



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
MESTRADO EM SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL NA AMAZÔNIA**

**TIAGO PAIXÃO MANGAS**

**Infecção por *Sarcocystis* spp. (Apicomplexa: Sarcocystidae) em bovinos de corte  
abatidos no município de Belém – Pará – Brasil**

**BELÉM  
2014**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
MESTRADO EM SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL NA AMAZÔNIA**

**TIAGO PAIXÃO MANGAS**

**Infecção por *Sarcocystis* spp. (Apicomplexa: Sarcocystidae) em bovinos de corte abatidos no município de Belém – Pará – Brasil**

**Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia: área de concentração Produção Animal.**

**Orientador: Prof. Dr. Raimundo Nonato Moraes Benigno**

**Co-Orientação: Cláudia Maria Leal Bevilaqua**

**BELÉM  
2014**

---

Mangas, Tiago Paixão

Infecção por *Sarcocystis* spp. (Apicomplexa: Sarcocystidae) em bovinos de corte abatidos no município de Belém - Pará – Brasil / Tiago Paixão Mangas. - Belém, 2014.

65 f.

Dissertação (Mestrado em Saúde e Produção Animal) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2014.

1. Bovinocultura de corte – Pará - *Sarcocystis* 2. Diagnósticos – técnicas – bovinocultura 3. Epizootiologia I. Título.

CDD – 636.213

---



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
MESTRADO EM SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL NA AMAZÔNIA**

**TIAGO PAIXÃO MANGAS**

**Infecção por *Sarcocystis* spp. (Apicomplexa: Sarcocystidae) em bovinos de corte  
abatidos no município de Belém – Pará – Brasil**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Saúde e Produção Animal na Amazônia: área de concentração Produção Animal.

Aprovado em \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2014.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Raimundo Nonato Moraes Benigno - Orientador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

---

Prof. Dr. Nicolau Maués Serra-Freire - 1º Examinador  
FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ, INSTITUTO OSVALDO CRUZ

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Adriana Maciel de Castro Cardoso - 2º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

---

Prof. Dr. Gustavo Góes Cavalcante - 3º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

## AGRADECIMENTOS

Em tudo agradeço primeiramente a DEUS, que me ajudou, confortou e esforçou em todos os momentos deste trabalho, assim como de minha vida!

Agradeço aos meus pais e irmãos, a quem devo diretamente a formação de minha pessoa. Nos momentos bons e ruins eles foram minha família.

Agradeço a minha namorada e filho, pela paciência nos momentos de estresse e quando precisava estar ausente por causa desta pesquisa. Muito obrigado. Amo vocês!

Agradeço aos meus orientadores de graduação e especialização, Professor Djacy Ribeiro e Médico Veterinário Heriberto Figueiredo, que executaram com primor a função que lhes foi confiada, sendo uns dos colaboradores da minha formação profissional.

Agradeço ao professor Benigno, que ao longo de 7 anos foi mais que educador e orientador; na realidade foi um grande amigo que eu tive a oportunidade de conhecer nesta vida.

Agradeço a equipe do Laboratório de Parasitologia Animal/UFRA, pelo apoio na realização dos exames. À Amanda, Gabriela, Socorro e Professora Fernanda Hatano.

Agradeço a equipe do Laboratório de Patologia Animal/UFRA, sob a direção do Professor Washington, pelo auxílio mais que bem-vindo na realização dos exames histopatológicos. Ao Paulo Henrique, Roberta, Suellem e à Professora Adriana.

Agradeço ao auxílio prestado pelo professor Gustavo Cavalcante quanto ao entendimento da técnica do PCR e ao Professor Edinaldo e Sebastião quanto à realização da tão temida Bioestatística. Muito obrigado!

Aos professores Frederico Ozanan, Luís Fernando e Serra-Freire que contribuíram grandemente, cada um na sua possibilidade, para a finalização deste mestrado.

Aos alunos Damázio e Henrique, que foram de muita ajuda nas coletas das amostras. Meu muito obrigado!

A todos quantos colaboraram de alguma forma para que este trabalho fosse apresentado da forma que foi. Meus sinceros agradecimentos.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**AP** – Amplitude Parasitária

**AMP** – Abundância Média Parasitária

**CP** – Compressão Muscular

**DNA** - Deoxyribonucleic Acid (Ácido Desoxirribonucleico)

**DP** – Digestão Peptídica.

**ELISA** – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Ensaio imunoadsorvente ligado à enzima)

**ES** – Escarificação

**HP** – Histopatologia

**IFAT** – Teste de Imunofluorescência Direta

**IH** – Imunohistoquímica

**IMP** – Intensidade Média Parasitária

**MEB** – Miosite Eosinofílica Bovina.

**PCR** – Polymerase Chain Reaction (Reação em Cadeia da Polimerase)

**TEM** – Transmission Electron Microscopy (Microscopia Eletrônica de Transmissão)

**RFLP** – Restriction Fragment Length Polymorphism (Polimorfismo do Tamanho do Fragmento de restrição)

**EFSA** – European Agency for Food Security (Agência Europeia para Segurança Alimentar)

**P. I.** – Pós inoculação

**PM** – Prensão Muscular

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Gráficos de pizza desenhados utilizando dados resumidos da literatura (PRAKAS; BUTKAUSKAS, 2012).....15
- Figura 2.** Ciclo biológico do *Sarcocystis* spp. Adaptado de Dubey e Lindsay (2006).....16
- Figura 3.** Estágio assexuado multinucleado de *S. cruzi* (esquizonte) em uma célula endotelial projetada no lúmen de um pequeno vaso sanguíneo dos pulmões. Hematoxilina-eosina. Aumento 1000X (FAYER, 2004).....17
- Figura 4.** *Sarcocystis rauschorum* na musculatura esquelética de uma espécie de roedor (FRIESEN et al., 1989). **4a.** Numerosos metrócitos multiplicando-se por endodiogenia (M) originado os bradizoítos (B). Os metrócitos são vistos principalmente na periferia do cisto e (C) capilar. Barra = 10 micrômetros. **4b.** Metrócito ovóide com um núcleo (N) com um nucléolo, retículo endoplasmático rugoso (RER). Presença de grânulos densos contornando a membrana (G), de poucos micronemas (M) e da membrana do metrócito (P). Barra = 5µm.....18
- Figura 5:** Sarcocistos (setas) em uma vaca iraniana de dois anos de idade (SHEKARFOROUSH; RAZAVI; ABBASVALI, 2013).....18
- Figura 6:** **A:**Merozoíto de *Sarcocystis* spp. Aproximação do intestino e posterior desenvolvimento do hospedeiro. Micronemas (M), Roptrias (R), Conóide (C), Intestino do Hospedeiro (HI), Microvilo (MV). Aumento 30.000X. **B:** Merozoíto em contato com o intestino do hospedeiro. Notar os Micronemas e Roptrias adjacentes que se tornaram obscuros e irregulares, indicando a excreção de enzimas na superfície do intestino do hospedeiro (HI).....19
- Figura 7:** Representação diagramática da formação da parede cística primária no interior de uma fibra muscular através das etapas de “A” a “D”. Em “D1” e “D3” são mostrados os tipos de protrusões e em “D1” e “D2” sua ausência. Adaptado de Mahlornet et al. (1976).....20
- Figura 8:** Ultraestrutura de um esporozoíto uma hora pós-infecção (PV) (seta). Observa-se o citoplasma do parasito elétron-denso, citoplasma e remanescentes aderidos à

película, indicando recente invasão celular (A). Ultraestrutura de um esporozoíto livre no citoplasma duas horas pós-infecção (B). Fase final do esporozoóto/esquizonte jovem, dois dias pós-infecção. Observar a ausência de roptrias e micronemas, o núcleo alargado e formação de ilhotas de grânulos do corpo cristalóide (asterisco) (C). Visão ampliada da interface parasita-hospedeiro do espécime anterior. O esquizonte reside no interior do citosol. A ponta de seta indica a película, e a seta indica a membrana plasmática da célula hospedeira (JAKEL et al., 2001). (Barra = 1 micrômetro).....21

**Figura 9:** Microscopia de luz (1) e eletrônica (2 e 3) mostrando as protruções em forma de vilo do cisto de *S. cruzi* (v) dobradas sobre a parede do sarcocisto (g); m: músculo do hospedeiro.....22

**Figura 10:** Corte do intestino delgado de gato, 12 dias pós-infecção. Destaque para dois esporocistos na lâmina própria (cabeça de seta) e quatro esporozoítos (seta). HE. 100 X. (DUBEY, 1982).....24

**Figura 11:** Padrão de excreção de esporocistos excretados nas fezes de cães inoculados com 300 mg de musculatura do coração de bovinos infectados com *Sarcocystis cruzi*. Wee; Shin, (2001).....24

**Figura 12:** (A) Tecido muscular de bovino contendo cisto de *S. cruzi*. Notar a parede fina do cisto. Corado pela hematoxilina-eosina, 600X. (B) Tecido muscular de bovino contendo cisto de *Sarcocystis* spp. Notar a parede espessa do cisto, podendo significar ser de *S. hirsuta* ou *S. hominis*. Corado pela hematoxilina-eosina, 600X. Ghisleni et al., (2006).....27

**Figura 13:** Microscopia eletrônica de transmissão - (A) Foto de um cisto de parede espessa com protruções longas e com aspecto de palhiçada, característico de *S. hominis*. (B) Foto de um cisto de parede espessa com protruções tipo língua, com base estreita (seta amarela), porção média ampla (seta preta) e extremidade afunilada, característico de *S. hirsuta*. Moré et al. (2011).....28

**Figura 1:** Cisto de *Sarcocystis cruzi* (seta) observado no interior das fibras musculares do coração (A) e da língua (B) de bovinos abatidos em Belém – PA, no período de junho a agosto de 2013. Aumento de 100X. Hematoxilina-Eosina.....48

**Figura 2:** Cisto de *Sarcocystis* (seta) observado na escarificação do coração (A) e da língua (B) de bovinos abatidos em Belém – PA, no período de junho a agosto de 2013. Aumento de 100X.....49



## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1.** Índices parasitários do *Sarcocystis* spp. no coração e língua de bovinos abatidos no estado do Pará, no período de junho a agosto de 2013. **P:** prevalência; **IMP:** Índice Médio Parasitário; **AMP:** Abundância Média Parasitária; **AP:** Amplitude Parasitária.....62

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b>	Técnicas utilizadas na pesquisa de <i>Sarcocystis</i> spp. descritas na literatura, entre 1992 e 2013.....	27
<b>Tabela 2.</b>	Prevalência da sarcocistose em bovinos abatidos em diversos países, entre 1999 e 2013.....	30
<b>Tabela 3.</b>	Prevalência da sarcocistose em bovinos abatidos no Brasil, entre 1981 e 2001.....	32
<b>Tabela 1:</b>	Frequência de <i>Sarcocystis</i> spp. em amostras de língua e coração de bovinos abatidos no período de junho a agosto de 2013 em Belém – PA.....	49
<b>Tabela 2:</b>	Dados sobre a sarcocistose rebanhos em bovinos abatidos no Brasil e em diversos países, de 1982 a 2013.....	50
<b>Tabela 3</b>	Média, Coeficiente de Variação (CV), valor máximo (V <sub>máx</sub> ) e valor mínimo (V <sub>mín</sub> ) dos cistos observados pela escarificação de amostras de língua e coração de bovinos abatidos em Belém – Pará, no período de junho a agosto de 2013.....	53
<b>Tabela 1:</b>	Frequência de <i>Sarcocystis</i> spp. em amostras de língua e coração de bovinos abatidos no período de junho a agosto de 2013 em Belém – PA.....	60
<b>Tabela 2:</b>	Resultado da análise de amostras de língua e coração de bovinos abatidos no estado do Pará pelas técnicas de digestão peptídica e escarificação para a pesquisa de <i>Sarcocystis</i> spp. no período de junho a agosto de 2013.....	60
<b>Tabela 3</b>	Indicadores parasitários do <i>Sarcocystis</i> spp. no coração e língua de bovinos abatidos no estado do Pará, no período de junho a agosto de 2013.....	62

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	12
<b>ABSTRACT</b> .....	13
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	16
<b>Geral</b> .....	16
<b>Específicos</b> .....	16
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	17
<b>SISTEMÁTICA E MORFOBIOLOGIA</b> .....	17
<b>Evolução no hospedeiro intermediário</b> .....	19
<b>Evolução no hospedeiro definitivo</b> .....	25
<b>PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS</b> .....	27
<b>DIAGNÓSTICO</b> .....	28
<b>EPIDEMIOLOGIA</b> .....	30
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	37
<b>CAPÍTULO 1 – Infecção por Sarcocystis spp. (Apicomplexa: Sarcocystidae) em bovinos de corte abatidos no estado do Pará – Brasil</b> .....	46
<b>RESUMO</b> .....	46
<b>ABSTRACT</b> .....	46
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	47
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	47
<b>2.1. Coleta das amostras</b> .....	47
<b>2.2. Processamento e análise das amostras</b> .....	48
2.2.1. Escarificação.....	48
2.2.2. Digestão Peptídica.....	48
2.2.3. Histopatologia.....	48
<b>2.3. Análise Estatística</b> .....	49
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	49
<b>4. CONCLUSÃO</b> .....	53
<b>5. BIBLIOGRAFIA</b> .....	54
<b>CAPÍTULO 2 – Eficiência das técnicas de digestão peptídica e escarificação para a pesquisa de Sarcocystis spp. em bovinos de corte</b> .....	57
<b>RESUMO</b> .....	57
<b>ABSTRACT</b> .....	57
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	58
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	58

<b>2.1. Coleta das amostras.....</b>	<b>58</b>
<b>2.2. Processamento e análise das amostras.....</b>	<b>59</b>
2.2.1. Escarificação.....	59
2.2.2. Digestão Peptídica.....	59
<b>2.3. Análise estatística.....</b>	<b>59</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>59</b>
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>63</b>
<b>5. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>63</b>

## RESUMO

Com o objetivo de se estimar a frequência parasitária de *Sarcocystis* spp. em bovinos de corte abatidos no estado do Pará, 200 amostras de coração e de língua (n=400) foram analisadas pelas técnicas de digestão peptídica e escarificação. Foram selecionadas 100 amostras de cada órgão para exame histopatológico, correspondendo a 50% de cada rebanho abatido, para observação das características da parede do cisto e lesões associadas. Considerando os resultados das duas técnicas e os órgãos examinados, todos os animais pesquisados estavam infectados por *Sarcocystis* spp., sendo que pela técnica de digestão peptídica 92% (n=184) das amostras de coração e 83% (n=166) das amostras de língua foram diagnosticadas positivas. Pelo método de escarificação, a positividade foi de 90% (n=180) para o coração e 59% (n=118) para a língua. Todos os cistos apresentavam parede delgada (< 1 µm) compatível com *S. cruzi*, sem nenhuma lesão associada. Pela digestão peptídica identificou-se o maior número de amostras positivas em ambos os órgãos, porém no exame do coração as técnicas foram estatisticamente equivalentes. Através da escarificação, os valores dos indicadores parasitários mostraram que o índice médio parasitário, a abundância média parasitária e a amplitude parasitária nas amostras de coração foram superiores ao da língua, sendo que o exame da primeira lâmina detectou 82% e 60% das amostras positivas no coração e língua, respectivamente. Os resultados sugerem alta frequência da infecção por *Sarcocystis cruzi* em bovinos abatidos no Pará e que a escarificação do coração pode ser utilizado como técnica alternativa à digestão na pesquisa do *Sarcocystis* spp. em bovinos, além de ser de fácil execução e de baixo custo.

**Palavras-chave:** *Sarcocystis* spp.; bovinocultura de corte; diagnóstico; epizootiologia.

## ABSTRACT

In order to estimate the parasitary frequency of *Sarcocystis* spp. in beef cattle slaughtered in the state of Pará, 200 samples of heart and tongue (n = 400) were analyzed by the peptidic digestion and scarification. Were selected 100 samples of each organ for histopathologic examination, corresponding to 50% of each herd slaughtered for observation of the characteristics of the cyst wall and associated lesions. Considering the results of both techniques and the organs examined all animals studied were infected by *Sarcocystis* spp. whereas the technique of peptide digestion 92% (n = 184) samples of heart and 83% (n = 166) samples language were diagnosed positive. By the method of scarification, the positivity was 90% (n = 180) for the heart and 59% (n = 118) for the tongue. All cysts had thin wall (<1 µm) compatible with *S. cruzi*, with no associated injury. By peptidic digestion were identified the largest number of positive samples in both organs, but in heart examination the techniques were statistically equivalent. By scarification, the values of the parasitological indicators showed that the average parasitic index, parasite mean abundance and parasite amplitude in heart samples were superior to the tongue, and the examination of the first blade detected 82% and 60% of positive samples in heart and tongue, respectively. The results suggest a high frequency of *Sarcocystis cruzi* infection in cattle slaughtered in Pará and scarification of the heart can be used as an alternative technique to digestion in the research of *Sarcocystis* spp. in cattle, besides being easy to perform and inexpensive.

**Key-words:** *Sarcocystis* spp.; beef cattle; diagnostic; epizootiology.

## 1. INTRODUÇÃO

O *Sarcocystis* spp. foi reportado pela primeira vez em 1843 por Miescher como cistos filiformes brancos em músculos estriados de ratos domésticos, no entanto, sem nome científico. Pelos 20 anos seguintes, o parasita foi simplesmente referido como túbulos de Miescher. Em 1865, estruturas similares foram encontradas em músculos de porcos, porém 34 anos se passaram até que o nome *Sarcocystis miescheriana* fosse proposto para identificá-lo. Subsequentemente, quando cistos intramusculares eram encontrados em um novo hospedeiro, um novo nome de espécie era proposto (FAYER, 2004).

Durante muito tempo os cientistas discutiram se o *Sarcocystis* era um protozoário ou um fungo. Mas, em 1967 (124 anos após o primeiro relato), os bradizoítos dos sarcocistos foram estudados por microscopia eletrônica e organelas semelhantes às de outros protozoários do filo Apicomplexa, como *Eimeria* e *Toxoplasma*, foram observados (FAYER, 2004).

O gênero *Sarcocystis* agrupa mais de 100 espécies que infectam mamíferos, aves e animais poiquilotérmicos. Um grande número de espécies de vertebrados serve como hospedeiro intermediário ou definitivo para as espécies de *Sarcocystis*, com alguns hospedeiros, muitas vezes, sendo infectados por várias espécies de *Sarcocystis* diferentes ao mesmo tempo. Tais infecções mistas levaram a confusão taxonômica dentro deste gênero. Esta confusão é agravada pelo conhecimento incompleto dos ciclos de vida de muitas espécies e a escassez de caracteres morfológicos informativos para apicomplexas em geral (YANG et al., 2001).

Com relação à bovinocultura a sarcocistose adquire grande importância, uma vez que já houve rejeição da carne bovina argentina e brasileira pela Comunidade Europeia devido a infecção por *Sarcocystis* (MOREÉ et al., 2011). Além disto, diversos trabalhos têm relatado perdas econômicas relacionadas com a diminuição do ganho de peso, da produção de leite e abortos (FAYER; JOHNSON; LUNDE, 1976; FAYER et al., 1983; BOTELHO, 1985; HETTIARACHCHI; RAJAPAKSE, 2008).

