

***Sarcocystis* spp. EN TEJIDOS MUSCULARES DE BÚFALOS DE AGUA (*Bubalus bubalis*) EN VENEZUELA**

***Sarcocystis* spp. in muscular tissues of water buffalos (*Bubalus bubalis*) in Venezuela**

José Manuel Rivero¹; Franklin Mujica^{2†}, Luis Pargas³, Humberto Henríquez², Ortelio Mosquera⁴ y María Forlano².

¹Área de Microbiología e Higiene de los Alimentos, ²Área de Parasitología Veterinaria, ³Área de Producción Animal; ⁴Área de Epidemiología Veterinaria de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA), Barquisimeto. Estado Lara Venezuela. Corresponding author: e-mail: jmrivero@ucla.edu.ve

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue la identificación de quistes de *Sarcocystis* spp. en tejido muscular de búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) sacrificados en un matadero del centro occidente del país. Desde la perspectiva de salud pública, la sarcocistosis es una enfermedad transmitida por la ingestión de alimentos, y es causada por aproximadamente 130 especies de *Sarcocystis*, con diferencias en el ciclo evolutivo y patogenicidad, especialmente en rumiantes. En Venezuela, los datos disponibles sobre la presencia del parásito en animales de abasto, se limitan al ganado vacuno, cerdos y pequeños rumiantes. Se seleccionó 100% de la población bufalina sacrificada entre los meses enero-diciembre del 2013; cada muestra muscular colectada tenía un peso promedio de 50 gr y fueron obtenidas de tejido muscular diafragmático (TMD), tejido muscular cardíaco (TMC), y tejido muscular esofágico (TME), colectadas en la línea de sacrificio al momento de la inspección post-mortem de vísceras rojas y canales, sin lesiones macroscópicas aparentes. La detección de quistes de *Sarcocystis* spp., se realizó mediante las técnicas de diagnóstico de compresión de tejido en fresco, y microscopía óptica. Un animal se consideró positivo cuando se identificó la presencia de al menos un quiste en alguno de los tejidos. El 72,8% de animales parasitados por *Sarcocystis* spp., mostraron quistes en los tres tejidos evaluados. El TMC resultó el más afectado con una frecuencia de infección (FI) del 94%. Estadísticamente la FI del TMC-TMD y TMC-TME, reveló diferencias significativas ($P < 0,05$). El tejido muscular cardíaco presentó mayor intensidad parasitaria (IP) para muestras positivas (3,5%) con cinco quistes. Los quistes del TMC fueron cortos y estrechos (33,1-25,4 μ m) con forma ovoide u esferoidal, en proporción a los TMD (62,4-43 μ m) y TME (56,6-37,5 μ m) que fueron más largos y anchos. Se determinó un 98,06% de FI por *Sarcocystis* spp. en tejido muscular de búfalos de agua. Es el primer reporte de esta coccidia en tejido muscular de búfalos de agua en Venezuela.

Palabras clave: Búfalos de agua; *Sarcocystis*; tejido muscular; quistes.

ABSTRACT

Main objective of this research was to identify cysts of *Sarcocystis* spp. in muscular tissue of water buffalos (*Bubalus bubalis*) slaughtered at an abattoir located at the Venezuelan West Central region. Sarcocystosis is a food borne disease which may be caused by around 130 *Sarcocystis* species with differences in pathogenicity, and in their life cycles, in particular in ruminants. Data available for Venezuela with regard to the presence of this parasite in domestic animals is limited to cattle, pigs, and small ruminants. One hundred percent (100%) of the buffalos population slaughtered between January and December 2013 was selected. Each sample collected had a weight of around 50 g of diaphragm muscular tissue (DMT), cardiac muscular tissue (CMT), and esophagous muscular tissue (EMT), which were collected immediately after the post mortem sanitary inspection of red viscera and carcasses, without macroscopic lesions. *Sarcocystis* spp. cysts were detected by a diagnostic technique of compressing the fresh tissues between two pieces of glass, and next direct microscopic examination. Any animal was considered positive when at least one *Sarcocystis* spp. cyst was identified in its sample. A 72.8% of checked buffalos showed *Sarcocystis* spp. cysts in the three tissues collected. The CMT showed the greater frequency of infection (FI) with a 94% of cases. Statistically the FI of CMT-DMT, and CMT-EMT showed significant differences ($P < 0.05$). The CMT also exhibited a higher parasite intensity (PI) for positive samples (3.50%) with five cysts. Morphologically, the CMT *Sarcocystis* cysts were spherical or ovoid, short and narrow (33.1–25.4 μ m), whereas the DMT (62.4 - 43 μ m) and the EMT (56.6–37.5 μ m) were larger and wider. The FI for *Sarcocystis* spp. in muscular tissues of water buffalos was 98.06%. This is the first report of this coccidial parasite in muscular tissues of water buffalo in Venezuela.

