine sera, from animals of different ages and infection level, were studied by means of indirect fluorescence antibody technique (IFAT), agglutination test, immunoelectrophoresis test, immunodiffusion test and crossed immunoelectrophoresis in «cellogel» strips (gelatinized cellulose acetate strips).

All antigens used were prepared, by different procedures, from isolated macrocysts of ovine esophagus.

IFAT was the best serological test, showing 94.83 % parasited animals with titles higher than 1/40. Agglutination test has a lower efficiency positive porcentages being 86 % with titles of 1/80 or higher. Immunoelectrophoresis technique in «cellogel» strips can give positive results but its efficiency is lower than of the IFAT and agglutination test. Results were not vary satisfactory using immunoelectrophoresis test and immunodiffusion test in agarose, at least in the conditions of our experiment.