Estes fatos mencionados acima são de grande importância para o estado do Pará, uma vez que este possui o maior rebanho bovino da Região Norte e o quinto maior rebanho bovino do Brasil, com 18.262.547 de cabeças (PPM, 2011). Segundo a Associação Brasileira de Exportadores de Gado (ABEG, 2012) a atividade pecuária é de extrema importância para a economia do Pará, visto que ela representa a terceira principal fonte de receita do estado, atrás dos setores de serviços e de indústria, sendo também responsável por boa parte dos empregos no campo.

Com relação à saúde pública, os casos humanos estão relacionados com o consumo de carne crua ou mal cozida de bovinos e suínos, cujos bioagentes produzem cistos teciduais infectivos para o homem. Neste contexto, dentre as espécies que acometem bovinos, o *Sarcocystis hominis* é a único que apresenta potencial zoonótico, comprovado naturalmente e experimentalmente (LOPES et al., 2001).

Considerando a importância econômica da bovinocultura paraense no contexto brasileiro, os agravos da sarcocistose para saúde pública, assim como a inexistência de dados bibliográficos no Estado, este trabalho objetiva fornecer dados sobre a situação da sarcocistose em bovinos abatidos no estado do Pará.



## 2. OBJETIVOS

### Geral

- Caracterizar a infecção por *Sarcocystis* spp. em rebanhos bovinos abatidos no município de Belém – Pará - Brasil.

### Específicos

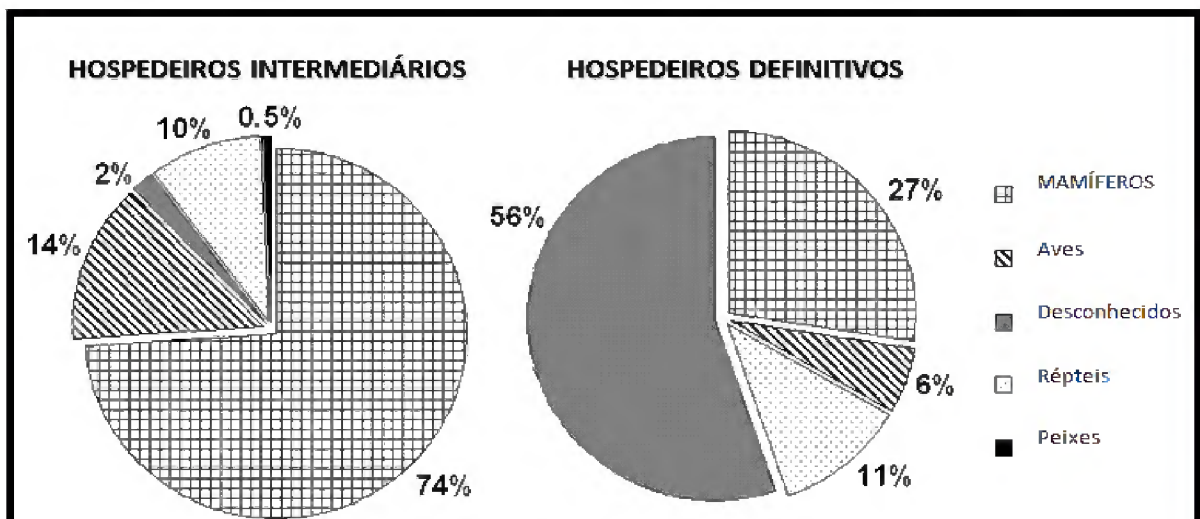
- Estimar o índice de infecção pelo coccídeo *Sarcocystis* spp. em amostras de língua e coração de bovinos abatidos no município de Belém – Pará - Brasil.
- Comparar a eficiência das técnicas de digestão peptídica e escarificação na detecção do *Sarcocystis* spp.
- Caracterizar as alterações histopatológicas causadas por *Sarcocystis* spp.
- Estimar os indicadores parasitários de *Sarcocystis* spp. pela técnica de escarificação.
- Caracterizar o tipo de parede do cisto pela microscopia óptica.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### SISTEMÁTICA E MORFOBIOLOGIA

O *Sarcocystis* sp. é um protozoário do **Reino** Protozoa, **Filo** Apicomplexa, **Classe** Sporozoea, **Subclasse** Coccidia, **Ordem** Eucoccidiorida, **Subordem** Eimeriorina, **Família** Sarcocystidae, **Subfamília** Sarcocystinae, **Gênero** *Sarcocystis* (NCBI, 2013).

O gênero *Sarcocystis* é representado pelo maior número de espécies da família Sarcocystidae (TENTER; JOHNSON, 1997), sendo proposta no final do século XX, 189 espécies para o gênero. Em geral, espécies de *Sarcocystis* são encontradas em mamíferos, aves e répteis. A única exceção é *S. salvelini*, cujo hospedeiro intermediário é o peixe salmonídeo *Salvelinus fontinalis*. A maioria das espécies é descrita em hospedeiro intermediário e um ciclo de vida completo é verificado para menos de metade deles. Várias combinações de hospedeiros intermediários/definitivos são conhecidas e são colocados em ordem do mais comum: mamíferos/mamíferos, mamíferos/répteis, répteis/répteis, mamíferos/aves, aves/mamíferos, aves/aves (Figura 1) (PRAKAS; BUTKAUSKAS, 2012).



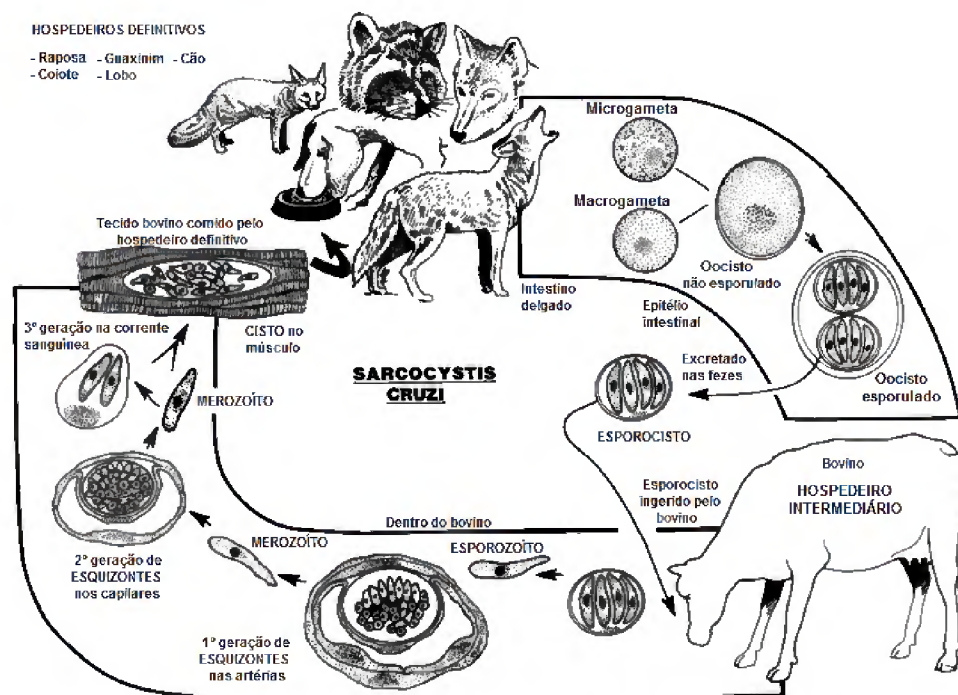
**Figura 1:** Gráficos de pizza desenhados utilizando dados resumidos da literatura (PRAKAS; BUTKAUSKAS, 2012).

Sarcocystis, que etimologicamente significa cisto muscular, é um protozoário intracelular baseado na relação presa – predador (intermediário – definitivo), diheteroxeno, possuindo um complexo apical localizado na extremidade anterior de certas fases evolutivas, que auxilia na sua penetração celular (DUBEY; ODENING, 2001). Experimentalmente, algumas espécies podem também evoluir de forma homoxênica, como *S. cruzi*, pois os cistozoítos podem ser transmitidos por canibalismo entre ratos, fechando o ciclo sexuado com produção de oocistos/espороzoítos infectivos (KOUDELA; MODRÝ, 2000).

Atualmente são descritas aproximadamente 200 espécies de *Sarcocystis* (PRAKAS et al., 2013), sendo que em bovinos são relatadas três: *S. cruzi*, *S. hirsuta* e *S. hominis*, com seus hospedeiros definitivos os canídeos, os felídeos e os primatas, respectivamente (DUBEY; LINDSAY, 2006). Foi comprovada a evolução do *S. hominis* em bubalinos, com visualização de sarcocisto na musculatura esquelética. Este material biológico infectado evoluiu em dois voluntários humanos, confirmando a identificação específica dos sarcocistos gerados nos bubalinos (CHEN; ZUO; HU, 2003).

O ciclo biológico de *Sarcocystis* spp. permaneceu desconhecido até 1970, quando bradizoítas de sarcocistos de músculos de pássaros foram inoculados em culturas de células de mamíferos e se desenvolveram em fases sexuais com produção de oocistos (FAYER, 2004).

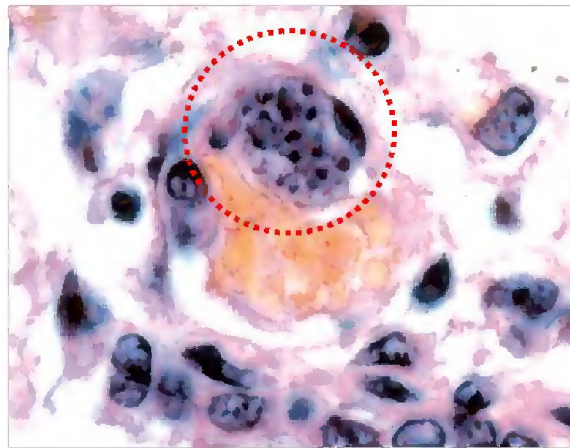
Hoje o ciclo de *Sarcocystis* sp. pode ser exemplificado através do ciclo biológico de *S. cruzi*, uma vez que este é conhecido (Figura 2).



**Figura 2:** Ciclo biológico do *Sarcocystis cruzi*. Adaptado de Dubey; Lindsay (2006)

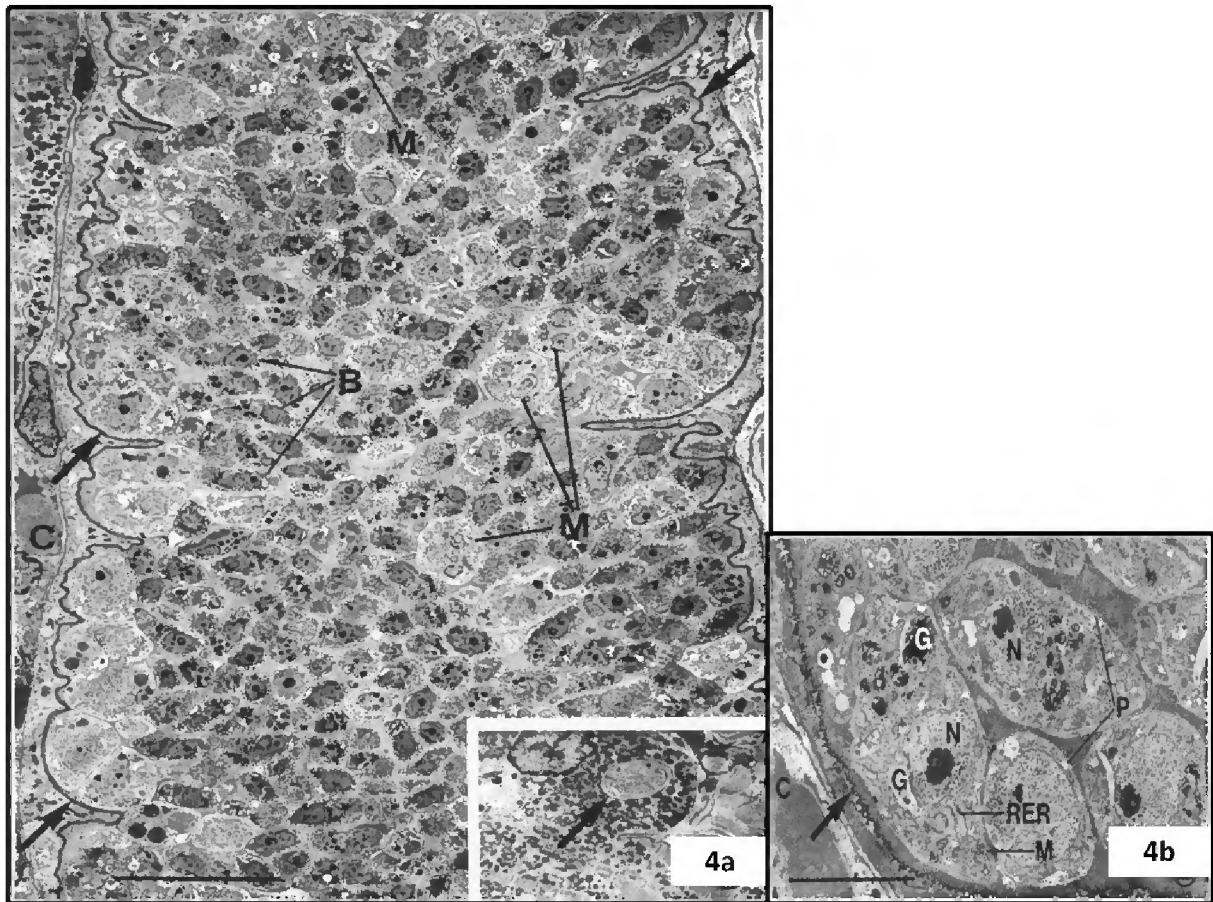
### **Evolução no hospedeiro intermediário**

A descrição geral do ciclo no hospedeiro intermediário segue as informações exaradas no trabalho de Fayer (2004). O oocisto esporulado ou esporocisto ao ser ingerido por um hospedeiro intermediário susceptível alcança o intestino delgado, sofre rompimento em resposta a certos estímulos, liberando os quatro esporozoítos. Estes tornam-se móveis, migram através do epitélio intestinal, eventualmente penetram nas células endoteliais de pequenas artérias de todo corpo, iniciando a primeira de quatro gerações assexuadas, denominadas de esquizogonia ou merogonia (Figura 3), produzindo esquizontes com numerosos merozoítos (células morfológicamente similares aos esporozoítos e bradizoítos), aproximadamente 15 a 16 dias pós-infecção.

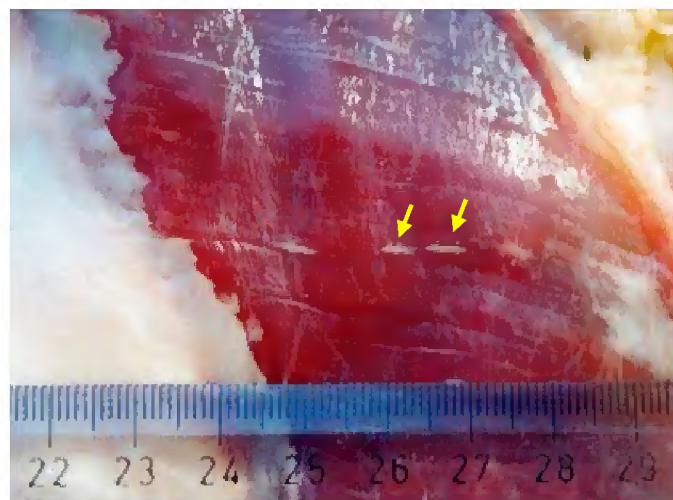


**Figura 3:** Estágio assexuado multinucleado de *Sarcocystis cruzi* (esquizonte) em uma célula endotelial projetada no lúmen de um pequeno vaso sanguíneo dos pulmões. Hematoxilina-eosina. Aumento 1000X (FAYER, 2004)

Gerações subsequentes de merozoítos ocorrem em arteríolas, capilares, vênulas e veias em todo corpo do hospedeiro, gerando a última geração assexuada nos músculos. Merozoítos de segunda geração de *S. cruzi*, foram observados no sangue periférico 27 dias pós-infecção, de forma simples (com um ou dois núcleos) enquanto outros formavam pares, de localização extra e intracelular em células mononucleares. A terceira geração assexuada apareceu na forma de esquizontes multinucleados nos capilares de todo o corpo, sendo mais abundante nos glomérulos renais. Os merozoítos desta geração penetram nas células musculares de vários órgãos, tornam-se arredondados para formar os metrócitos (células mãe) e iniciam a formação do sarcocisto (Figura 4 e 5).



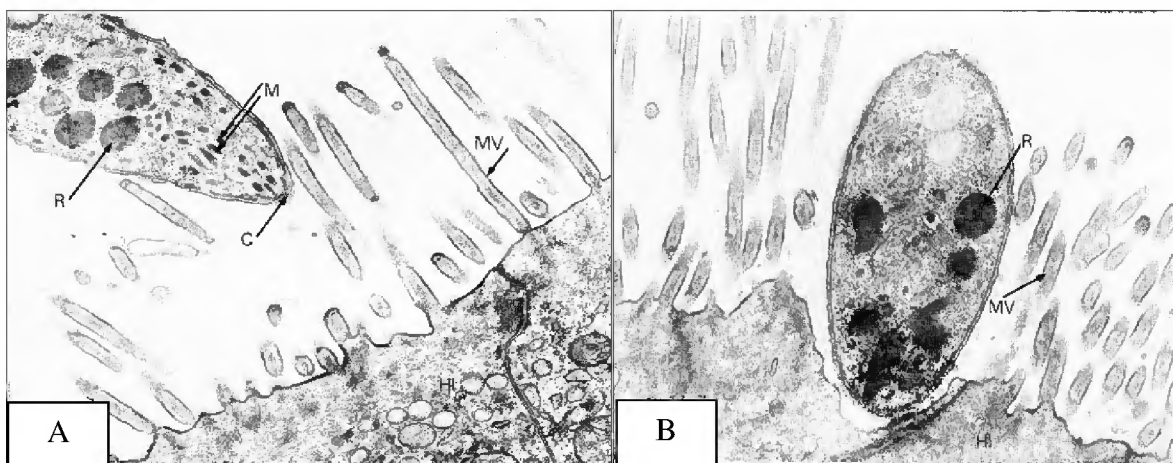
**Figura 4:** *Sarcocystis rauschorum* na musculatura esquelética de uma espécie de roedor (FRIESEN et al., 1989). **4a.** Numerosos metrócitos multiplicando-se por endodiogenia (M) originando os bradizoítos (B). Os metrócitos são vistos principalmente na periferia do cisto e (C) capilar. Barra = 10 micrômetros. **4b.** Metrócito ovóide com um núcleo (N) com um nucléolo, retículo endoplasmático rugoso (RER). Presença de grânulos densos contornando a membrana (G), de poucos micronemas (M) e da membrana do metrócito (P). Barra = 5 $\mu$ m.