Key words: Water buffalo; *Sarcocystis*, cysts; muscular tissue.

INTRODUCCIÓN

La sarcocistosis o sarcosporidiosis, es una enfermedad parasitaria producida por protozoos del phylum Apicomplexa, género *Sarcocystis*, con notable impacto económico y relevancia veterinaria en todo el mundo [11]. Los animales domésticos infectados por *Sarcocystis* spp. a menudo suelen presentar reducción en la ganancia de peso, producción de leche, y manifestaciones patológicas con clínica y subclínica diversa: anorexia, fiebre, anemia, debilidad muscular, abortos e inclusive la muerte [12]. Desde la perspectiva de la salud pública, es una enfermedad transmitida por alimentos y debe considerarse como una zoonosis tóxica, debido a la acción de sustancias dentro de los quistes [2]. El género *Sarcocystis* comprende aproximadamente 130 especies de coccidios formadores de quistes, con diferencias en el ciclo evolutivo y patogenicidad, especialmente en rumiantes [36]. Posee un ciclo evolutivo indirecto que requiere la participación obligatoria de dos hospedadores, un hospedador definitivo (HD) en donde tiene lugar la fase intestinal del ciclo coccidiano o fase sexual del parásito y un hospedador intermediario (HI), en donde se desarrolla la fase tisular o asexual, caracterizada por la presencia de quistes en la musculatura esquelética y cardíaca [11]. El búfalo de agua (*Bubalus bubalis*) ha sido considerado HI específico para algunas especies *Sarcocystis* spp., [10, 19-21, 32] utilizando como HD a canidos y felinos. Sin embargo, estudios taxonómicos realizados en tejidos musculares en búfalos de agua, han determinado la presencia de *Sarcocystis* spp. con características morfológicas similares a *S. cruzi*, considerándose la posibilidad que el búfalo de agua actué como HI en forma natural de esta especie [37, 38]. *Sarcocystis* spp. es un protozoo con amplia distribución geográfica con elevada prevalencia en la ganadería bovina, bufalina y porcina que fluctúan entre el 90 y 100 % [11]. En Venezuela, los datos disponibles sobre la presencia del parásito en animales de abasto, se limitan a ganado vacuno [8, 16, 34]. El presente estudio tuvo como finalidad determinar la presencia de *Sarcocystis* spp. en tejidos musculares de búfalos de agua sacrificados en un matadero del Centroccidente de Venezuela, y su pertinencia en la salud pública.

MATERIALES Y MÉTODOS

La población muestreada estuvo constituida por 1753 búfalos de agua machos y hembras procedentes de fincas ganaderas ubicadas en diferentes Estados del país. Se seleccionó el 100% de la población bufalina sacrificada en el Matadero Industrial Centro Occidental C.A, entre los meses de enero y diciembre del 2013.

Previo a la recolección de la muestra, los búfalos de agua fueron sometidos a un control sanitario por funcionarios de organismos oficiales del Estado, como requisito indispensable para el sacrificio de los animales de abasto en los mataderos de Venezuela [6]. En la línea de faena, específicamente durante la inspección sanitaria *postmortem* [7] de cada animal sacrificado, se seleccionaron fragmentos de tejido muscular cardíaco

(TMC), tejido muscular diafragmático (TMD), y tejido muscular esofágico (TME). El procedimiento empleado para la extracción de las muestras fue la técnica de incisión y corte en los tejidos musculares del ventrículo izquierdo del corazón, pilares del diafragma y esófago parte media, utilizando un bisturí n° 4 de hoja n° 20 y pinzas de disección estériles. Seguidamente las muestras de TMC, TMD y TME, fueron colocadas en bolsas plásticas identificadas conforme al animal correspondiente, para ser transportadas en una caja térmica portátil con hielo al laboratorio de Parasitología Veterinaria del Decanato de Ciencias Veterinarias de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado".

La frecuencia de infección por *Sarcocystis* spp., así como el tipo de muestra se estableció en base a estudios sobre la sarcocistosis en bovinos de América del Sur [8, 33, 34]. La frecuencia de infección esperada fue del 90% y la mínima aceptada del 80%. El tamaño de la muestra a analizar fue calculado aplicando el programa estadístico Epi-info versión 3.5.3 [4] considerando una población infinita, 95% de confianza y un error del 5%. El valor obtenido fue de 5361 muestras, siendo ejecutadas 5259 (98%), que divididas entre los TMC, TMD, TME promedió 1753 por tipo de tejido.

La detección de quistes de *Sarcocystis* spp., se realizó mediante la técnica de compresión de tejido en fresco, acompañada de microscopía óptica (Olympus, CX41, Japón) para la observación e identificación de los quistes [8]. Las muestras de los tejidos fueron cortadas a un peso estándar de 20 gramos cada una [33] utilizando una balanza electrónica (SARTORIUS BASIC – Model B120S, EUA). Posteriormente fracciones más pequeña de la muestra (aproximadamente 0,5 mm³), se colocaron en una lámina porta objeto y fue comprimida fuertemente contra otra lámina, de modo que el tejido se disperse hasta obtener un extendido uniforme y translúcido de tejido muscular [34]. A cada una de las preparaciones se le colocó una gota de azul de metileno al 0,1% como medio de contraste, para ser examinadas inmediatamente, en un microscopio óptico con objetivos de 4X, 10X y 40X (Olympus, CX41, Japón) con cámara (Olympus, Q – color 3, Canadá) y procesador (Dell OptiPlex GX 620, EUA).

La identificación de *Sarcocystis* spp. en cada tejido muscular se determinó por: presencia de quistes, frecuencia de infección (FI) la cual está dada por la frecuencia de infección relativa (FIR) y frecuencia de infección absoluta (FIA), dimensiones (largo y ancho), morfología e intensidad parasitaria (IP) .

Una muestra se consideró positivo cuando se observó la presencia de al menos un quiste en alguna de las preparaciones de tejidos analizadas. La identificación de *Sarcocystis* spp. se realizó por sus características morfológicas ovoides, redondeadas o alargadas (fusiformes) [12]. Las mediciones de los quistes se realizaron con un objetivo micrométrico 6x (LEITZ Weztlar, Alemania), mientras que la IP fue definida como el número de quistes presentes en el frotis de tejido expresada como número de quistes/muestra [14]. Algunos de los quistes identificados fueron extraídos de las muestras de tejidos musculares su

posterior ruptura de la membrana, con la ayuda de estiletes para permitir la liberación de los merozoítos y su posterior observación al microscopio óptico con objetivo de 40X.

A fin de establecer dependencias y asociaciones entre las variables, se aplicó el análisis estadístico a través del programa SPSS versión 15 [35]. Para la presencia de quistes entre los TMC, TMD, TME, se utilizó el Anova de Kruskal Wallis conforme a la técnica de Shapiro – Wilk y Kolmogorov-Smimov, la prueba U de Mann Whitney para evaluar el tejido más afectado, mientras que para las dimensiones de los quistes se utilizó la estadística descriptiva. Se tomó como asociación estadística significativa un valor de $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de 5259 muestras de tejidos musculares (TMC, TMD, TME), obtenidas de 1753 búfalos de agua en un matadero del centro occidente, estableció que 1719 animales tenían quistes de *Sarcocystis* spp., en cualquiera de los tipos de tejidos musculares examinados, para una FI del 98,06%, TABLA I.

TABLA I
FRECUENCIA DE INFECCIÓN POR *Sarcocystis* spp.
EN BÚFALOS DE AGUA, SEGÚN EL NÚMERO TEJIDOS
MUSCULARES AFECTADOS

Animales positivos FI %	Tejidos musculares afectados
1252 (72,8)	TMC - TMD – TME
183 (10,7)	TMC – TMD
139 (8,1)	TMC – TME
31(1,8)	TMD – TME
73 (4,2)	TMC
28 (1,6)	TMD
13 (0,8)	TME

Estos resultados indican que *Sarcocystis* spp. es un parásito frecuente en los tejidos musculares de los búfalos de agua, con notable relevancia en salud pública [11, 13]. Sin embargo, investigadores en Iran, Egipto e Irak, han reportado valores de FI en tejidos musculares de búfalos de agua con porcentajes que van desde un 28 a 81,2% [17, 22-24]. Es importante destacar que en América del Sur, se han realizados diversos estudios en tejidos musculares de bovinos, donde se detectaron FI superiores a 90% [8, 33, 34].

Este estudio demostró que el 72,8% de los búfalos de agua (TABLA I) estaban parasitados por *Sarcocystis* spp. en los tres tejidos musculares analizados (TMC, TMD y TME). Estudios realizados en ganadería bovina han reportado un 100% de

animales con los tres tejidos afectados [27], mientras que en búfalos de agua se han reportado solamente en dos tejidos (TMC-TME) en un 66,7 % de los animales analizados [23], difiriendo con estos resultados donde el porcentaje de TMC y TME fue de 8,1%.

En cuanto a la FI de cada uno de los tejidos musculares (TMC, TMD y TME) se determinó que el 87% de las muestras estaban positivas a *Sarcocystis* spp., siendo el más afectado, el tejido muscular cardiaco (TABLA II).