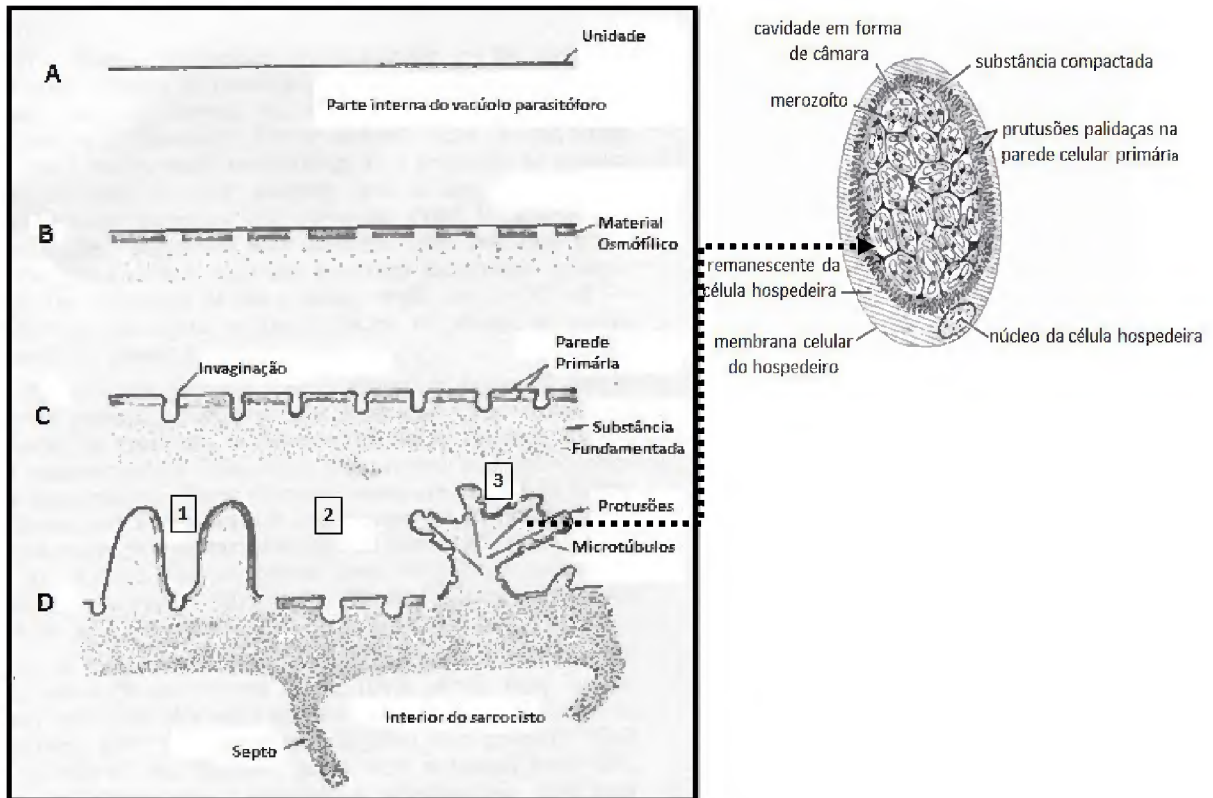
**Figura 5:** Sarcocistos (setas) em uma vaca iraniana de dois anos de idade (SHEKARFOROUSH; RAZAVI; ABBASVALI, 2013).

Os sarcocistos começam como organismos unicelulares, que contêm um único metrócito. Através de inúmeras multiplicações assexuadas, o número destes organismos aumenta e o sarcocisto cresce. Sequencialmente, os metrócitos que são pequenos, arredondados e não infectivos originam organismos no formato de banana denominados de bradizoítos ou cistozoítas que são infectivos. Este processo de maturação dos sarcocistos demanda um tempo variado de acordo com a espécie e podem persistir por meses ou anos, com uma variação no comprimento e circunferência, apresentando estruturalmente distintas paredes císticas que variam na espessura e no formato das protruções.

No início da invasão do esporozoíto na célula hospedeira, forma-se um típico vacúolo parasitóforo, limitado por uma unidade de membrana, que imediatamente será reforçada internamente, em função do depósito de segmentos de material osmofílico que adquire um aspecto irregularmente arranjado abaixo desta, constituindo a parede primária do futuro sarcocisto (Figuras 6 “a” e “b” e 7) (MEHLHORN; HARTELY; HEYDORN, 1976). Esse complexo, denominado parede cística primária, é uma característica de todos os coccídeos formadores de cistos, exceto em *Besnoitia* (SMITH et al., 1987; PATHOBIO, 2013).

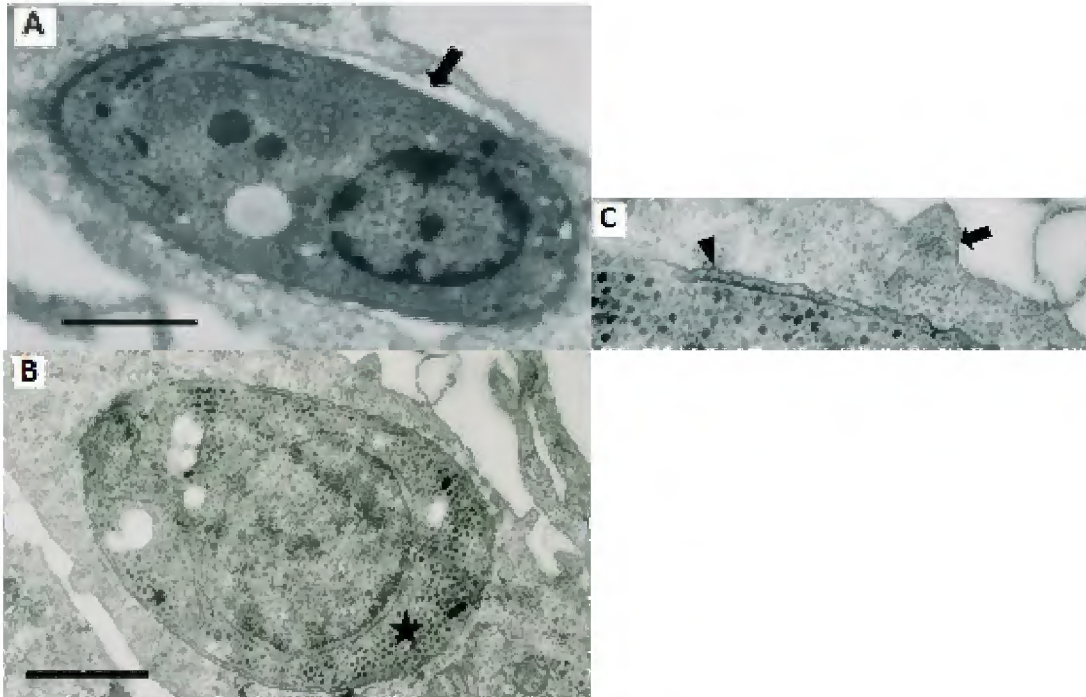


**Figura 6:** **A:** Merozoíto de *Sarcocystis* spp. Aproximação do intestino e posterior desenvolvimento do hospedeiro. Micronemas (M), Roptrias (R), Conóide (C), Intestino do Hospedeiro (HI), Microvilos (MV). Aumento 30.000X. **B:** Merozoíto em contato com o intestino do hospedeiro. Notar os Micronemas e Roptrias adjacentes que se tornaram escuros e irregulares, indicando a excreção de enzimas na superfície do intestino do hospedeiro (HI).



**Figura 7:** Representação diagramática da formação da parede cística primária no interior de uma fibra muscular através das etapas de “A” a “D”. Em “D1” e “D3” são mostrados os tipos de protusões e em “D1” e “D2” sua ausência. Adaptado de Mahlornet et al. (1976)

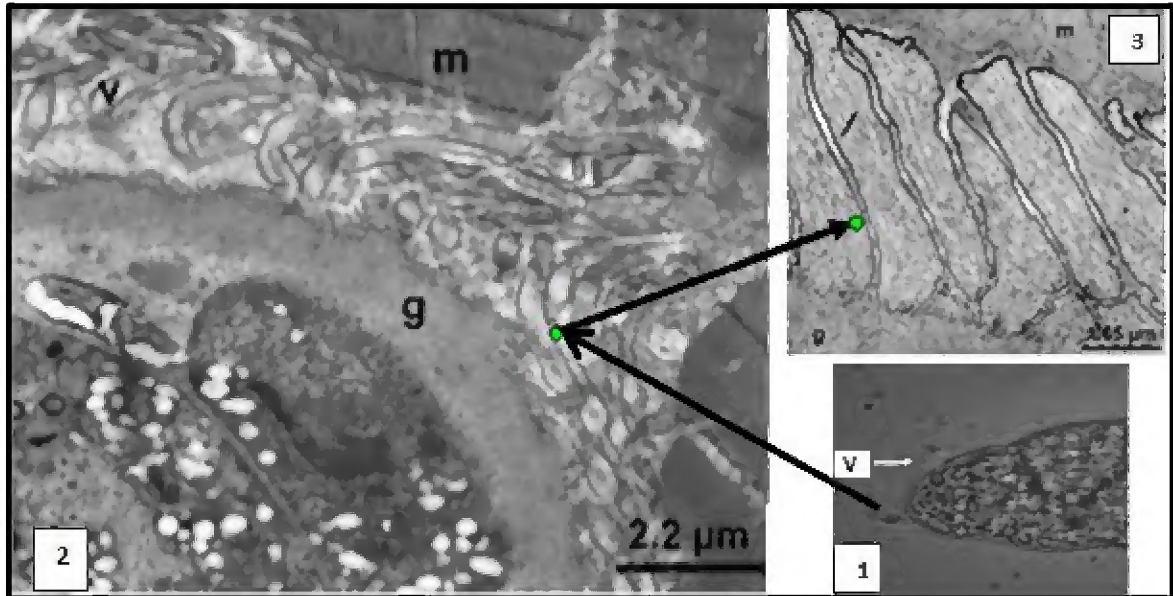
Esporozoítos de *Sarcocystis singaporensis*, espécie que infecta ratos, penetram na célula de seu hospedeiro cerca de duas horas após a inoculação em células cultivadas. O esporozoíto em desenvolvimento (esquizonte jovem) é reconhecido, dois dias pós-infecção, por um núcleo alargado, a ausência de organelas apicais como roptrias e micronemas e particularmente, pela formação de ilhotas de grânulos do corpo cristalóide. Em imagem de maior aumento, pode-se verificar a região de interface hospedeiro-parasito (Figura 8) (JAKEL et al., 2001).



**Figura 8:** Ultraestrutura de um esporozoíto uma hora pós-infecção (seta). Observa-se o citoplasma do parasito elétron-denso, citoplasma e remanescentes aderidos à película, indicando recente invasão celular (A). Ultraestrutura de um esporozoíto livre no citoplasma duas horas pós-infecção (B). Fase final do esporozoíto/esquizonte jovem, dois dias pós-infecção. Observar a ausência de rotrias e micronemas, o núcleo alargado e formação de ilhotas de grânulos do corpo cristalóide (estrela) (C). Visão ampliada da interface parasita-hospedeiro do espécime anterior. O esquizonte reside no interior do citosol. A ponta de seta indica a película, e a seta indica a membrana plasmática da célula hospedeira (JAKEL et al., 2001). (Barra = 1 micrômetro)

Os sarcocistos variam em tamanho e forma, dependendo da espécie do parasito. Alguns sempre permanecem microscópicos, variando de longos e estreitos a curtos e largos, enquanto outros se tornam macroscópicos, com aparência filamentosa (DUBEY, 1992) (Figura 9) e globular. A estrutura e a espessura da parede cística também diferem entre as espécies de *Sarcocystis* e, dentro de cada espécie, entre cistos maduros. Histologicamente a parede do cisto pode ser lisa, estriada e filamentososa, ou pode possuir complexas protrusões ramificadas. Internamente, os grupos de bradizoítos são divididos entre compartimentos por septos, que se originam da parede do cisto e estão presentes na maioria das espécies de *Sarcocystis* (DUBEY, 1992; FAYER, 2004).





**Figura 9:** Microscopia de luz (1) e eletrônica (2 e 3) mostrando as protrusões em forma de vilão do cisto de *S. cruzi* (v) dobradas sobre a parede do sarcocisto (g); m: músculo do hospedeiro.

Os estágios assexuados (esporozoítos, merozoítos e bradizoítos) são comumente conhecidos como "zoítos" que apresentam um organismo morfofuncional complexo de uma célula eucariótica, que adicionalmente, está adaptado à penetração na célula de hospedeiro por apresentar organelas secretórias (micronemas, roptrias e densos grânulos) (ENTZEROTH; CHOBOTAR; SCHOLTYSECH, 1982) formando o vacúolo parasitóforo, que eventualmente serve como parede do cisto, comumente referida como parede primária do cisto.

O desenvolvimento do *Sarcocystis hirsuta* em bezerros foi acompanhado do dia sete ao dia 110 pós inoculação. Os sarcocistos tornaram-se maduros na musculatura dos bezerros 75 dias pós infecção e quando inoculados em gatos, fecharam o ciclo com produção de oocistos e esporocistos entre 8 – 10 dias após (DUBEY, 1982).

As espécies que parasitam bovinos formam cistos microscópicos e macroscópicos, sendo que o *S. cruzi* é o mais prevalente e o mais importante (HEYDORN et al., 1975; MOWAFY, 2003). Cistos microscópicos examinados a fresco apresentam formato fusiforme, paralelo às fibras musculares, medindo 114,2 – 643,05 X 45,68 – 200,06 (378,63 X 122,87 $\mu$ m) e, em cortes histológicos, a parede do cisto mostrou-se homogênea e delgada, medindo menos do que 0,57 $\mu$ m e com septos não claramente definidos (SAYED et al., 2008).

Os cistos das espécies parasitos de bovinos podem ser identificados macroscopicamente, na espécie *S. hirsuta*, e microscopicamente nas espécies *S. cruzi* e *S. hominis* (METWALLY et al., 2013; SHEKARFOROUSH; RAZAVI; ABBASVALI, 2013).

Cistos macroscópicos de *Sarcocystis* foram detectados na linha de abate, em carcaças e vísceras de bovinos do sudoeste do Iran, medindo 4 – 9 mm (HAMIDINEJAT et al., 2010).

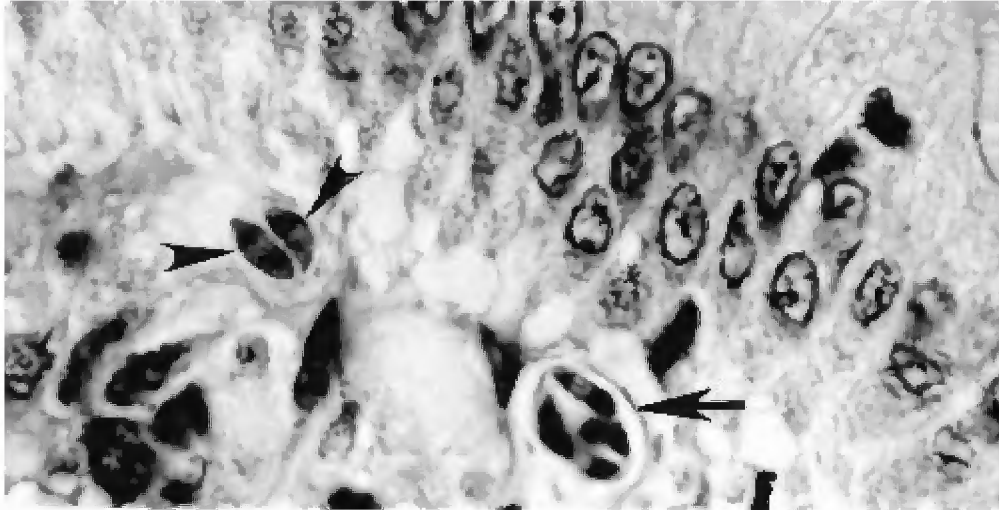
Estudos através de métodos moleculares e de microscopia de luz e eletrônica indicaram que as espécies do coccídio *Sarcocystis* spp. que infectam bovinos são também capazes de infectar bubalinos (JEHLE et al., 2009).

### **Evolução no hospedeiro definitivo**

O hospedeiro definitivo se torna infectado pela ingestão de tecido muscular contendo sarcocistos maduros, que passam por um processo de digestão no estômago e intestino delgado, liberando os bradizoítos. Estes organismos invadem a mucosa do intestino delgado e iniciam a fase sexuada, dependendo da espécie, de forma imediata ou após vários dias, diferenciando-se em gametas imaturos masculinos (microgametócitos) e femininos (macrogametócito). O núcleo dos microgametócitos divide-se e migram para a periferia do microgametócito, diferenciando-se em microgametas, que são liberados da célula parasitada, locomovem-se com auxílio de dois flagelos, iniciando o processo de reconhecimento de células do intestino delgado que hospedam os gametas femininos maduros (macrogameta) para fecundá-los, gerando os zigotos que adquirem uma parede protetora, passando a ser denominados de oocistos (DUBEY, 1992).

Ainda na célula hospedeira, os oocistos iniciam a fase de multiplicação assexuada do tipo esporogônica, de forma assíncronica, sendo encontrado simultaneamente gametócitos e oocistos, gerando dois esporocistos, cada um contendo quatro esporozoítos. A localização da gametogônia e o tipo de célula parasitada variam com a espécie de *Sarcocystis* e o estágio de gametogênese. Usualmente, a parede do oocisto rompe, liberando os esporocistos no lúmen intestinal, sendo liberado nas fezes (GILLIS, 2003).

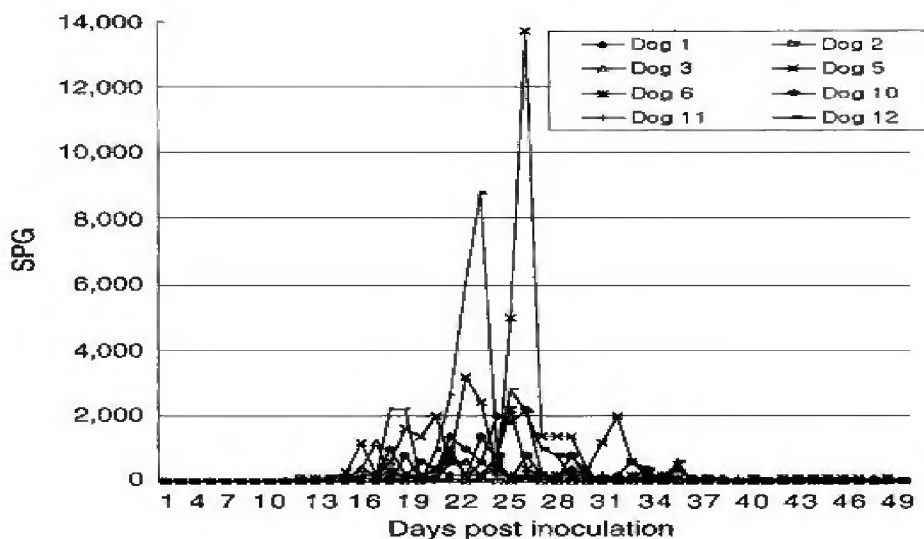
Através de infecção experimental em gatos, observou-se que os oocistos de *Sarcocystis hirsuta* estavam localizados na lâmina própria do intestino delgado de gatos, medindo em amostras de raspagem intestinal, 17,1 x 12,7  $\mu\text{m}$  (16-18 x 11-14; N = 10) e suas gerações de esporocistos mediram 12,8 x 8,4  $\mu\text{m}$  (11-14 x 7-9; N = 20), cada um com quatro esporozoítos alongados, medindo 8,2 x 9  $\mu\text{m}$  (7,5-9 x 1,5-2; N = 10) (Figura 10) (DUBEY, 1982).



**Figura 10:** Corte do intestino delgado de gato, 12 dias pós-infecção. Destaque para dois esporocistos na lâmina própria (cabeça de seta) e quatro esporozoítos (seta). HE. 100 X. (DUBEY, 1982)

As medidas dos oocistos eliminados por cães infectados experimentalmente com vários tipos de tecido (esôfago, musculatura esquelética e coração) oriundos de bovinos foram 14,85 – 17,92 x 10,24 – 16,52 $\mu$ m, com média de 16,20 x 10,53 (XIANG et al., 2011).

Os cães infectados começaram a eliminar esporocistos (às vezes oocistos) nas fezes do dia 10 ao dia 12 pós-inoculação (p.i.) e continuam durante 20 a 35 dias. O número de esporocistos liberados foi maior do dia 20 a 25 p.i. e do dia 18 a 24 p.i. na primeira e segunda infecção experimental, respectivamente (figura 11). Já no dia 40 p.i., os bezerros eutanasiados apresentavam cistos musculares de *Sarcocystis* (WEE; SHIN, 2001) (figura 11). O número médio de esporocistos eliminados pelos cães alimentados com 454 a 908 g de carne de bovino variou de 861.000 a mais de 20 milhões (FAYER, 1977).



**Figura 11:** Padrão de excreção de esporocistos excretados nas fezes de cães inoculados com 300 mg de musculatura do coração de bovinos infectados com *Sarcocystis cruzi*. Wee; Shin, (2001).

Alguns esporocistos de *S. cruzi* permaneceram viáveis para desencistar por pelo menos 90 dias, quando submetidos a temperaturas de 4 °C – 37 °C e 18%, 75% ou 100% de umidade relativa (SAVINI; ROBERTSON; DUNSMORE, 1994).

## PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS

O *Sarcocystis* é geralmente não-patogênico para o hospedeiro definitivo e algumas espécies também não são para o hospedeiro intermediário. Geralmente, as espécies transmitidas por canídeos são patogênicas, enquanto aquelas transmitidas por felinos não são patogênicas. O *S. cruzi* é a espécie mais patogênica para o gado. Os sinais clínicos são geralmente vistos durante o segundo ciclo de esquizogonia nos vasos sanguíneos (fase aguda) (DUBEY; LINDSAY, 2006).

Três a quatro semanas após a infecção com uma grande carga de esporocistos (50.000 ou mais) podem ser observados febre, anorexia, anemia, emagrecimento e perda de pêlo (especialmente na garupa e cauda) e alguns animais podem morrer. Fêmeas prenhes podem abortar e o crescimento do bezerro é retardado ou detido (DUBEY; LINDSAY, 2006).

Em estudo conduzido por Lopes, Sá e Botelho (2005), no qual foi utilizado um grupo de vacas prenhes controles (naturalmente infectadas) e três grupos de vacas prenhes infectadas experimentalmente, foram encontrados cistos de *S. cruzi* nos músculos estriados esquelético e cardíaco em todos os grupos, no entanto, somente nas vacas infectadas foram observadas lesões macroscópicas e alterações clínicas e casos de aborto ou morte prematura do bezerro. Segundo os autores, isto indica que as lesões encontradas estiveram sempre associadas às formas proliferativas localizadas na íntima das arteríolas e dos capilares, o que caracteriza, na forma aguda da doença, como um problema circulatório.

Isto foi confirmado por Dubey e Lindsay (2006), que afirmam que lesões macroscópicas são observadas em animais que morrem durante a fase aguda. O edema, hemorragia e atrofia de gordura são normalmente vistos. As hemorragias são mais evidentes na serosa das vísceras, no músculo cardíaco e esquelético e na esclerótica dos olhos. Hemorragias variam de petéquias a equimoses de vários centímetros de diâmetro. Lesões microscópicas pode ser vistas em vários órgãos e consistem de necrose, edema e infiltrados de células mononucleares. Durante a fase crônica, as lesões são restritas aos músculos e consistem de miosite não supurativa e degeneração dos sarcocistos.

Em relação às lesões musculares, tem sido sugerido que as espécies de *Sarcocystis* desempenham um papel na miosite eosinofílica bovina (MEB), uma miopatia inflamatória específica, caracterizada macroscopicamente por lesões verde-acinzentadas multifocais no músculo estriado do gado bovino. Histologicamente, as lesões consistem de uma inflamação eosinofílica com a degeneração da fibra muscular (VANGEEL et al., 2013), podendo ou não o *Sarcocystis* spp. estar localizado no centro da lesão (COSTA et al., 2006).

É uma doença relativamente rara, geralmente descoberta durante a inspeção da carne após o abate (WOUDA; SNOEP; DUBEY, 2006). Embora a MEB não seja detectável no animal vivo, ela resulta em perdas econômicas devido à condenação da carcaça ao abate, bem como a condenação da carne na linha de processamento (BUNDZA; FELTMATE, 1989; DO et al., 2008; KIMURA, 2011; BORJI; AZIZZADEH; KAMELLI, 2012).

Notavelmente, a prevalência de MEB é muito baixa, enquanto que a prevalência de *Sarcocystis* em rebanhos é extremamente elevada. A razão para esta discrepância não é clara e Vangeel et al. (2012) supuseram que uma única espécie poderia estar envolvida, mais certamente o *S. cruzi*, a espécie mais patogênica para bovinos. No entanto, em trabalho posterior, estes mesmos autores encontraram diversas espécies em casos de musculatura com MEB (VANGEEL et al., 2013). A inoculação de antígenos extraídos de *Sarcocystis* em bezerros provocou a mesma reação encontrada em casos naturais de MEB, o que pode sugerir que seja necessária a ruptura do cisto com a liberação destas substâncias para que ocorra a MEB (VANGEEL et al., 2012).

## DIAGNÓSTICO

Normalmente, os cistos são observados apenas por microscopia de luz, mas em casos graves de sarcocistose generalizada, eles podem crescer o suficiente para ser vistos a olho nu nas superfícies musculares da carcaça (DOMENIS et al., 2011).

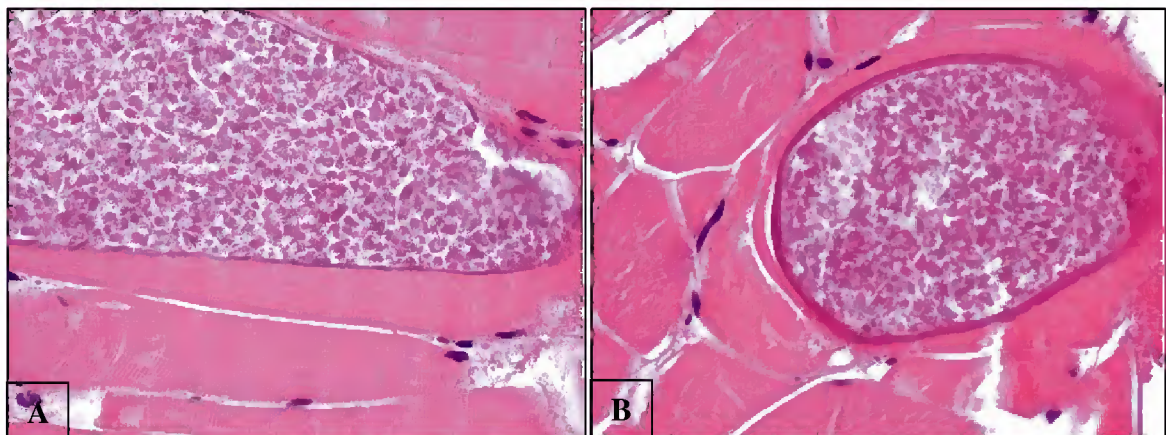
Para a pesquisa da sarcocistose em bovinos, diversas são as técnicas utilizadas, fazendo com que as taxas de prevalência difiram entre as pesquisas realizadas (LOPES, 2004). Estas técnicas estão listadas na tabela 1.

**Tabela 1.** Técnicas utilizadas na pesquisa de *Sarcocystis* spp. descritas na literatura, entre 1992 e 2013.

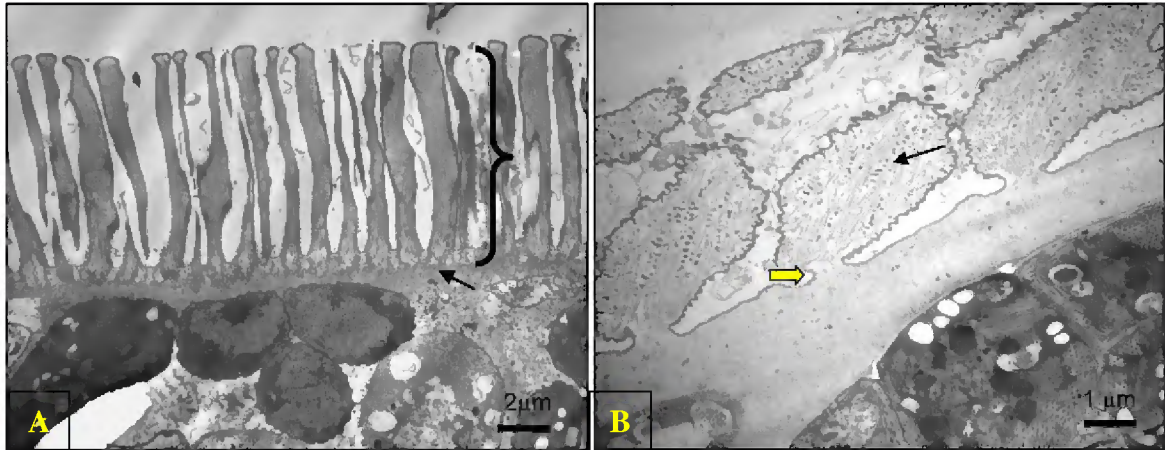
Autor	Método Direto	Método Indireto
LATIF et al., 1999; SAVINI et al., 1992.	Digestão peptídica ou tríplica	
LATIF et al., 1999; BADAWY et al., 2012.	Prensão muscular	
DOMENIS et al., 2007; PRITT et al., 2008.	Histopatologia	
LATIF et al., 1999; BADAWY et al., 2012.	Compressão	
RUAS; CUNHA; SILVA, 2001.	Escarificação	
DOMENIS et al., 2007; NOURANI et al., 2010.	Microscopia eletrônica de transmissão – TEM	
LATIF et al., 1999; MOREÉ et al., 2008; MOREÉ et al., 2010.		Imunofluorescência indireta – IFAT
YANG et al., 2002; DOMENIS et al., 2007; PRITT et al., 2008; STOJECKI et al., 2012; MOREÉ et al., 2013.		Reação em Cadeia da Polimerase – PCR
KALUBOWILA et al., 2004.		ELISA
MOREÉ et al., 2008.		Imunohistoquímica

A fase muscular do *Sarcocystis* spp. pode ser diferenciada de cistos de outros parasitas, tais como do *Toxoplasma gondii*, usando-se apenas a microscopia de luz. No entanto, a identificação definitiva do *Sarcocystis* spp. ao nível de algumas espécies não pode ser realizada por histologia básica e necessita de microscopia eletrônica ou análise molecular (PRITT et al., 2008).

Pelo método de microscopia, a diferenciação entre as espécies de *Sarcocystis* em bovinos é feita pela observação da estrutura da parede do cisto sob microscopia óptica (no caso de cistos de *S. cruzi* que possuem parede fina) ou microscopia eletrônica de transmissão (no caso de cistos de parede espessa, que podem ser *S. hirsuta* ou *S. hominis*) (YANG et al., 2002). As visualizações dos cistos de bovinos na microscopia óptica e eletrônica de transmissão estão demonstradas nas figuras 12 e 13, respectivamente.



**Figura 12:** (A) Tecido muscular de bovino contendo cisto de *Sarcocystis cruzi*. Notar a parede fina do cisto. Corado pela hematoxilina-eosina, 600X. (B) Tecido muscular de bovino contendo cisto de *Sarcocystis* spp. Notar a parede espessa do cisto, podendo significar ser de *S. hirsuta* ou *S. hominis*. Corado pela hematoxilina-eosina, 600X. Ghisleni et al., (2006).



**Figura 13:** Microscopia eletrônica de transmissão - (A) Foto de um cisto de parede espessa com protrusões longas e com aspecto de palhçada, característico de *Sarcocystis hominis*. (B) Foto de um cisto de parede espessa com protrusões tipo língua, com base estreita (seta amarela), porção média ampla (seta preta) e extremidade afunilada, característico de *Sarcocystis hirsuta*. Moré et al. (2011).

No entanto, tais métodos não são adequados para a identificação de rotina de *Sarcocystis* que mostram pouca variação morfológica, ou para estudos de variações de hospedeiros. Em outros casos, a variação natural dentro de uma espécie pode ter levado à distinção desnecessária de novos taxons, que se assemelham às espécies conhecidas, e sua consideração como possíveis novas espécies (YANG et al., 2002).

Com relação a este problema, a técnica do PCR, apesar de ter se mostrado menos sensível em alguns trabalhos (MORÉ et al., 2011), possui como vantagem a possibilidade de identificação de espécies morfológicamente semelhantes (e.g., *S. hirsuta* e *S. hominis*, nos bovinos). A técnica pode ser realizada mesmo num laboratório molecular básico e por técnicos não especializados na identificação de tais taxons pelos meios tradicionais. A abordagem também é custo-efetiva e rápida em comparação com os procedimentos de sequenciamento de DNA e microscopia eletrônica (YANG et al., 2002; JEHLE et al., 2009).

Entre os avanços recentes proporcionados pela PCR está a demonstração que as espécies que afetam bovinos e bubalinos, até então consideradas diferentes, podem ser na verdade as mesmas (YANG et al., 2001; YANG et al., 2002; LI et al., 2002; JEHLE et al., 2009).

## EPIDEMIOLOGIA

A sarcocistose é uma parasitose comum ao redor do mundo e uma variedade de condições permite sua prevalência elevada: um hospedeiro intermediário de *Sarcocystis* spp.

pode abrigar várias espécies e muitos hospedeiros definitivos estão envolvidos na sua transmissão; um grande número de esporocistos pode ser excretado por cada hospedeiro definitivo; os oocistos e esporocistos desenvolvem-se na lâmina e são liberados ao longo de um período de muitos meses; os oocistos são resistentes à congelação e podem resistir no pasto; também o fato de que os oocistos de *Sarcocystis* spp., ao contrário daqueles de outras espécies de protozoários, utilizarem as fezes com substrato para a forma infectante, libertando-os da dependência das condições climáticas para a maturação e infectividade (DUBEY; LINDSAY, 2006).

Fatores de risco podem aumentar a frequência de uma espécie em detrimento de outra, como por exemplo, a presença de carnívoros nas proximidades das instalações, principalmente em se tratando de cães, já que estes são hospedeiros definitivos da espécie mais patogênica para o gado (LOPES, 2004).

Ao lado da via normal de infecção, não se pode descartar a possibilidade da transmissão mecânica por insetos hematófagos em países com extensas áreas em regiões tropicais ou por transmissão iatrogênica, principalmente agulhas usadas em campanhas de vacinação. Experimentalmente, já foi observado que através de transfusão sanguínea pode-se transferir merozoítos circulantes de um bezerro para outros viabilizando o processo de infecção e a formação de cistos viáveis na musculatura de animais receptores da mesma espécie (FAYER; LEEK, 1979).

Com relação à prevalência mundial, a tabela 2 lista alguns resultados sobre a sarcocistose em animais abatidos em outros países, utilizando-se diversas técnicas de pesquisa.

Os trabalhos realizados no continente africano apontam para a importância dos canídeos na transmissão da sarcocistose. Obijiaku et al. (2013) afirmam que, na Nigéria muitos criadores nômades utilizam o cão como proteção para o rebanho, associando este fato com a alta taxa de infecção para *S. cruzi* em seu trabalho. De modo semelhante, Badawi et al. (2012) afirma que na cidade de Sharkya, Egito, os bovinos estão em maior contato com cães infectados do que com felinos infectados, pois estes últimos são geralmente criados quase que exclusivamente dentro de casa. No entanto, a identificação de *S. hominis* neste último trabalho aponta, segundo os autores, para a necessidade de medidas de controle na cadeia produtiva da carne para prevenir infecções na população.



**Tabela 2.** Prevalência da sarcocistose em bovinos abatidos em diversos países, entre 1999 e 2013.

<b>Autor/ano</b>	<b>Local</b>	<b>Método</b>	<b>S. cruzi</b>	<b>S. hominis</b>	<b>S. hirsuta</b>	<b>Total Geral</b>
Badawi et al., 2012	Sharkya, Egito	Exame a fresco, PCR, TEM, HP	29,6%	4,9%	-	29,6%
Bucca et al., 2011	Sicilia, Itália	HP	100%	-	-	96,0%
Domenis et al., 2011	Biella, Itália	HP, PCR e TEM	74,2%	42,7%	1,8%	78,1%
Fard et al., 2009	Kermam, Iran	Exame a fresco, DP e CP	-	-	-	100%
Fukuyo et al., 2002	Mongólia	CP	-	-	-	90,0%
Hamidinejat et al., 2010	Ahvaz, Iran	DP e CP	-	-	-	100%
Kalubowila et al., 2004	Sri Lanka	ELISA	-	-	-	69,3%
Latif et al., 1999	Iraque	Exame a fresco, IFAT, DP, PM e CP	-	-	0,2%	97,8%
Latif et al., 2013	Selangor, Malásia	HP e PCR	-	-	-	36,2%
Moré et al., 2008	Argentina	Exame a fresco, IH, HP e PCR	100%	-	-	100%
Moré et al., 2011	Argentina	IFAT, PCR-RFLP, TEM e exame a fresco	71,5%	-	-	99,5%
Nourani et al., 2010	Isfahan, Iran	HP	89,0%	-	-	92,0%
Obijiaku et al., 2013	Zaria, Nigéria	DP e HP	99,0%	4,0%	-	42,5%
Ono; Ohsumi, 1999	Japão	HP	100%	-	-	6,31%
Shekarforoush et al., 2004	Shiraz, Iran	DP	-	-	-	100%

HP: Histopatologia; PCR: Reação em Cadeia da Polimerase; RFLP: Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição; TEM: Microscopia Eletrônica de Transmissão; IH: Imunohistoquímica; IFAT: Teste de Imunofluorescência Indireta; ES: escarificação; CP: Compressão Muscular; PM: Prensão Muscular; ELISA: Ensaio Imunossorvente Ligado à Enzima; DP: Digestão Peptídica.

Os trabalhos de pesquisa realizados no Iran tem relatado uma alta taxa de infecção nos rebanhos bovinos (SHEKARFOROUSH et al., 2004; FARD et al., 2009; HAMIDINEJAT et al., 2010; NOURANI et al., 2010). Segundo Hamidinejat et al. (2010), o *S. cruzi* parece ser mais bem sucedido que as outras espécies na sua relação, interação e adaptação com o hospedeiro intermediário, o que confere a alta prevalência obtida em outras pesquisas na mesma região. Também neste país cães são utilizados para a guarda dos rebanhos, elevando o risco de contaminação pelo parasito (FARD et al., 2009; NOURANI et al., 2010).

Ainda na África, o trabalho de Latif et al. (1999) no Iraque aponta os cães de pastoreio como possuindo um importante papel na epidemiologia da sarcocistose bovina. Neste trabalho, a baixa casuística de macrocistos (*S. hirsuta*) reforça o papel do cão como principal agente de contaminação ambiental.