TABLA II
FRECUENCIA DE INFECCIÓN *Sarcocystis* spp. EN TEJIDO
MUSCULAR DIAFRAGMÁTICO, CARDIACO, Y ESOFÁGICO
EN BÚFALOS DE AGUA

Tejidos positivos FI %	Tipo de tejido muscular afectado
1647(94%)	TMC
1494(85%)	TMD
1435(82%)	TME
4576 (87%)	

Valores similares han sido reportados en búfalos de agua y ganado vacuno, donde se han obtenido porcentajes entre 80 y 97% de quistes de *Sarcocystis* spp., en los tejidos musculares cardiacos, diafragmáticos y esofágicos [8, 18, 24, 34]. Sin embargo, difieren con otros estudios, donde se determinaron valores que van de un 28 a 66,7% de quistes en TMC, TMD y TME en búfalos de agua [17, 22, 23].

La detección de quistes parasitarios de acuerdo a su localización tisular, se logró determinar una FI de 94% en TMC, 85% TMD y un 82% en TME. Estos porcentajes, difieren de diversos estudios en búfalos de agua, donde han reportado valores inferiores en la FI por *Sarcocystis* spp., en el TMC (66,7 %), TMD (30%) y TME (27,7%) [23, 26, 31]. El análisis estadístico de la FI por tipo de tejidos musculares, reveló la existencia de diferencias significativas para el TMC ($\chi^2=85,42$; $P < 0,05$, al ser más propenso a la infección por *Sarcocystis* spp., resultados que coinciden con los observados por diversos autores en bovinos y búfalos [8, 29, 33, 34]. Por el contrario, diversos estudios han demostrado que el tejido muscular más afectado es el esofágico [1, 9, 15, 17].

Al comparar estadísticamente las FI del TMC (1647) con el TMD (1494) y TME (1435) se observaron diferencias significativas $P < 0,05$. Sin embargo, al comparar las FI del TMD y TME no se evidenciaron diferencias significativas $P > 0,05$. Resultados similares fueron aportados por Mirzaei y col. [27] y Oryan y col. [31], quienes afirman no haber encontrado diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los valores de la FI por *Sarcocystis* spp. en el TMC, TMD y TME de bovinos y búfalos de agua.

En la TABLA III se presenta la intensidad parasitaria (IP) por *Sarcocystis* spp. en función de la localización en los tejidos

musculares. De acuerdo a los valores tabulados se observó variaciones en el número de quistes en los TMC, TMD y TME.

TABLA III

INTENSIDAD PARASITARIA POR *Sarcocystis* spp. EN TEJIDOS MUSCULARES CARDÍACO, DIAFRAGMÁTICO Y ESOFÁGICO DE BÚFALOS DE AGUA

Nº quistes	TMD %	TMC %	TME %	Total %
1	570 (38,2)	494 (30,0)	343 (23,9)	1407 (30,7)
2	483 (32,3)	537 (32,6)	482 (33,6)	1502 (32,8)
3	301 (20,1)	383 (23,3)	376 (26,2)	1060 (23,2)
4	123 (8,2)	175 (10,6)	205 (14,3)	503 (11,0)
5	17 (1,1)	58 (3,5)	29 (2,0)	104 (2,3)
Total	1494	1647	1435	4576

Los resultados indican que 4576 muestras de tejidos musculares estaban positivas a *Sarcocystis* spp. con IP de 1 a 5 quistes, resultados concuerdan con los reportados en Venezuela para el ganado vacuno, dato no reportado anteriormente para la especie bufalina [8]. Asimismo, se pudo observar que a medida que la IP se incrementa, el número de muestras positivas de cada uno de los tejidos tiende a disminuir. Este hecho pone de manifiesto que el número de quistes por campo microscópico indican, que la IP es inversamente proporcional al grado de infección por *Sarcocystis* spp. en los TMC, TMD y TME similar situación fue referida por ONO y Osumi [30].

Al comparar las IP entre muestras de tejidos musculares se determinó que el TMC presento mayor recuento de muestras positivas con cinco quistes, seguido del TME y TMD con cuatro a cinco quistes, respectivamente. Esto confirma lo que otros investigadores han mencionado, que el músculo cardíaco es

el más intensamente parasitado [8, 14, 34]. Sin embargo, se ha observado que la IP varía considerablemente de un tejido muscular a otro [3, 9, 25].