Na Ásia, a taxa de infecção observada entre as pesquisas variou de 6,31% a 90%. As diferentes taxas de infecção observadas neste continente estão relacionadas ao clima, ao grau de contato entre hospedeiros e ao sistema de produção praticado em cada país. Como exemplo disto, no Japão, pesquisadores relatam que o clima é desfavorável para a manutenção dos esporocistos no ambiente e o contato entre bovinos e canídeos é reduzido devido à criação de gado em galpões fechados (ONO; OHSUMI, 1999). No Sri Lanka, animais criados em áreas mais secas apresentavam maior taxa de infecção que aqueles criados em áreas úmidas (KALUBOWILA et al., 2004).

Na Malásia o número de cães vadios é muito menor quando comparado com países africanos, possivelmente explicando a menor prevalência da doença neste país (LATIF et al., 2013).

Ao contrário dos demais países asiáticos pesquisados, na Mongólia os rebanhos bovinos apresentaram elevada prevalência da sarcocistose. No entanto, por se tratar de um estudo com varias espécies de animais de criação não foi sugerido nenhum motivo para prevalência (FUKUYO et al., 2002).

Na Europa, os trabalhos de Bucca et al. (2011) e Domenis et al. (2011), ambos na Itália, apontaram alta prevalência de sarcocistose no rebanho. A infecção por *S. hominis* também foi elevada e entre os fatores epidemiológicos relacionados foram citados o consumo de carne crua pelos fazendeiros e a falta de rede de esgoto na propriedade (DOMENIS et al., 2011).

O Relatório Resumido da Comunidade da EFSA (European Agency for Food Security) sobre as tendências e origens das zoonoses, dos agentes zoonóticos, resistência antimicrobiana

e dos surtos de origem alimentar na União Europeia, emitido em 2005 e 2006, revela a falta de informações sobre a propagação da sarcocistose, mencionando apenas que a prevalência de *Sarcocystis* em bovinos abatidos foi de 0,002% e 0,01% na Bélgica e Luxemburgo, respectivamente; a partir de 2007, o relatório não forneceu dados sobre esta parasitose.

No continente americano, os trabalhos mais atuais sobre prevalência de *Sarcocystis* spp. se restringem à América Latina. Os trabalhos de Moré et al. (2008) e Moré et al. (2011) apontam para a alta frequência de *S. cruzi* nos rebanhos argentinos. As outras duas espécies também foram identificadas em técnicas auxiliares de diagnóstico (Microscopia Eletrônica de Transmissão e PCR), mas sua real taxa de infecção nos rebanhos não foi mensurada (Moré et al., 2011).

Com relação ao Brasil, poucos trabalhos sobre a infecção em bovinos foram realizados, em sua maioria na década de oitenta (tabela 3).

**Tabela 3.** Prevalência da sarcocistose em bovinos abatidos no Brasil, entre 1981 e 2001.

Autor/ano	Local	Método	Prevalência			Total Geral
			<i>S. cruzi</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. hirsuta</i>	
Carneiro; Cardoso, (1982)	Goiânia, Goiás	HP	100%	-	-	100%
Gomes; Lima (1982)	Minas Gerais	DP	66,9%	3,6%	8,0%	95,8%
Pereira; Carvalho (1989)	Londrina, Paraná	DP	100%	-	-	100%
Ruas; Cunha; Silva (2001)	Rio Grande do Sul	HP e ES	100%	-	1,4%	100%
Santúrio et al. (1986)	Roraima	HP	-	-	-	66%

HP: Histopatologia; ES: Escarificação; DP: Digestão Peptídica.

Gomes e Lima (1982) afirmam que o perfil da infecção pelas diferentes espécies nos rebanhos de Minas Gerais é devido ao tipo de manejo realizado nas fazendas locais, que não reduz a possibilidade dos bovinos se infectarem com fezes de homens e felinos.

Carneiro e Cardoso (1982), Santúrio et al. (1986), Pereira e Carvalho (1989) e Ruas, Cunha e Silva (2001) obtiveram elevada prevalência para *S. cruzi* em suas pesquisas.

A baixa prevalência geral encontrada nos rebanhos de Roraima pode ter sido causada, segundo Santúrio et al. (1982), pela técnica empregada e órgão examinado (coração). Apesar disso, não foram encontrados dados publicados sobre pesquisas posteriores neste estado.

Moré et al., (2011) relatam já ter ocorrido rejeição de carne bovina do Brasil e da Argentina, devido à infecção por *Sarcocystis* spp., pelo Sistema de Alerta Rápido para a Alimentação Humana e Animal, adotada pela Comunidade Europeia. Segundo estes autores, os métodos de diagnóstico aplicados e a validade destas rejeições devem ser discutidas considerando a alta prevalência de *S. cruzi* em bovinos em todo o mundo e a inviabilidade de obtenção de carne livre deste parasito, que faria com que a retirada de carne infectada da comercialização fosse algo impraticável. Nestes casos, uma diferenciação de *S. cruzi* e *S. hirsuta* da espécie zoonótica, *S. hominis*, seria de grande importância prática.

Além das pesquisas realizadas em abatedouros, alguns poucos trabalhos também foram realizados com produtos industrializados da carne. Khaniki e Kia (2006), em pesquisa com carne de hambúrguer, encontraram 6,25% de positividade para *Sarcocystis* spp. Ghisleni et al. (2006), encontraram 14,84% de positividade em carne enlatada produzida com animais oriundos do Brasil e Argentina, com taxas de positividade de 6,25% e 23,44%, respectivamente. Pritt et al. (2008), obtiveram 75% de positividade em carnes comercializadas em supermercados locais, combinando técnicas de histologia e PCR, enquanto que Quispe et al. (2010), na escarificação de 20 amostras de corações obtidos de ponto de venda no Perú, obtiveram 100% de positividade.

Considerando a importância da infecção na saúde pública, a espécie *S. hominis* é considerada a mais importante, já que o homem e primatas não-humanos são os únicos hospedeiros definitivos (FAYER, 2004). A infecção se dá pelo consumo de carne crua ou mal cozida, no entanto, as temperaturas internas necessárias para garantir a segurança da carne são desconhecidas, assim como a eficácia das técnicas de preparação alternativas como, por exemplo, a cura e a defumação (DILLINGHAM et al., 2011).

Pratos típicos que utilizam carne crua na sua elaboração podem ser um potencial fator de risco para a infecção em humanos, comprovado no estudo realizado por Pena, Ogassawara e Sinhorini (2001) que demonstraram experimentalmente a infecção por *S. hominis* em seres humanos, após o consumo da carne processada para a elaboração de quibes crus.

Além de participar como hospedeiro definitivo, o homem pode atuar como hospedeiro intermediário para algumas espécies de *Sarcocystis* ainda não identificadas e a infecção ocorre através da ingestão de esporocistos excretados por carnívoros, onívoros e primatas não humanos (LANE et al., 1998). Adicionalmente, Khaniki e Kia (2006) relatam que os sinais apresentados são de vasculite e miosite, porém a fase tecidual do parasito em humanos é rara e a fonte de tais infecções ainda não foi determinada.

Seres humanos podem ser tanto hospedeiro intermediário quanto definitivo em condições de imunoincompetência, desenvolvendo sintomas gastrointestinais e sinais clássicos, como mialgia e asma brônquica, relacionados com a presença de sarcocistos no tecido muscular (VELÁSQUEZ et al., 2008).

**BIBLIOGRAFIA**

ABEG. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE GADO. Belém, 2012. 56f

BADAWY, A. I. I.; ABOUZAIID, N. Z.; AHMED, H. A. Sarcocystis hominis and other Sarcocystis species infecting cattle in Sharkia Province, Egypt. **Journal of American Science**, v. 8, n. 8, p. 271-275, 2012.

BORJI, H.; AZIZZADEH, M.; KAMELLI, M. A retrospective study of abattoir condemnation due to parasitic infections: economic importance in Ahwaz, southwestern Iran. **Journal of Parasitology**, v. 98, n. 5, p. 954-957, 2012.

BOTELHO, G. G. Doença de Dalmeny: aspectos parasitológicos, epidemiológicos e patológicos. 1985, 182p. Tese (Doutorado em Ciências) – Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, 1985.

BUCCA, M.; BRIANTI, E.; GIUFFRIDA, A.; ZIINO, G.; CICCARI, S.; PANEBIANCO, A. Prevalence and distribution of Sarcocystis spp. cysts in several muscles of cattle slaughtered in Sicily, Southern Italy. **Food Control**, v. 22, p. 105-108, 2011.

BUNDZA, A.; FELTMATE, T. E. Eosinophilic myositis/lymphadenitis in slaughter cattle. **Canadian Veterinary Journal**, v. 30, p. 514-516, 1989.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Notes from the Field: acute muscular sarcocystosis among returning travelers – Tioman Island, Malaysia, 2011. **MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 61, n. 2, p. 37-38, 2012.

CHEN X. W.; ZUO Y. X.; HU J. J. Experimental Sarcocystis hominis infection in a water buffalo (Bubalus bubalis). **Journal of Parasitology**, v.89, n.2, p. 393 – 94, 2003.

COSTA, R. F. R.; SANTOS; I. F.; NASCIMENTO, E. R.; TORTELLY, R. Caracterização das lesões inflamatórias em corações bovinos comercializados em açougues da cidade de Nova Friburgo, RJ. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 13, n. 2, p. 76-79, 2006.

DILLINGHAM, R.; PAPE, J. W.; HERWALDT, B. L.; GUERRANT, R. L. Capítulo 89 - Cyclospora, Isospora, and Sarcocystis Infections. In: **Tropical Infectious Diseases** (Segunda Edição), editado por Richard L. Guerrant, David H. Walker and Peter F. Weller, Churchill Livingstone, Philadelphia, Pages 1015-1023, 2006.

DO, S. H.; JEONG, D. H.; CHUNG, J. Y.; PARK, J. K.; YANG, H. J.; YUAN, D. W.; JEONG, K. S. Eosinophilic myositis in a slaughtered Korean native cattle. **Journal of Veterinary Science**, v. 9, n. 4, p. 425-427, 2008.

DOMENIS, L.; PELETTI, S.; SACCHI, L.; CLEMENTI, E.; GENCHI, M.; FELISARI, L.; FELISARI, C.; MO, P.; MODESTO, P.; ZUCCON, F.; CAMPANELLA, C.; MAURELLA, C.; GUIDETTI, C.; ACUTIS, P. L. Detection of a morphogenetically novel *Sarcocystis hominis*-like in the context of a prevalence study in semi-intensively bred cattle in Italy. **Parasitology Research**, v. 109, p. 1677–1687, 2011.

DUBEY, J. P. Development of ox-cat cycle of *Sarcocystis hirsuta*. **Proceedings of Helminthology Society**, v. 49, p. 295 – 304, 1982.

DUBEY J. P. *Toxoplasma*, *Neospora*, *Sarcocystis*, and other tissue cyst-forming coccidia of humans and animals. In: KREIER, J. P. (Ed.) **Parasitic protozoa**. 2. ed. San Diego: Academic Press, 1992. cap. 1, p. 1 – 131.

DUBEY, J. P.; ODENING, K. *Toxoplasmosis and Related Infections*. In: Samuel, W.M., Pybus, M.J., Kocan, A.A. (Eds.), **Parasitic Diseases of Wild Mammals**. Iowa State University Press, Ames, pp. 478-511, 2001.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Neosporosis, *Toxoplasmosis*, and *Sarcocystosis* in Ruminants. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**, v. 22, p. 645–671, 2006.

DUBEY, J. P. The evolution of the knowledge of cat and dog coccidia. **Parasitology**, v. 136, p. 1469–1475, 2009.

ENTZEROTH, R.; CHOBOTAR, B.; SCHOLTYSECH, E. Ultrastructure of *Sarcocystis* sp. from the muscle of a white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). **Zeitschrift für Parasitenkunde**, v. 68, n. 1, p. 33 – 38, 1982.

ESPOSITO, D. H.; FREEDMAN, D. O.; NEUMAYR, A.; PAROLA, P. Ongoing outbreak of an acute muscular *Sarcocystis*-like illness among travellers returning from Tioman Island, Malaysia, 2011-2012. **Euro Surveillance**, v. 17, n. 45, 2012.

FARD, S. R. N.; ASGHARI, M.; NOURI, F. Survey of *Sarcocystis* infection in slaughtered cattle in Kerman, Iran. **Tropical Animal Health Production**, v. 41, p. 1633-1636, 2009.

FAYER, R.; JOHNSON, A. J.; LUNDE, M. Abortion and other signs of disease in cows experimentally infected with *Sarcocystis fusiformis* from dogs. **Journal of Infectious Disease**, v. 134, n. 6, p. 624-628, 1976.

FAYER, R.; LEEK, R. G. *Sarcocystis* transmitted by blood transfusion. **Journal of Parasitology**, v. 65, n. 6, p. 890-893, 1979.

FAYER, R. Epidemiology of protozoan infections: the coccidia. **Veterinary Parasitology**, v. 6, n. 1-3, p. 75-103, 1980.

FAYER, R.; LYNCH, G. P.; LEEK, R. G.; GASBARRE, L. C. Effects of sarcocystosis on milk production of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 66, n. 4, p. 904-908, 1983.

FAYER, R. *Sarcocystis* spp. in human infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 17, n. 4, p. 894-902, 2004.

FRIESEN D. L.; CAWTHORN R. J.; SPEER C. A. R. J.; BROOKST. Ultrastructural development of the sarcocyst of *Sarcocystis rauschorum* (Apicomplexa: Sarcocystidae) in the varying Lemming *Dicrostonyx richardsoni*. **Journal of Parasitology**, v. 75, n. 3, p. 422 – 427, 1989.

FUKUYO, M.; BATTSETSEG, G.; BYAMBAA, B. Prevalence of *Sarcocystis* infection in meat-producing animals in Mongolia. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 33 n. 3, p. 490-495, 2002.

GHISLENI, G.; ROBBA, S.; GERMANI, O.; SCANZIANI, E. Identification and prevalence of *Sarcocystis* spp. cysts in bovine canned meat. **Food Control**, v. 17, p. 691–694, 2006.

GILLIS K. D. **Naturally occurring *Sarcocystis* infection in domestic cats (*Felis catus*)**. Florida, EUA, 76p. Tese (Mestre em Ciências) - Universidade da Florida, Gainesville, 2003.

GOMES, A. G.; LIMA, J. D. *Sarcocystis* (Lankester, 1882) em bovinos de Minas Gerais: ocorrência e métodos de diagnóstico. **Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, v.34, n. 1, p. 83 – 92, 1982.

HAMIDINEJAT, H.; JALALI, M. H. R.; NABAVI, L. Survey on *Sarcocystis* infection in slaughtered cattle in south-west of Iran, emphasized of muscle squash in comparison with digestion method. **Journal of Animal and Veterinary Advances**. v. 9. n. 12. p. 1724 – 1726, 2010.



HETTIARACHCHI, D. C.; RAJAPAKSE, R. P. V. J. Antigenic analysis of bovine *Sarcocystis* spp. in Sri Lanka. **Jornal of National Science Foundation of Sri Lanka**, v. 36, n. 3, p. 239-244, 2008.

HEYDORN A. O.; MEHLHORN G. R.; ROMMEL M. Proposal for a new nomenclature of the Sarcosporidia. **Zeitschrift für Parasitenkunde**. v. 48, p.73 – 82, 1975.

JAKEL, T.; WALLSTEIN, E.; MUNCHEBERG, F.; ARCHER-BAUMANN, C.; WEINGARTEN, B.; KLIEMT, D.; MACKENSTEDT, U. Binding of a Monoclonal Antibody to Sporozoites of *Sarcocystis singaporensis* Enhances Escape from the Parasitophorous Vacuole, Which Is Necessary for Intracellular Development. **Infection and Immunity**. v. 69, n. 10, p. 6475 – 6482, 2001.

JEHLE, C.; DINKEL, A.; SANDER, A.; MORENT, M.; ROMIG, T.; LUC, P. V.; DE, T.V.; THAI, V. V.; MACKENSTEDT, U. Diagnosis of *Sarcocystis* spp. in cattle (*Bos taurus*) and water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Northern Vietnam. **Veterinary Parasitology**, n. 166, p. 314–320, 2009

KALUBOWILA, D. G. W.; UDAGAMA-RANDENIYA, P. V.; PERERA, N. A. N. D.; RAJAPAKSE, R. P. V. J. Seroprevalence of *Sarcocystis* spp. in cattle and buffaloes from the wet and dry zones of Sri Lanka: a preliminary study. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 51, p. 89–93, 2004.

KHANIKI, G. R. J.; KIA, E. B. Detection of *Sarcocystis* cysts from meat supplied for hamburger in Iran by histological method. **Journal of Medical Sciences**, v. 6, n. 1, p. 18-21, 2006.

KIMURA, T. Eosinophilic myositis resulted from *Sarcocystis* infection in prime marbled beef of Japanese black cattle. **Veterinary World**, v.4, n. 11, p. 500-502, 2011.

KLASSEN-FISCHER, M. K.; NEAFIE, R. C.; WEAR, D. J.; MEYERS, W. M. Cryptosporidiosis, Isosporiasis, Cyclosporiasis & Sarcocystosis. In.\_\_\_\_ MEYERS, W. M.; FIRPO, A.; WEAR, D. J. **Topics on the Pathology of Protozoan and Invasive Arthropod Diseases**. 2011. 287p.

KOUDELA, B; MODRY, D. *Sarcocystis muris* possesses both diheteroxenous and dihomoxenous characters of life cycle. **Journal of Parasitology**. v. 86, n. 4, p. 877 – 879, 2000.

LANE, J. H.; MANSFIELD, K. G.; JACKSON, L. R.; DITERS, R. W.; LIN, K. C.; MACKEY, J. J.; SASSEVILLE, V. G. Acute fulminant sarcocystosis in a captive-born Rhesus macaque. *Veterinary Pathology*, v. 35, p. 499–505, 1998.

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. *Veterinary Parasitology*, v. 84, p. 85–90, 1999.

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. *Tropical Biomedicine*. v. 30. n. 4. p. 699 – 705, 2013.

LI, Q. Q.; YANG, Z. Q.; ZUO, Y. X.; ATTWOOD, S. W.; CHEN, X. W.; ZHANG, Y. P. A PCR-based RFLP analysis of *Sarcocystis cruzi* (Protozoa: Sarcocystidae) in Yunnan Province, PR China, reveals the water buffalo (*Bubalus bubalis*) as a natural intermediate host. *Journal Parasitology*, v. 88, n. 6, p. 1259–1261, 2002.

LINDSAY, D. S.; BLAGBURN, B. L.; BRAUND, K. G. *Sarcocystis* spp and sarcocystosis. *British Medical Journal*, v. 5, n. 3, p. 249-254, 1995.

LOPES, C. W. G. O gênero *Sarcocystis* (Lankester, 1882) (Apicomplexa: Sarcocystidae), uma questão a ser reavaliada no Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.13, suplemento 1, 2004.

LOPES, C. W. G.; SÁ, W. F.; BOTELHO, G. G. Lesões em vacas mestiças gestantes, infectadas experimentalmente com *Sarcocystis cruzi* (Hasselmann, 1923) Wenyon, 1926 (Apicomplexa: Sarcocystidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 14, n. 2, p. 79-83, 2005.