En cuanto a las medidas de largo por ancho de los quistes en los tejidos estudiados, se presentaron variaciones en las dimensiones, como lo indican los valores obtenidos en la TABLA IV. De acuerdo a lo anterior, se determinó que el TMC presentó 33,1µm de largo (L) y 25,4µm de ancho (A), en el TMD de 62,4µm (L) y 43µm(A); mientras que en el TME se observó una longitud de 56,6µm por 37,5µm de ancho. Igualmente, se determinó que los quistes en el TMC son más cortos y menos anchos, con predominio de las formas ovoides o esferoidales, mientras que los patrones morfológicos para los quistes observados en el tejido diafragmático y esofágico fueron más largos que anchos predominando las formas alargadas (FIG. 1).

TABLA IV

DIMENSIONES DE QUISTES DE *Sarcocystis* spp. EN MUESTRAS DE TMC, TMD Y TME DE BÚFALOS DE AGUA

Tejido	Largo (µm)		Ancho (µm)	
	Media	Rango	Media	Rango
Cardíaco	33,1	16,3-81,9	25,4	15,6-79,8
Diafragmático	62,4	17,8-105	43	12,3-99,5
Esofágico	56,6	18 -101	37,5	13-98

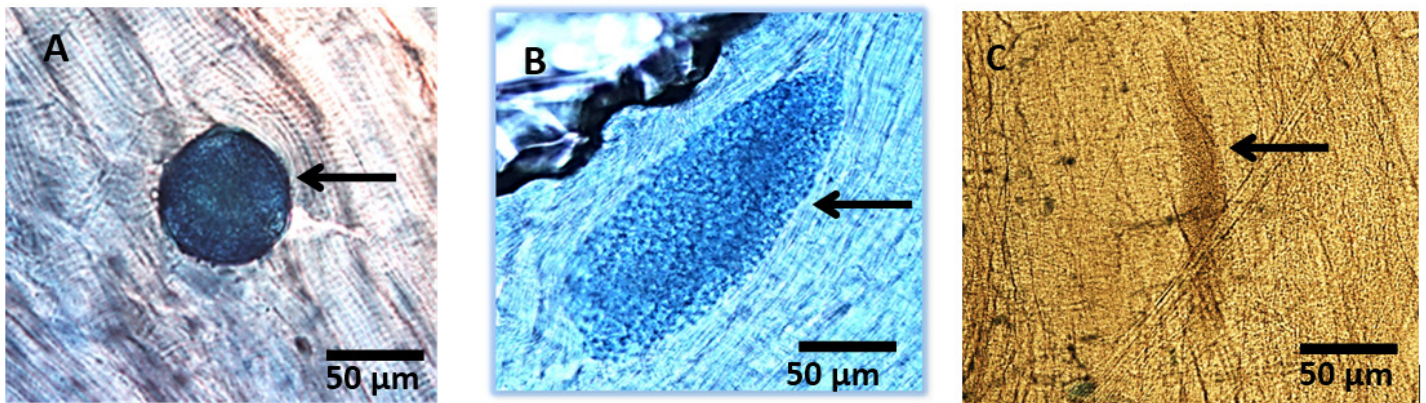


FIGURA 1. QUISTES DE *Sarcocystis* spp. EN TEJIDO MUSCULARES DE BÚFALOS DE AGUA. A) TMC B) TMD C) TME. COLORACIÓN AZUL DE METILENO 0,1% (OBJETIVO 40X).

Los resultados del presente estudio revelaron que las dimensiones de los quistes de *Sarcocystis* spp., no guarda relación directa con la localización en los tejidos y las variaciones en el tamaño, esta situación pudiese indicar que los quistes observados corresponden a cualquier especie del género *Sarcocystis* que su HI sea el búfalo de agua, corroborando los hallazgos de otros autores que han estudiado las dimensiones de los quistes en esta especie, los cuales indican que el tamaño varía según la especie del parásito y edad de los quistes, sin embargo, señalan que con aumentos alcanzables por microscopía de luz óptica es improbable que se logre hacer tal diferenciación [5, 16].

En relación a la morfología de los quistes (FIG. 1) estos

resultados coinciden con los reportados por diversos autores quienes afirman que los quistes de *Sarcocystis* spp., en su mayoría son fusiformes, o de forma globosa en estadios intermedios de maduración, con predominio sobre las formas alargadas en los tejidos en TMC, TMD y TME de ganado vacuno y búfalos de agua [11, 14, 26].

Los resultados de la maceración de los quistes (bradizoítos) del tejido muscular cardíaco (FIG. 2a) permitieron la liberación de numerosos merozoítos (FIG. 2b) donde se pudo determinar la morfología de cada uno, identificándose formas alargadas, ligeramente curvadas, con extremos redondeados y afilados de aproximadamente 13 µm.

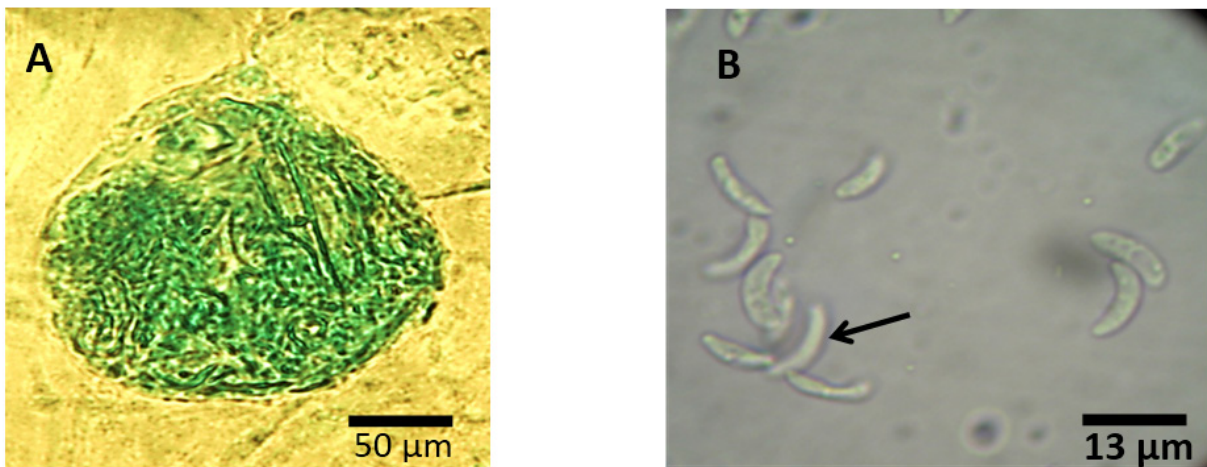


FIGURA 2. FORMAS EVOLUTIVAS DE *Sarcocystis* SPP. EN TEJIDO MUSCULAR CARDÍACO DE BÚFALOS DE AGUA. A) BRADIZOÍTOS, B) MEROZOÍTOS. COLOREADOS CON AZUL DE METILENO 0,1%. OBJETIVO: 40X Y 100X/.

Estos resultados concuerdan con las descripciones de Godoy y col. [16] y Nahed y col. [28], en tejido muscular de ganado vacuno y búfalos de agua, mientras que Abu-Elwafa y col. [1]

reportaron que los merozoítos pueden exhibir variaciones en su tamaño dentro de un mismo quiste.

CONCLUSIONES

La infección por *Sarcocystis* spp. está ampliamente distribuida en búfalos de agua sacrificados en el Matadero Industrial Centroccidental, Barquisimeto, estado Lara, con una frecuencia de infección alta.

Un alto porcentaje de los animales parasitados por *Sarcocystis* spp., mostraron quistes en los tres tejidos evaluados.

El tejido muscular cardíaco fue el que presentó una mayor intensidad parasitaria por *Sarcocystis* spp.

Los quistes en el TMC fueron de menor diámetro, ovoide u esferoidal, en comparación con los TMD y TME, que fueron más largos y anchos predominando las formas alargadas.