MEHLHORN, H.; HARTELY, W. J.; HEYDORN, A. O. Ultrastructure study of the cyst wall of 13 *Sarcocystis* species. *Protistologica*, v. 12, p. 451, 1976.

METWALLY, A. M.; ELLAH M, R.; 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. *Journal of Parasitic Diseases*, v. 5, n. 8, 2013.

MORÉ, G.; BASSO, W.; BACIGALUPE, D.; VENTURINI, M. C.; VENTURINI, L. Diagnosis of *Sarcocystis cruzi*, *Neospora caninum*, and *Toxoplasma gondii* infections in cattle. *Parasitology Research*, v. 102, p. 671–675, 2008.

MORÉ, G.; BACIGALUPE, D.; BASSO, W.; RAMBEAUD, M.; VENTURINI, M. C.; VENTURINI, L. Serologic profiles for *Sarcocystis* sp. and *Neospora caninum* and productive performance in naturally infected beef calves. **Parasitology Research**, v. 106, p. 689–693, 2010.

MORÉ, G.; ABRAHAMOVICH, P.; JURADO, S.; BACIGALUPE, D.; MARIN, J. C.; RAMBEAUD, M.; VENTURINI, L.; VENTURINI, M. C. Prevalence of *Sarcocystis* spp. in Argentinean cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 177, p. 162–165, 2011.

MORÉ, G.; SCHARES, S.; MAKSIMOV, A.; CONRATHS, F. J.; VENTURINI, M. C.; SCHARES, G. Development of a multiplex real time PCR to differentiate *Sarcocystis* spp. affecting cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 197, p. 85–94, 2013.

MOWAFY, N. M. *Sarcocystis* of cattle in El-minia, upper Egypt and ultrastructure of *Sarcocystis hominis* cysts. **Medicine of Bull**, v. 14, p. 74-87, 2003.

NCBI. National Center for Biotechnology Information. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>>. Acessado em 13 de fevereiro de 2014.

NOURANI, H.; MATIN, S.; NOURI, A.; AZIZI, H. Prevalence of thin-walled *Sarcocystis cruzi* and thick-walled *Sarcocystis hirsuta* or *Sarcocystis hominis* from cattle in Iran. **Tropical Animal Health Production**, v. 42, p.1225–1227, 2010.

OBIJAKU, I. N.; AJOGI, I. UMOH, J. U.; LAWAL, I. A.; ATU, B. O. *Sarcocystis* infection in slaughtered cattle in Zango abattoir, Zaria, Nigeria. **Veterinary World**, v. 6, n. 6, p. 346-349, 2013.

ONO, M.; OHSUMI, T. Prevalence of *Sarcocystis* spp. cysts in Japanese and imported beef (Loin: *Musculus longissimus*). **Parasitology International**, v. 48, p. 91-94, 1999.

PATHOBIO. Section of rat *Sarcocystis*. Disponível em: <[www.pathobio.sdu.edu.cn](http://www.pathobio.sdu.edu.cn)>. Acessado em 18 de janeiro de 2014

PENA, H. F. J.; OGASSAWARA, S.; SINHORINI, I. L. Occurrence of cattle *Sarcocystis* species in raw kibbe from Arabian food establishments in the city of São Paulo, Brazil, and experimental transmission to humans. **Journal of Parasitology**, v. 87, p. 1459 – 1465, 2001.

PEREIRA, A. B. L.; CARVALHO, E. C. Q. Sarcocistose em bovinos abatidos em Londrina – Paraná. **Semina**, v. 10, n. 1, p. 27-33, 1989.

PRAKAS, P.; BUTKAUSKAS, D. Protozoan parasites from genus *Sarcocystis* and their investigations in Lithuania. **Ekologija**, v. 58, n. 1, p. 45 – 58, 2012.

PRAKAS, P.; KUTKIENE, L.; BUTKAUSKAS, D.; SRUOGA, A.; ZALAKEVICIUS, M. Molecular and morphological investigations of *Sarcocystis corvusi* sp. from the jackdaw (*Corvus monedula*). **Parasitology Research**, v. 112, p. 1163 – 1167, 2013.

PRITT, B.; TRAINER, T.; SIMMONS-ARNOLD, L.; EVANS, M.; DUNAMS, D.; ROSENTHAL, B. M. Detection of *Sarcocystis* parasites in retail beef: a regional survey combining histological and genetic detection methods. *Journal of Food Protection*, v. 71, n. 10, p. 2144-2147, 2008.

PPM. PRODUÇÃO PECUÁRIA MUNICIPAL. Rio de Janeiro, v. 39, p.1-63, 2011.

QUISPE, L. F.; EXEBIO, J.; ESTEBAN, D.; SOTO, P.; FALCÓN, I.; FERNÁNDEZ, M. R. Densidad parasitaria de *Sarcocystis* sp. en miocardio de bovinos en dos centros de comercialización de carne en Lima Metropolitana, Peru. **Revista Peruana de Parasitología**, v. 18, n. 2, p. 50 – 55, 2010.

RUAS, J. L.; CUNHA, C. W.; SILVA, S. S. Prevalência de *Sarcocystis* spp. (Lankester, 1882) em bovinos clinicamente sadios, da região sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Agorciência**, v.7, n. 3, p. 227-230, 2001.

SAVINI, G.; DUNSMORE, J. D.; ROBERTSON, I. D.; SENEVIRATNA, P. The epidemiology of *Sarcocystis* spp. in cattle of Western Australia. **Epidemiology and Infection**, v. 108, p. 107-113, 1992.

SAVINI, G.; ROBERTSON, I. D.; DUNSMORE, J. D. Risk factors associated with the occurrence of sarcocystosis in Western Australia: results of a postal survey. **Preventive Veterinary Medicine**, n. 19, p. 137 – 144, 1994.

SAYED, F. G.; MAHA S. I ; SHAHEEN M. S.; ARAFA M. I.; HODA M. *Sarcocystis* infection in cattle at Assiut abattoir: microscopical and serological studies. **Assiuty University Bull Environmental Research**, v. 11, n. 1, p. 47 – 58, 2008.

SHEKARFOROUSH, S. S.; RAZAVI, S. M.; ABBASVALI, M. First detection of *Sarcocystis hirsuta* from cattle in Iran. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 14, n. 2, p. 155 – 157, 2013.

SMITH J. H.; MEIER J. L.; NEILL P. J. G.; BOX E. D.. Pathogenesis of *Sarcocystis falcatula* in the budgerigar. I. Early pulmonary schizogony. **Laboratory Investigation**, v. 56, p. 60 – 71, 1987.

STOJECKI, K.; KARAMON, J.; SROKA, J.; CENCEK, T. Molecular diagnostics of *Sarcocystis* spp. infections. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 15, n. 3, p. 589-596, 2012.

TENTER A. M.; JOHNSON A. M.. Phylogeny of the tissue cyst-forming coccidia. **Advances in Parasitology**. v.39, p. 69 – 139, 1997.

VANGEEL, L.; HOUF, K.; GELDHOF, P.; NOLLET, H.; VERCRUYSSSE, J.; DUCATELLE, R.; CHIERS, K. Intramuscular inoculation of cattle with *Sarcocystis* antigen results in focal eosinophilic myositis. **Veterinary Parasitology**, v. 183, p. 224–230, 2012.

VANGEEL, L.; HOUF, K.; GELDHOF, P.; DE PRETER, K.; VERCRUYSSSE, J.; DUCATELLE, R.; CHIERS, K. Different *Sarcocystis* spp. are present in bovine eosinophilic myositis. **Veterinary Parasitology**, v. 197, p. 543–548, 2013.

VELASQUEZ, J. N.; RISIO, C.; ETCHART, C. B.; CHERTCOFF, A.V. Systemic sarcocystosis in a patient with acquired immune deficiency syndrome. **Human Pathology**, v. 39, p. 1263-1267, 2008.

WEE, S. H.; SHIN, S. S. Experimental induction of the two-host life cycle of *Sarcocystis cruzi* between dogs and Korean native calves. **Korean Journal of Parasitology**, v.39, n. 3, p. 227 – 32, 2001.

WOUDA, W.; SNOEP, J. J.; DUBEY, J. P. Eosinophilic myositis due to *Sarcocystis hominis* in a beef cow. **Journal of Comparative Pathology**, v.135, p. 249-253, 2006.

XIANG, Z; YONGSHU, H.; HAO, H; ROSENTHAL B. M.; DUNAMS, D. B.; LI, X.; ZUO, Y.; FENG, G.; CUI, L.;YANG, Z. *Sarcocystis cruzi*: Comparative studies confirm natural infections of buffaloes. **Experimental Parasitology**. v. 127, n. 2, p. 460 – 466, 2011.

YANG, Z. Q.; ZUO, Y. X.; YAO, Y. G.; CHEN, X. W.; YANG, G. C.; ZHANG, Y. P. Analysis of the 18S rRNA genes of *Sarcocystis* species suggests that the morphologically similar organisms from cattle and water buffalo should be considered the same species. **Molecular & Biochemical Parasitology**, v. 115, p. 283–288, 2001.

YANG, Z. Q.; LI, Q. Q.; ZUO, Y. X.; CHEN, X. W.; CHEN, Y. J.; NIE, L.; WEI, X. G.; ZEN, J. S.; ATTWOOD, S.W.; ZHANG, X. Z.; ZHANG, Y. P. Characterization of Sarcocystis species in domestic animals using a PCR-RFLP analysis of variation in the 18S rRNA gene: a cost-effective and simple technique for routine species identification. **Experimental Parasitology**, v. 102, p. 212–217, 2002.

## **CAPÍTULO 1 – Infecção por *Sarcocystis* spp. (Apicomplexa: Sarcocystidae) em bovinos de corte abatidos no estado do Pará - Brasil**

### **RESUMO**

Com o objetivo de se estimar a frequência parasitária de *Sarcocystis* spp. em bovinos de corte abatidos no estado do Pará 200 amostras de coração e de língua (n=400) foram analisadas pelas técnicas de digestão peptídica e escarificação. Foram selecionadas 100 amostras de cada órgão para exame histopatológico, correspondendo a 50% de cada rebanho abatido, para observação das características da parede do cisto e lesões associadas. Considerando os resultados das duas técnicas e os órgãos examinados, todos os animais pesquisados estavam infectados por *Sarcocystis* spp., sendo que pela técnica de digestão peptídica 92% (n=184) das amostras de coração e 83% (n=166) das amostras de língua foram diagnosticadas positivas. Pelo método de escarificação, a positividade foi de 90% (n=180) para o coração e 59% (n=118) para a língua. Todos os cistos apresentavam parede delgada (< 1 µm) compatível com *S. cruzi*, sem nenhuma lesão associada. Comprovou-se pela primeira vez a infecção por *S. cruzi* em bovinos de corte no estado do Pará, com elevada frequência.

**Palavras-chave:** *Sarcocystis cruzi*, frequência de infecção, gado bovino paraense.

### **ABSTRACT**

In order to estimate the frequency of parasite *Sarcocystis* spp. in beef cattle slaughtered in the state of Para 200 samples of heart and tongue (n = 400) were analyzed by the peptide digestion and scarification. Were selected 100 samples of each organ for histopathologic examination, corresponding to 50% of each herd slaughtered for observation of the characteristics of the cyst wall and associated lesions. Considering the results of both techniques and the organs examined all animals studied were infected by *Sarcocystis* spp. whereas the technique of peptide digestion 92% (n = 184) samples of heart and 83% (n = 166) samples of tongue were diagnosed positive. By the method of scarification, the positivity was 90% (n = 180) for the heart and 59% (n = 118) for the tongue. All examined cysts had thin wall corresponding to *S. cruzi*. All cysts had thin wall (<1 µm) compatible with *S. cruzi*, with no associated injury. It was shown for the first time *S. cruzi* infection in beef cattle in the state of Pará, with high frequency.

**Key-words:** *Sarcocystis cruzi*, frequency of infection, paraense bovine cattle.

## 1. INTRODUÇÃO

Dentre as infecções parasitárias que interferem na saúde e produção dos bovinos, podemos destacar a sarcocistose, por apresentar frequência elevada nos rebanhos e contar com espécies de potencial zoonótico. O bioagente da infecção é um protozoário heteroxeno, apicomplexa, do gênero *Sarcocystis*, que gera formações císticas em vários tecidos musculares nestes animais (FAYER, 2004).

Atualmente são descritas aproximadamente 200 espécies de *Sarcocystis* (PRAKAS et al., 2013), sendo que em bovinos são relatadas três: *S. cruzi*, *S. hirsuta* e *S. hominis*, com seus hospedeiros definitivos os canídeos, os felídeos e os primatas, respectivamente (DUBEY; LINDSAY, 2006).

Os bovinos afetados podem apresentar sinais clínicos de anemia, perda de peso, aborto e até morte em infecções mais severas (FAYER; JOHNSON; LUNDE, 1976). Estes sinais inespecíficos surgem durante a fase reprodutiva e migratória do parasito, até que se alojem em diversos músculos estriados, onde formam cistos contendo diversos parasitos que são infecciosos para um hospedeiro definitivo. A formação destes sarcocistos pode causar miosite eosinofílica, uma inflamação muscular pouco frequente em vista da alta taxa de infecção no rebanho (VANGEEL et al., 2013).

Os humanos participam do ciclo do parasito ao consumir carnes cruas ou mal processadas de animais portadores de cistos musculares, e podem desenvolver alterações vasculares, intestinais, entre outras (DILLINGHAM et al., 2006), ou intermediar o ciclo, ao ingerir as fases infectantes eliminadas pelos hospedeiros definitivos (LANE et al., 1998).

Como a produção de bovinos no Estado do Pará tem uma importante contribuição na cadeia produtiva nacional e considerando que os dados sobre a sarcocistose bovina na região ainda são incipientes, este trabalho objetivou estimar a frequência parasitária do coccídeo *Sarcocystis* spp. em bovinos de corte abatidos no estado do Pará, utilizando como indicadores biológicos amostras de coração e língua.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Coleta das amostras

As amostras foram coletadas no período de junho a agosto de 2013, durante o abate dos animais no Matadouro Frigorífico do Tapanã, distrito de Icoaraci, Belém – Pará. Cerca de 50 gramas de coração e língua de duzentos bovinos foram obtidas para análise, totalizando



400 amostras (57 machos e 143 fêmeas). Foram obtidas amostras de cinco das seis mesorregiões paraenses, sendo 11 da Região Metropolitana de Belém, 17 do Nordeste Paraense, 50 do arquipélago do Marajó, 59 do Sudoeste Paraense e 63 do Sudeste Paraense. A idade foi estimada pela observação da dentição.

As amostras foram acondicionadas individualmente em sacos plásticos e conduzidas em caixa de polímero expandido contendo gelo, para o Laboratório de Parasitologia Animal da Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, campus Belém.

## **2.2. Processamento e análise das amostras**

### **2.2.1. Escarificação**

As amostras foram escarificadas com auxílio de lâmina de bisturi, sendo o conteúdo pressionado entre duas lâminas e examinadas em microscópio óptico ao aumento de 100X e 200X, para a visualização de cistos ou bradizoítos. As amostras somente eram consideradas negativas após o exame de quatro lâminas. Os cistos íntegros, sem dobras e visíveis em toda sua extensão eram medidos no seu comprimento e maior largura com ocular micrométrica calibrada.

### **2.2.2. Digestão Peptídica**

O procedimento realizado está de acordo com o preconizado por Gomes; Lima (1982), utilizando apenas uma centrifugação e filtração. As amostras só eram consideradas negativas após o exame de quatro lâminas sem a detecção de bradizoítos ou cistos.

### **2.2.3. Histopatologia**

Foram selecionadas 100 amostras de cada órgão para exame histopatológico, correspondendo a 50% de cada rebanho abatido. O processamento do material foi realizado no Laboratório de Patologia Animal – UFRA, retirando-se de cada amostra um fragmento de cerca de 1 cm<sup>3</sup>, fixado em solução tamponada de formalina neutra a 10%, desidratado em álcool etílico graduado, embebido em parafina, cortado em 5 micra de espessura e processado rotineiramente para coloração com hematoxilina e eosina. As lâminas histológicas eram observadas ao microscópio óptico no aumento de 1000X, com posterior registro fotográfico. Os sarcocistos encontrados foram avaliados de acordo com a espessura da parede, analisando-se as reações histopatológicas decorrentes da presença do cisto na musculatura.

### 2.3. Análise Estatística

As medidas de comprimento e largura dos cistos foram comparadas por Análise de Variância, ao nível de significância de 5%.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando os resultados das duas técnicas e os órgãos examinados, todos os animais pesquisados estavam infectados por *Sarcocystis* spp, conforme tab. 1. Esta frequência é semelhante à relatada por Carneiro e Cardoso (1982); Pereira e Carvalho (1989); Ruas, Cunha e Silva (2001); Quispe et al. (2010); Moré et al. (2008); Fard et al. (2009) e Hamidinejat et al. (2010) utilizando técnicas parasitológicas, conforme disposto na tab. 2.

Tabela 1: Frequência de *Sarcocystis* spp. em amostras de língua e coração de bovinos abatidos no período de junho a agosto de 2013 em Belém – PA.

<b>Técnica parasitológica e órgão</b>	<b>Digestão + Escarificação (%)</b>	<b>Digestão (%)</b>	<b>Escarificação (%)</b>	<b>Total (%)</b>
<b>Coração</b>	164 (82%)	20 (10%)	16 (8%)	200 (100%)
<b>Língua</b>	102 (51%)	64 (32%)	16 (8%)	182 (91%)

Dubey e Lindsay (2006) afirmam que o *Sarcocystis* é um parasito comum e uma variedade de condições permite sua elevada prevalência, como o fato de um hospedeiro intermediário poder abrigar várias espécies de *Sarcocystis* spp. e muitos hospedeiros definitivos estarem envolvidos na sua transmissão; a eliminação de um grande número de esporocistos por cada hospedeiro definitivo, ao longo de um período de muitos meses; a resistência dos esporocistos à congelação e às condições no pasto e de serem liberados sob a forma infectante, o que os torna independentes das condições climáticas para a maturação e infectividade, ao contrário do que ocorre com outros protozoários.

Ainda na tab. 1 verifica-se que pela técnica de digestão peptídica 92% (n=184) das amostras de coração e 83% (n=166) das amostras de língua foram positivas, não sendo visualizado nenhum cisto íntegro nas amostras submetidas à digestão peptídica. Pelo técnica de escarificação, a positividade foi de 90% (n=180) para o coração e 59% (n=118) para a língua. Houve diferença estatística significativa entre as frequências encontradas na digestão e escarificação de ambos os órgãos, no entanto não houve diferença estatística significativa entre a digestão peptídica e a escarificação do coração.