AGRADECIMIENTO

A la Unidad de Investigación y el laboratorio de Diagnóstico de Parasitología Veterinaria del DCV-UCLA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ABU-ELWAFI, S.A.; ABBAS, I.E.; AL-ARABY, M.A. Ultra structure of *Sarcocystis buffalonis* infecting water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Egypt. **Int J.** 3(1): 452-457. 2015.
- [2] AZUMENDI, J.I.; GRANA, I.; REY, Y.A.; PINZON, C.; FORERO, L.F.; PÉREZ, L.F. Efectos de la toxina de *Sarcocystis* (sarcocistina). **Rev. Sal. Anim.** 17-273-184. 1995.
- [3] BUCCA, M.; BRIANTI, E.; GUIFFRIDA, A.; ZINO, G.; CICCARI, S.; PANEBIANCO, A. Prevalence and distribution of *Sarcocystis* spp. cists in several muscles of cattle slaughtered in Sicily, Southern Italy. En: **Food Contr.** 22: 105-108. 2010.
- [4] CENTRO DE CONTROL Y PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES (CDC). Epi Info 3.5.3. Programa de base de datos y estadísticas para los profesionales de la salud pública. Atlanta, Georgia, EE.UU. 2007.
- [5] CHEN, X.; ZUO, Y.; ROSENTHAL, B.M.; HE, Y.; CUI, L.; YANG, Z. *Sarcocystis sinensis* is an ultrastructurally distinct parasite of water buffalo that can cause foodborne illness but cannot complete its life-cycle in human beings. **Vet. Parasitol.** 178: 35-39. 2011.
- [6] COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). Norma Venezolana COVENIN N° 2071-83. Ganado Bovino. Inspección Ante Mortem. Editado por FONDONORMA. Pp 11. 1983.
- [7] COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). Norma Venezolana COVENIN N° 2072-83. Ganado Bovino. Inspección. Post Mortem. Editado por FONDONORMA. Pp 12. 1983.
- [8] CORONADO, A.; RIVERO, J.M.; MOSQUERA, O.; MUJICA, F.; HENRIQUEZ, H. Prevalencia de *Sarcocystis* spp. en bovinos de carne sacrificados en la región Centroccidental de Venezuela. **XVIII Congreso de la Federación Latinoamericana de Parasitología.** Margarita. 10/ 21 – 25, Venezuela. Pp 335. 2007.
- [9] DAFEDAR, A.; D'SOUZA, P. E.; MAMATHA, G. S. Prevalence and morphological studies on *Sarcocystis* species infecting cattle in Bangalore. **J. Vet. Parasitol.** 25(2): 183-184. 2011.
- [10] DISSANAIKE, A.S.; KAN, S.P. Studies on *Sarcocystis* in Malaysia I. *Sarcocystis levinei* n. sp. from the water buffalo *Bubalus bubalis*. **Zeitschrift für Parasitenkunde.** 55: 127-138. 1978.
- [11] DUBEY, J.P.; SPEER, C.A.; SPEER, C.A.; FAYER, R. Sarcocystosis in water Buffalo (*Bubalus bubalis*). In: **Sarcocystosis of Animals and man.** CRC Press. Boca Raton, FL. Pp 137-139. 1989.
- [12] DUBEY, J.P.; UDTUJAN, R.M.; CANNON, L.; LINDSAY, D.S. Condemnation of beef because of *Sarcocystis hirsuta* infection. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 196:1095-6. 1990.
- [13] EL-DAKHLY, K.M.; KHALED, A.; EL-NAHASS, E.S.; HIRATA, A.; SAKAI, H.; YANAI, T. Prevalence and distribution patterns of *Sarcocystis* spp. in buffaloes in Beni-Suef, Egypt. **Trop. Anim. Health Prod.** 43(8): 1549-1554. 2011.
- [14] FALCÓN, Q.L.; EXEBIO, J.J.; ESTEBAN, M.D.; SOTO, B.P.; FALCÓN, G.I.; FERNÁNDEZ, R. Densidad parasitaria de *Sarcocystis* spp. en miocardio de bovinos en dos centros de comercialización de carne en Lima Metropolitana, Perú. **Rev. Per. Parasitol.** 18(2). 2010.
- [15] FATMA, G.S.; MAHASI, M.; HODA, M.K. *Sarcocystis* infection in cattle at Assiut abattoir: microscopical and serological studies. **Ass. Univ. Bull. Environ. Res.** 11:47-58. 2008.
- [16] GODOY, G.; VOLCAN, G.; GUEVARA, R. *Sarcocystis fusiforme* en bovinos del estado Bolívar, Venezuela. **Med. Trop. Sao Paulo.** 19(1):68-72. 1977.
- [17] HAMIDINEJAT, H.; NABAVI, L.; KHADJEH, G.; GHOURBANPOUR, M.; RAZIJALALI, M.; BRIESE, A.; HARTUNG, J. *Sarcocystis* infection in meat: comparison of digestion method, dob smear and macroscopic investigation in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Iran. In Sustainable animal husbandry: prevention is better than cure. **Soc. Anim. Hyg.** 1:175-177. 2009.
- [18] HAMIDINEJAT, H.; RAZI JALALI, M.H.; NABAVI, L. Survey on *Sarcocystis* infection in slaughtered cattle in south-west of Iran, emphasized on evaluation of muscle squash in comparison with digestion method. **Med. Well J.** 9(12): 1724-1726. 2010.
- [19] HUONG, L.T. Prevalence of *Sarcocystis* spp. in water buffaloes in Vietnam. **Vet. Parasitol.** 86(1):33-39. 1999b.