**Tabela 2.** Dados sobre a sarcocistose rebanhos em bovinos abatidos no Brasil e em diversos países, de 1982 a 2013.

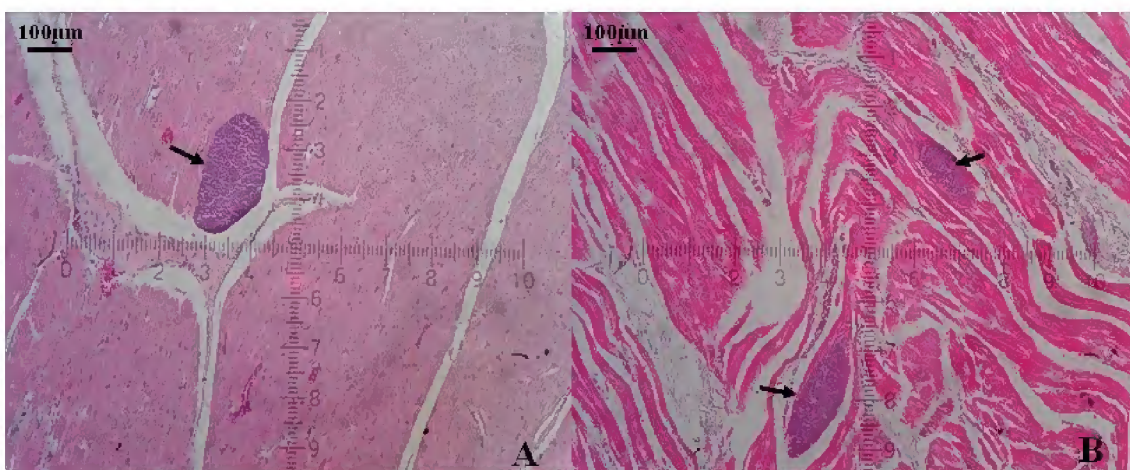
<b>Autor/ano</b>	<b>Local</b>	<b>Método</b>	<b>S. cruzi</b>	<b>S. hominis</b>	<b>S. hirsuta</b>	<b>Total Geral</b>
Badawi et al., 2012	Sharkya, Egito	Exame a fresco, PCR, TEM, HP	29,6%	4,9%	-	29,6%
Bucca et al., 2011	Sicilia, Itália	HP	100%	-	-	96,0%
Carneiro; Cardoso, 1982	Goiânia, Goiás	HP	100%	-	-	100%
Domenis et al., 2011	Biella, Itália	HP, PCR e TEM	74, 2%	42,7%	1,8%	78,1%
Fard et al., 2009	Kermam, Iran	Exame a fresco, DP e CP	-	-	-	100%
Fukuyo et al., 2002	Mongólia	CP	-	-	-	90,0%
Gomes; Lima, 1982	Minas Gerais	DP	66,9%	3,6%	8,0%	95,8%
Hamidinejat et al., 2010	Ahvaz, Iran	DP e CP	-	-	-	100%
Kalubowila et al., 2004	Sri Lanka	ELISA	-	-	-	69,3%
Latif et al., 1999	Iraque	Exame a fresco, IFAT, DP, PM e CP	-	-	0,2%	97,8%
Latif et al., 2013	Selangor, Malásia	HP e PCR	-	-	-	36,2%
Moré et al., 2008	Argentina	Exame a fresco, IH, HP e PCR	100%	-	-	100%
Moré et al., 2011	Argentina	IFAT, PCR-RFLP, TEM e exame a fresco	71,5%	-	-	99,5%
Nourani et al., 2010	Isfahan, Iran	HP	89,0%	-	-	92,0%
Obijiaku et al., 2013	Zaria, Nigéria	DP e HP	99,0%	4,0%	-	42,5%
Ono; Ohsumi, 1999	Japão	HP	100%	-	-	6,31%
Pereira; Carvalho, 1989	Londrina, Paraná	DP	100%	-	-	100%
Quispe et al., 2010	Lima, Perú	ES	-	-	-	100%
Ruas; Cunha; Silva, 2001	Rio Grande do Sul	HP e ES	100%	-	1,4%	100%
Santúrio et al., 1986	Roraima	HP	-	-	-	66%
Shekarforoush et al., 2004	Shiraz, Iran	DP	-	-	-	100%

HP: Histopatologia; PCR: Reação em Cadeia da Polimerase; RFLP: Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição; TEM: Microscopia Eletrônica de Transmissão; IH: Imunohistoquímica; IFAT: Teste de Imunofluorescência Indireta; ES: escarificação; CP: Compressão Muscular; PM; Prensão Muscular; ELISA: Ensaio Imunosorvente Ligado à Enzima; DP: Digestão Peptídica.

A alta eficiência da técnica de digestão peptídica também foi relatada em outros trabalhos como o de Gomes e Lima (1982), que obtiveram 97,7% e 93,3% de positividade no coração e na língua, respectivamente; Pereira e Carvalho (1989) que, em pesquisa com 130 corações bovinos, relataram taxa de 100% de positividade; Hamidinejat et al. (2010), Fard et al. (2009) e Shekarforoush et al. (2004) que também obtiveram 100% de positividade para a língua e coração. Já a escarificação demonstrou ser de fácil execução, rápida e econômica quando comparada com a digestão peptídica, podendo ser aplicada em grande escala para a detecção de sarcocistos, inclusive em estudos epidemiológicos da sarcocistose, utilizando-se como referencial o coração. Além disso, a escarificação não diferiu significativamente a digestão peptídica no exame do coração.

No presente trabalho, as técnicas utilizadas detectaram maior índice de infecção em amostras de coração (tab. 1). Isto pode estar relacionado com o tipo de musculatura conforme afirma Puebla et al. (2013), justificando que as musculaturas que apresentam uma grande quantidade de hemoglobina, como é o caso do músculo cardíaco, possuem características especiais para captar, armazenar e ceder oxigênio, que é aproveitado pelo parasita no hospedeiro.

Das amostras de língua e coração analisadas pela histopatologia, 51% (51/100) e 78% (78/100) apresentaram cistos de *Sarcocystis*, respectivamente (fig. 1), sendo identificados como pertencentes à espécie *S. cruzi* por apresentarem a parede lisa, uniforme e delgada ( $< 1\mu\text{m}$ ) (SAITO et al., 1996). Todos os cistos estavam intactos e localizados no interior da fibra muscular.



**Figura 1:** Cisto de *Sarcocystis cruzi* (seta) observado no interior das fibras musculares do coração (A) e da língua (B) de bovinos abatidos em Belém – PA, no período de junho a agosto de 2013. Aumento de 100X. Hematoxilina-Eosina.

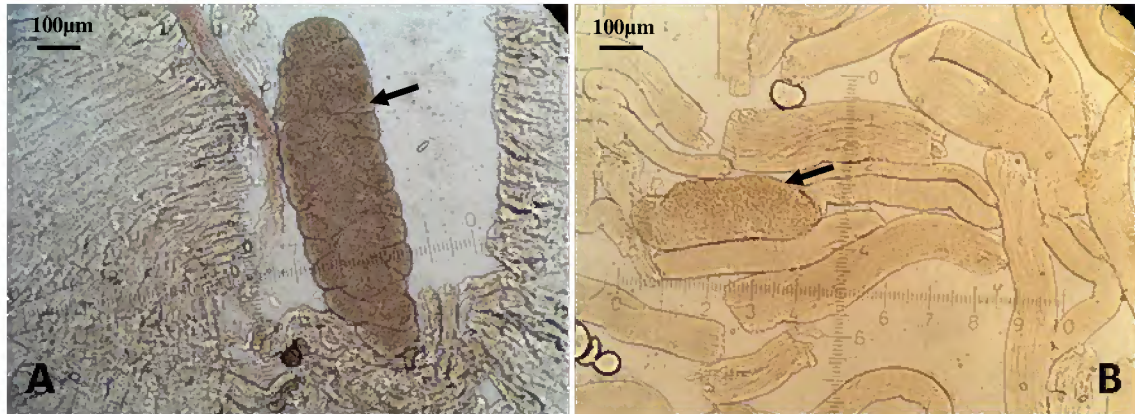
Segundo Hamidinejat et al. (2010), o *S. cruzi* parece ser mais bem sucedido que as outras espécies na sua relação, interação e adaptação com o hospedeiro intermediário, o que confere a alta prevalência desta espécie em rebanhos bovinos, quando comparado com o *S. hirsuta* e o *S. hominis*. Moré et al. (2008), afirmam que os resultados elevados de *S. cruzi* em bovinos indicam que há contato muito próximo com os hospedeiros definitivos e que existe uma grande habilidade do parasito em passar dos canídeos para os bovinos e vice-versa.

O hábito de se utilizar o cão no manejo no gado e de alimentá-lo com carne crua (SAVINI; ROBERTSON; DUNSMORE, 1994), além do próprio carnivorismo de carcaças por canídeos silvestres contribui para a alta frequência desta espécie de parasito em bovinos (RUAS, CUNHA; SILVA, 2001). Também se deve considerar a elevada produção de formas infectantes por um período prolongado pelos canídeos, que podem excretá-los por 18 – 35 dias, numa média de quatro milhões de esporocistos por dia durante o curso da infecção (LATIF et al., 1999).

Adicionalmente, não foram observadas alterações histopatológicas induzidas pela presença dos cistos nos órgãos pesquisados, como a Miosite Eosinofílica Bovina (MEB), que se caracteriza macroscopicamente por lesões verde-acinzentadas multifocais no músculo estriado dos bovinos. Histologicamente, estas lesões consistem de uma inflamação eosinofílica associada à degeneração da fibra muscular (VANGEEL et al., 2013), podendo ou não o agente estar localizado no centro da lesão (COSTA et al., 2006).

A ausência de lesões associadas ao parasitismo pode estar relacionada com o fato de todos os cistos observados encontrarem-se íntegros, já que os trabalhos de Vangeel et al. (2012) e Vangeel et al. (2013) relatam que ocorrência da lesão está relacionada com a integridade do cisto, sugerindo que seja necessário o rompimento dos cistos para que haja a liberação de antígeno para ativar a resposta imune do hospedeiro (VANGEEL et al., 2012).

Quanto aos cistos visualizados pela escarificação, foram medidos 82 que atenderam às condições metodológicas (fig. 2) e os resultados estão dispostos na tab. 3.



**Figura 2:** Cisto de *Sarcocystis* (seta) observado na escarificação do coração (A) e da língua (B) de bovinos abatidos em Belém – PA, no período de junho a agosto de 2013. Aumento de 100X.

**Tabela 3:** Média, Coeficiente de Variação (CV), valor máximo (Vmáx) e valor mínimo (Vmín) dos cistos observados pela escarificação de amostras de língua e coração de bovinos abatidos em Belém – Pará, no período de junho a agosto de 2013.

Parâmetro	Língua (n = 16)		Coração (n = 66)	
	Comprimento	Largura	Comprimento	Largura
Média (µm)	461,35 ±158,22 <sub>a</sub>	145,01 ±56,66 <sub>A</sub>	317,88 ± 166,30 <sub>b</sub>	110,51 ±41,94 <sub>B</sub>
CV (%)	34%	39%	52%	38%
Vmáx (µm)	861,52	293,70	773,41	234,96
Vmín (µm)	283,91	48,95	97,90	48,95

Valores seguidos de letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste Tukey ( $p < 0,0001$ ).

Os resultados das medidas de comprimento e largura obtidos pela observação no exame de escarificação são muito semelhantes aos observados por Moré et al. (2008) no coração e por Pena, Ogassawara e Senhorini (2001) em cistos observados em quibe cru.

As diferenças encontradas entre as mensurações podem ser devido às características das fibras musculares dos órgãos pesquisados, uma vez que a musculatura da língua é do tipo esquelética, constituídas de células muito longas (até 30 cm em alguns músculos) enquanto que as células musculares cardíacas alcançam comprimentos menores (até 100µm), segundo Junqueira e Carneiro (2008).

#### 4. CONCLUSÃO

Entre os Sarcocystidae somente se comprovou a infecção por *S. cruzi* nos rebanhos bovinos do estado do Pará; estas infecções não induziram alterações histopatológicas e o coração foi o melhor indicador biológico, independente da técnica utilizada.

## 5. BIBLIOGRAFIA

BADAWY, A. I. I.; ABOUZAID, N. Z.; AHMED, H. A. Sarcocystis hominis and other Sarcocystis species infecting cattle in Sharkia Province, Egypt. **Journal of American Science**, v. 8, n. 8, p. 271-275, 2012.

BUCCA, M.; BRIANTI, E.; GIUFFRIDA, A.; ZIINO, G.; CICCARI, S.; PANEBIANCO, A. Prevalence and distribution of Sarcocystis spp. cysts in several muscles of cattle slaughtered in Sicily, Southern Italy. **Food Control**, v. 22, p. 105-108, 2011.

CARNEIRO, J. R.; CARDOSO, V. M. Incidência de Sarcocystis (Lankester, 1882) em bovino azebuados procedentes do matadouro de Goiânia – Goiás. **Anais da escola de Agronomia e Veterinária**, n. 12, p. 15 – 20, 1982.

COSTA, R. F. R.; SANTOS; I. F.; NASCIMENTO, E. R.; TORTELLY, R. Caracterização das lesões inflamatórias em corações bovinos comercializados em açougues da cidade de Nova Friburgo, RJ. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 13, n. 2, p. 76-79, 2006.

DILLINGHAM, R.; PAPE, J. W.; HERWALDT, B. L.; GUERRANT, R. L. Capítulo 89 - Cyclospora, Isospora, and Sarcocystis Infections. In: **Tropical Infectious Diseases** (Segunda Edição), editado por Richard L. Guerrant, David H. Walker and Peter F. Weller, Churchill Livingstone, Philadelphia, Pages 1015-1023, 2006.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Neosporosis, Toxoplasmosis, and Sarcocystosis in Ruminants. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**, v. 22, p. 645–671, 2006.

DOMENIS, L.; PELETTI, S.; SACCHI, L.; CLEMENTI, E.; GENCHI, M.; FELISARI, L.; FELISARI, C.; MO, P.; MODESTO, P.; ZUCCON, F.; CAMPANELLA, C.; MAURELLA, C.; GUIDETTI, C.; ACUTIS, P. L. Detection of a morphogenetically novel Sarcocystis hominis-like in the context of a prevalence study in semi-intensively bred cattle in Italy. **Parasitology Research**, v. 109, p. 1677–1687, 2011.

FARD, S. R. N.; ASGHARI, M.; NOURI, F. Survey of Sarcocystis infection in slaughtered cattle in Kerman, Iran. **Tropical Animal Health Production**, v. 41, p. 1633-1636, 2009.

FAYER, R.; JOHNSON, A. J.; LUNDE, M. Abortion and other signs of disease in cows experimentally infected with Sarcocystis fusiformis from dogs. **Journal of Infectious Diseases**, v. 134, n. 6, p. 624-628, 1976.

FAYER, R. Sarcocystis spp. in human infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 17, n. 4, p. 894-902, 2004.

FUKUYO, M.; BATTSETSEG, G.; BYAMBAA, B. Prevalence of Sarcocystis infection in meat-producing animals in Mongolia. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 33 n. 3, p. 490-495, 2002.

GOMES, A. G.; LIMA, J. D. Sarcocystis (Lankester, 1882) em bovinos de Minas Gerais: ocorrência e métodos de diagnóstico. **Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, v.34, n. 1, p. 83 – 92, 1982.

HAMIDINEJAT, H.; JALALI, M. H. R.; NABAVI, L. Survey on Sarcocystis infection on slaughtered cattle in south-west of Iran, emphasized on evaluation of muscle squash in comparison with digestion method. **Journal of animal e Veterinary Advances**, v. 9, n. 12, p. 1724 – 1726, 2010.

JUNQUEIRA, L. C. U; CARNEIRO, J. Histologia Básica, Rio de Janeiro, **Guanabara Koogan**, 11° edição, 2008.

KALUBOWILA, D. G. W.; UDAGAMA-RANDENIYA, P. V.; PERERA, N. A. N. D.; RAJAPAKSE, R. P. V. J. Seroprevalence of Sarcosystis spp. in cattle and buffaloes from the wet and dry zones of Sri Lanka: a preliminary study. **Journal of Veterinary Medicine**, n. 51, 89 – 93, 2004.

LANE, J. H.; MANSFIELD, K. G.; JACKSON, L. R.; DITERS, R. W.; LIN, K. C.; MACKEY, J. J.; SASSEVILLE, V. G. Acute fulminant sarcocystosis in a captive-born Rhesus macaque. *Veterinary Pathology*, v. 35, p. 499–505, 1998.

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. **Veterinary Parasitology**, v. 84, p. 85–90, 1999.

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. *Tropical Biomedicine*. v. 30. n. 4. p. 699 – 705, 2013.

MORÉ, G.; BASSO, W.; BACIGALUPE, D.; VENTURINI, M. C.; VENTURINI, L. Diagnosis of Sarcocystis cruzi, Neospora caninum, and Toxoplasma gondii infections in cattle. *Parasitology Research*, v. 102, p. 671–675, 2008.

MORÉ, G.; ABRAHAMOVICH, P.; JURADO, S.; BACIGALUPE, D.; MARIN, J. C.; RAMBEAUD, M.; VENTURINI, L.; VENTURINI, M. C. Prevalence of Sarcocystis spp. in Argentinean cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 177, p. 162–165, 2011.

NOURANI, H.; MATIN, S.; NOURI, A.; AZIZI, H. Prevalence of thin-walled Sarcocystis cruzi and thick-walled Sarcocystis hirsuta or Sarcocystis hominis from cattle in Iran. **Tropical Animal Health Production**, v. 42, p.1225–1227, 2010.

OBIJAKU, I. N.; AJOGI, I. UMOH, J. U.; LAWAL, I. A.; ATU, B. O. Sarcocystis infection in slaughtered cattle in Zango abattoir, Zaria, Nigeria. **Veterinary World**, v. 6, n. 6, p. 346-349, 2013.

ONO, M.; OHSUMI, T. Prevalence of Sarcocystis spp. cysts in Japanese and imported beef (Loin: Musculus longissimus). **Parasitology International**, v. 48, p. 91-94, 1999.

PENA, H. F. J.; OGASSAWARA, S.; SINHORINI, I. L. Occurrence of cattle Sarcocystis species in raw kibbe from arabian food establishments in the city of São Paulo, Brazil, and



experimental transmission to humans. **Journal of Parasitology**, v. 87, n. 6, p. 1459 – 1465, 2001.

PEREIRA, A. B. L.; CARVALHO, E. C. Q. Sarcocistose em bovinos abatidos em Londrina – Paraná. **Semina**, v. 10, n. 1, p. 27-33, 1989.

PRAKAS, P.; KUTKIENE, L.; BUTKAUSKAS, D.; SRUOGA, A.; ZALAKEVICIUS, M. Molecular and morphological investigations of *Sarcocystis corvusi* sp. from the jackdaw (*Corvus monedula*). **Parasitology Research**, v. 112, p. 1163 – 1167, 2013.

PUEBLA, D. H.; ZALDIVAR, Q. N.; FONT, P. H.; RODRÍGUEZ, V. Y.; MENDOZA, T. N. Variabilidad invasiva del *Sarcocystis* en bovino, según la pigmentación de la fibra muscular parasitada. *Revista Veterinaria Argentina*, v. 30, n. 300, p. 1 – 5, 2013.

QUISPE, L. F.; EXEBIO, J.; ESTEBAN, D.; SOTO, P.; FALCÓN, I.; FERNÁNDEZ, M. R. Densidad parasitaria de *Sarcocystis* sp. en miocardio de bovinos en dos centros de comercialización de carne en Lima Metropolitana, Peru. **Revista Peruana de Parasitología**, v. 18, n. 2, p. 50 – 55, 2010.

RUAS, J. L.; CUNHA, C. W.; SILVA, S. S. Prevalência de *Sarcocystis* spp. (Lankester, 1882) em bovinos clinicamente sadios, da região sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de AGROCIÊNCIA**, v.7, n. 3, p. 227-230, 2001.