- [20] HUONG, L.T.; DUBEY, J.P.; NIKKILA, T.; UGGLA, A. *Sarcocystis buffalonis* n. sp. (Protozoa: Sarcocystidae) from the water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Vietnam. **J. Parasitol.** 83(3): 471-474. 1997.
- [21] HUONG, L.T.; UGGLA, A. *Sarcocystis dubeyi* n. sp. (Protozoa: Sarcocystidae) in the water buffalo (*Bubalus bubalis*). **J. Parasitol.** 85 (1): 102-104. 1999a.
- [22] KHALIFA, R.M.; EL-NADI, N.A.; SAYED, F.G.; OMRAN, E.K. Comparative morphological studies on three *Sarcocystis* species in Sohag, Egypt. **J. Egypt Soc. Parasitol.** 38(2):599-608. 2008.
- [23] LATIF, B.; VELLAYAN, S.; HEO, C. C.; KANNAN KUTTY, M.; OMAR, E.; ABDULLAH, S.; TAPPE, D. High prevalence of muscular sarcocystosis in cattle and water buffaloes from Selangor, Malaysia. **Trop. Biom.** 30(4): 699-705. 2013.
- [24] LATIF, B.M.A.; AL-DELEMI, J.K.; MOHAMMED, B.S.; AL-BAYATI, S.M.; AL-AMIRY, A.M. Prevalence of *Sarcocystis* spp. in meat-producing animals in Iraq. **Vet. Parasitol.** 84(1), 85-90. 1999.
- [25] MAL'A, P.; BARANOVA, M. Detection of sarcocystosis in slaughterhouse animals during a veterinary inspection. **Vet. Med. (Praha).** 40(4):97-100. 1995.
- [26] METWALLY, A.M.; ELLAH, M.R.A.; AL-HOSARY, A.A.; OMAR, M.A. Microscopical and serological studies on *Sarcocystis* infection with first report of *S. cruzi* in buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Assiut, Egypt. **J. Parasitic. Dis.** 38(4): 378-382. 2013.
- [27] MIRZAEI, M.; REZAEI, H. A. Survey on *Sarcocystis* spp. infection in cattle of Tabriz city, Iran. **J. Parasitic. Dis.** 1-4. 2014.
- [28] NAHED, H.; GHONEIM, W.M.; NADER, M.S. Occurrence of Zoonotic Sarcosporidiosis in Slaughtered Cattle and Buffaloes in Different Abattoirs in Egypt. **Glob. Vet.** .13(5), 809-813. 2014.
- [29] NATEEWORNART, S.; JUMROON, N.; SAKUNCHOKWATTANA, C.; MEEMA EW, P.; SANGNAK, S. Prevalence of *Sarcocystis* spp. infection in cardiac muscles of cattle and buffaloes in 4 markets of Maung district, Phitsanulok province. **Bull Chiang Mai Assoc. Med. Sci.** 40(2): 109. 2007.
- [30] ONO, M.; OHSUMI, T. Prevalence of *Sarcocystis* spp. cysts in Japanese and imported beef (Loin: *Musculus longissimus*). **Parasitol. internat.** 48(1): 91-94. 1999.
- [31] ORYAN, A.; AHMADI, N.; MOUSAVI, S.M. Prevalence, biology, and distribution pattern of *Sarcocystis* infection in water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Iran. **Trop. Anim. Health Prod.** Oct. 42(7):1513-8. 2010.
- [32] RAILLIET, A. La douve pancreatique. Bull. Mem. Soc. Centre **Med. Vet.** 51: 371-377. 1897.
- [33] RUAS, J.; CUNHA, C.; SILVA, S. Prevalência de *Sarcocystis* spp. (Lankester, 1882) Em Bovinos Clinicamente Sadios da Região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Rev. Bras. de Agroc.** 7 (3): 227- 230. 2002.
- [34] SALAS, Y.; BELLO, A.; ALVARADO, A.; MÁRQUEZ, A.; RIVERO, J.; CORONADO, A. "Sarcocystis spp. y su Transmisión Vertical en Bovinos Sacrificados en un Matadero del Centroccidente de Venezuela". Decanato de Ciencias Veterinarias Barquisimeto. **Gac. Cs. Vet.** 15 (1): 28-33. 2010.
- [35] SPSS INC. Versión 15.0. Programa estadístico para las ciencias sociales para Windows. Chicago, EE.UU. 2006.
- [36] TENTER, A.M. Current research on *Sarcocystis* species of domestic animals. **Int. J. Parasitol.** 25: 1311-1330. 1995.
- [37] XIANG, Z.; HE, Y.; ZHAO, H.; ROSENTHAL, B.M.; DUNAMS, D.B., LI, X.; ZUO, Y.X.; FENG, G.; CUI, L.; YANG, Z. *Sarcocystis cruzi*: Comparative studies confirm natural infections of buffaloes. **Exp. Parasitol.** 127(2): 460-6. 2011.
- [38] ZUO, Y.X., CHEN, X.W.; LI, Y.J.; MA, T.C., TANG, D.H.; FAN, L.X.; ZHAO, M.L. Studies on *Sarcocystis* species of cattle and water buffalo with description of a new species of *Sarcocystis*. In: **Proceedings of the Tenth Anniversary of the Founding of the Chinese Parasitological Society.** Beijing: Chin Sc Technol Press. Pp 20-24. 1995.