SAITO, M.; SHIBATA, Y.; KOBAYASHI, T.; KOBAYASHI, M.; KUBO, M.; ITAGAKI, H. Ultrastructure of the of the cyst wall of *Sarcocystis* species with canine final host in Japan. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 58, n. 5, p. 861- 867, 1996.

SANTÚRIO, J. M.; SILVEIRA, A. F.; SANTOS, A. F.; BECK, A. A.; WEIBLEN, A. M. Sarcocistose em coração de bovinos do território Federal de Roraima, Brasil. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, v. 16, n. 1, p. 79 – 83, 1986.

SAVINI, G.; ROBERTSON, I. D.; DUNSMORE, J. D. Risk factors associated with the occurrence of sarcocystosis in Western Australia: results of a postal survey. **Preventive Veterinary Medicine**, n. 19, p. 137 – 144, 1994.

SHEKARFOROUSH, S. S.; RAZAVI, S. M.; AHMADI, H.; SARIHI, K. Study on prevalence of *Sarcocystis* in slaughtered cattle in Shiraz. **Journal of Faculty of Veterinary Medicine**, University of Tehran, n. 59: p. 33 – 37, 2004.

VANGEEL, L.; HOUF, K.; GELDHOF, P.; DE PRETER, K.; VERCRUYSSSE, J.; DUCATELLE, R.; CHIERS, K. Different *Sarcocystis* spp. are present in bovine eosinophilic myositis. **Veterinary Parasitology**, v. 197, p. 543–548, 2013.

## **CAPÍTULO 2 - Eficiência das técnicas de digestão peptídica e escarificação para a pesquisa de *Sarcocystis* spp. em bovinos de corte.**

### **RESUMO**

Com o objetivo de comparar duas técnicas utilizadas na pesquisa de *Sarcocystis* spp. em bovinos, foram coletadas 200 amostras de coração e de língua de bovinos abatidos em Belém – Pará, totalizando 400 amostras, que foram analisadas pelas técnicas de digestão peptídica e escarificação. Os resultados demonstraram que a digestão peptídica foi superior a escarificação no exame da língua, com índices de infecção de 83% e 59,5%, respectivamente (Odd=3,32;  $p < 0,0001$ ). No entanto, não houve diferença estatística entre as técnicas no exame do coração, com 92% de positividade à digestão e 90% à escarificação (Odd=1,28;  $p=0,6$ ). Através da escarificação, os valores dos indicadores parasitários mostraram que o índice médio parasitário, a abundância média parasitária e a amplitude parasitária nas amostras de coração foram superiores ao da língua, sendo que o exame da primeira lâmina detectou 82% e 60% das amostras positivas no coração e língua, respectivamente. Os resultados sugerem que a escarificação do coração pode ser utilizado como técnica alternativa à digestão na pesquisa do *Sarcocystis* spp. em bovinos, além de ser de fácil execução e baixo custo.

**Palavras-chave:** sarcocistos, técnicas, avaliação, Pará, gado.

### **ABSTRACT**

With the objective to compare two techniques used in the research of *Sarcocystis* spp. in cattle, were collected 200 samples of heart and tongue of cattle slaughtered in Belém – Pará, totaling 400 samples, which were analyzed by the peptide digestion and scarification. The results demonstrated that the peptide digestion was greater than scarification in the examination of the tongue, with infection rates of 83% and 59.5%, respectively (Odd = 3.32,  $p < 0.0001$ ). However, there was no statistical difference between the techniques in the examination of the heart, with 92% positivity under digestion and 90% under scarification (Odd = 1.28,  $p = 0.6$ ). By scarification, the values of the parasitic indices showed that the average parasitic index, parasite mean abundance and parasite amplitude in heart samples were superior to the tongue, and the examination of the first blade detected 82% and 60% of positive samples in heart and tongue, respectively. The results suggest that the scarification of the heart can be used as an alternative technique to study the digestion of *Sarcocystis* spp. in cattle, it is easy to perform and low cost.

**Key-words:** sarcocysts, techniques, Pará, evaluation, cattle.

## 1. INTRODUÇÃO

Os protozoários do gênero *Sarcocystis* (Filo Apicomplexa) são alguns dos parasitos mais comuns que afetam animais, com mais de 100 espécies reconhecidas (DUBEY; LINDSAY, 2006). É um parasito intracelular heteroxeno obrigatório envolvendo uma relação presa-predador (CDC, 2012; ESPOSITO et al., 2012).

Existem três espécies do gênero que infectam bovinos: *Sarcocystis cruzi*, *Sarcocystis hirsuta* e *Sarcocystis hominis*, sendo seus hospedeiros definitivos os canídeos, os felídeos e os primatas, respectivamente (DUBEY; LINDSAY, 2006).

Diversos trabalhos têm demonstrado a importância da infecção por *S. cruzi* na produção animal, por ser capaz de provocar consideráveis perdas econômicas devido a abortos, redução da produção de leite, perda de peso, retardo no crescimento e morte de bezerras (FAYER, JOHNSON, LUNDE, 1976; FAYER et al., 1983; BOTELHO, 1985; HETTIARACHCHI; RAJAPAKSE, 2008). Na saúde pública o *S. hominis* é o mais importante, já que os primatas, incluindo o homem, são os seus hospedeiros definitivos (FAYER, 2004).

Sua importância na segurança alimentar foi destacada pela Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) em função da ausência de métodos confiáveis para estudos epidemiológicos sobre a infecção em animais e produtos derivados (TAYLOR et al., 2010). Assim, o objetivo deste trabalho foi comparar a eficiência de duas técnicas utilizadas na pesquisa da *Sarcocystis* spp. em bovinos de corte, visando a viabilidade da sua aplicação em estudos epidemiológicos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Coleta das amostras

As amostras foram coletadas no período de junho a agosto de 2013, durante o abate dos animais no Matadouro Frigorífico do Tapanã, distrito de Icoaraci, Belém – Pará. Cerca de 50 gramas de coração e língua de duzentos bovinos foram obtidas para análise, totalizando 400 amostras (57 machos e 143 fêmeas). Foram obtidas amostras de cinco das seis mesorregiões paraenses, sendo 11 da Região Metropolitana de Belém, 17 do Nordeste Paraense, 50 do arquipélago do Marajó, 59 do Sudoeste Paraense e 63 do Sudeste Paraense. A idade foi estimada pela observação da dentição.

As amostras foram acondicionadas individualmente em sacos plásticos e conduzidas em caixa de polímero expandido contendo gelo, para o Laboratório de Parasitologia Animal da Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, campus Belém.

## **2.2. Análise e Processamento das amostras**

### **2.2.1. Escarificação**

Em laboratório, as amostras foram escarificadas com auxílio de lâmina de bisturi, sendo o conteúdo pressionado entre duas lamínas e examinadas ao aumento de 100X e 200X, para a visualização de sarcocistos. As amostras somente eram consideradas negativas após o exame de quatro lâminas sem a detecção de cistos ou de bradizoítos.

Para o cálculo dos indicadores parasitários preconizou-se o peso médio do material escarificado por lâmina (0,01g), sendo registrado o número de cistos na primeira lâmina positiva.

### **2.2.2. Digestão Peptídica**

De cada amostra foi retirada uma alíquota de 10 gramas, que então era cortada em pequenos pedaços e transferida para becker de 80 mL, contendo 50 mL da seguinte solução: 1,3 g de Pepsina 1:10.000; 2,5 g de NaCl; 3,5 mL de HCl; e 500 mL de água destilada. O material era mantido em estufa a uma temperatura de 40 °C, durante 20 minutos, para que ocorresse a digestão das fibras musculares. Findo este período, a alíquota era submetida à filtração e posteriormente centrifugada a 2000 RPM. Desprezado o sobrenadante, o sedimento era examinado entre lâmina e lamínula ao microscópio óptico com aumento de 400X. As amostras só eram consideradas negativas após o exame de quatro lâminas sem a detecção de bradizoítos ou cistos.

## **2.3. Análise Estatística**

As frequências obtidas foram analisadas pelo teste de Odds Ratio para duas amostras independentes e os cálculos dos índices parasitários foram realizados de acordo com Serra-Freire (2002).

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados obtidos na digestão peptídica e na escarificação das amostras estão apresentados na tab. 1. Na escarificação detectou-se cistos íntegros e bradizoítos enquanto que na digestão apenas os bradizoítos.

Tabela 1: Frequência de *Sarcocystis* spp. em amostras de língua e coração de bovinos abatidos no período de junho a agosto de 2013 em Belém – PA.

Órgão \ Técnica	Digestão + Escarificação (%)	Digestão (%)	Escarificação (%)	Total (%)
<b>Coração</b>	164 (82%)	20 (10%)	16 (8%)	200 (100%)
<b>Língua</b>	102 (51%)	64 (32%)	16 (8%)	182 (91%)

A maior quantidade de amostras positivas foi diagnosticada pela técnica de digestão peptídica, sendo 92% (n=184) para o coração e 83% (n=166) para a língua. A técnica de escarificação mostrou maior eficiência no exame do coração (90%; n=180) do que no exame da língua (59%; n=118). Estes resultados, quando analisados pelo teste de Odds Ratio (tab. 2), demonstram que a digestão peptídica e a escarificação do coração possuem maior eficiência na detecção da infecção por *Sarcocystis* (respectivamente,  $Odd=2,35 / p = 0,01$ ;  $Odd = 6,25 / p = 0,001$ ).

Analisando os resultados para os dois órgãos, o teste de Odds Ratio (tab. 2) revelou que a probabilidade de um achado positivo na língua é cerca de três vezes maior à digestão peptídica do que à escarificação ( $Odd=3,39$ ;  $p<0,0001$ ). No entanto, considerando o coração, não houve diferença estatística significativa entre as técnicas ( $Odd=1,28$ ;  $p=0,6$ ).

**Tabela 2:** Resultado da análise de amostras de língua e coração de bovinos abatidos no estado do Pará pelas técnicas de digestão peptídica e escarificação para a pesquisa de *Sarcocystis* spp. no período de junho a agosto de 2013.

Órgão e Técnica parasitológica	Nº e percentual de amostras infectadas	Odd	p	IC 95%
<b>Órgão</b>				
<b>LÍNGUA</b>				
Digestão peptídica	166 (83%)	3,39	<0,0001	2,13 – 5,39
Escarificação	118 (59%)			
<b>CORAÇÃO</b>				
Digestão peptídica	184 (92%)	1,28	0,6	0,64 – 2,54
Escarificação	180 (90%)			
<b>Técnica parasitológica</b>				
<b>DIGESTÃO</b>				
Coração	184 (92%)	2,35	0,01	1,25 – 4,42
Língua	166 (83%)			
<b>ESCARIFICAÇÃO</b>				
Coração	180 (90%)	6,25	<0,0001	3,64 – 10,74
Língua	118 (59%)			

Os elevados índices de infecção detectados pela digestão peptídica nos dois órgãos apontam para um alta eficiência da técnica corroborando com os relatos de índice máximo de infecção de Pereira e Carvalho (1989), Hamidinejat et al. (2010), Fard et al. (2009) e Shekarforoush et al. (2004). Quando comparada com outras técnicas também demonstrou maior eficiência na detecção de *Sarcocystis* (HAMIDINEJAT et al., 2010; FARD et al., 2009).

No entanto, a digestão peptídica não é considerada a mais adequada para programas de monitoramento em larga escala, devido ao seu alto custo e tempo necessário para a execução das análises (SAVINE; DUNSMORE; ROBERTSON, 1994). Além disso, os trabalhos com *Sarcocystis* devem permitir a diferenciação entre as espécies de importância econômica e/ou na saúde pública (TAYLOR et al., 2010), o que não é possível quando o sedimento não apresentar cistos íntegros (MOREÉ et al., 2011), fato este ocorrido no presente trabalho.

A visualização apenas de bradizoítos no método de digestão também foi relatada por Pereira e Carvalho (1989), Shekarforoush et al. (2004), Hamidinejat et al. (2010) e Obijiaku et al. (2013). Por outro lado, nos trabalhos de Latif et al. (1999) e Fard et al. (2009) foi relatada a presença de cistos.

Os resultados da escarificação do coração foram muito superiores quando comparados com os da língua (Odd=6,25;  $p < 0,0001$ ). Este comportamento parasitário, de acordo com Dubey et al. (1984) possivelmente esteja relacionado com a via digestiva da infecção, já que durante o trajeto pela via venosa o primeiro sítio de infecção é o coração (PEZZAT, 1971). Outro fator que pode estar relacionado é tipo de musculatura conforme afirma Puebla et al. (2013), justificando que as musculaturas que apresentam uma grande quantidade de hemoglobina, como é o caso do músculo cardíaco, possuem características especiais para captar, armazenar e ceder oxigênio, que é aproveitado pelo parasita no hospedeiro.

Além de possibilitar a identificação de *S. cruzi* pela visualização das características de parede, a escarificação demonstrou ser de fácil execução, rápida e econômica quando comparado com a digestão peptídica, podendo ser aplicado em grande escala para a detecção de *Sarcocystis*, inclusive em estudos epidemiológicos da sarcocistose utilizando como o referencial o coração. Apesar disto, a impossibilidade de diferenciação entre *S. hominis* e *S. hirsuta* é um fator limitante da técnica.

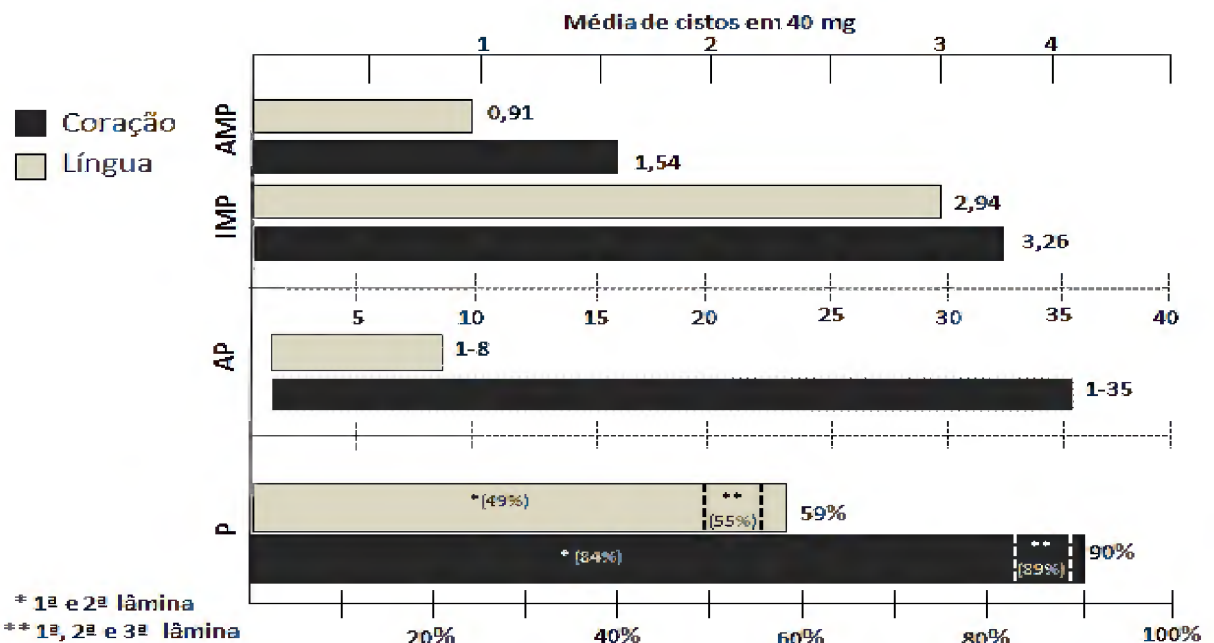
Os valores dos indicadores parasitários (tab. 3 e gráfico 1) mostram que o índice médio parasitário (IMP), a abundância média parasitária (AMP) e a amplitude parasitária (AP) nas amostras de coração foram superiores aos da língua. Estes dados podem explicar os maiores índices de infecção obtidos em ambas as técnicas nas amostras do coração, pois

foram encontrados maiores valores destes indicadores no miocárdio bem como maior probabilidade de detectar amostras positivas na primeira lâmina, corroborado pelo índice de prevalência muito próximo de zero na última lâmina examinada.

**Tabela 3:** Indicadores parasitários do *Sarcocystis* spp. no coração e língua de bovinos abatidos no estado do Pará, no período de junho a agosto de 2013.

ÓRGÃOS E INDICADORES PARASITÁRIOS	INDICADORES PARASITÁRIOS/LÂMINA EXAMINADA				
	GERAL	1ª Lâmina	2ª Lâmina	3ª Lâmina	4ª Lâmina
<b>CORAÇÃO</b>					
N	200	200	53	32	22
P (%)	90	73,5	39,62	31,25	9,09
IMP	3,26	3,65	1,62	1,3	2,0
AMP	2,94	2,68	0,64	0,41	0,23
AP	1-35	1-35	1-5	1-3	2
P (1ª + 2ª lâmina) (%)	-	84	-	-	-
P (1ª + 2ª + 3ª lâmina) (%)	-	-	89	-	-
<b>LÍNGUA</b>					
N	200	200	129	103	91
P (%)	59	36	20,16	11,65	7,69
IMP	1,54	1,64	1,23	1,58	1,86
AMP	0,91	0,59	0,25	0,18	0,14
AP	1-8	1-8	1-3	1-5	1-3
P (1ª + 2ª lâmina) (%)	-	49	-	-	-
P (1ª + 2ª + 3ª lâmina) (%)	-	-	55	-	-

P: prevalência; IMP: Índice Médio Parasitário; AMP: Abundância Média Parasitária; AP: Amplitude Parasitária.



**Gráfico 1:** Índices parasitários do *Sarcocystis* spp. no coração e língua de bovinos abatidos no estado do Pará, no período de junho a agosto de 2013. **P:** prevalência; **IMP:** Índice Médio Parasitário; **AMP:** Abundância Média Parasitária; **AP:** Amplitude Parasitária.

Considerando os valores dos IMP's, pode-se supor que em uma alíquota de 100g de coração e língua, apresentaria 32.600 e 15.400 cistos, respectivamente, conferindo um elevado grau de infectividade a estes órgãos para os hospedeiros definitivos, já que Xiang et al. (2011) conseguiram reproduzir o ciclo de *S. cruzi* em cães alimentados com cerca de 600 cistos oriundos de tecido cardíaco e Chen, Zuo e Hu (2003) conseguiram a reprodução do ciclo de *S. hominis* ao oferecer para dois voluntários humanos cerca de 5.000 cistos do parasito.

#### 4. CONCLUSÃO

A técnica de escarificação somente foi estatisticamente equivalente à digestão peptídica no exame do coração uma vez que os indicadores parasitários foram mais expressivos neste órgão. Logo, podemos considerar a escarificação como técnica eficiente para estudos epidemiológicos de *Sarcocystis*, utilizando como indicador biológico amostras de coração.

#### 5. BIBLIOGRAFIA

BOTELHO, G. G. Doença de Dalmeny: aspectos parasitológicos, epidemiológicos e patológicos. 1985, 182p. Tese (Doutorado em Ciências) – Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, 1985.

CARVALHO, S. P. 1993. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Notes from the Field: acute muscular sarcocystosis among returning travelers – Tioman Island, Malaysia, 2011. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*, v. 61, n. 2, p. 37-38, 2012.

CHEN X. W.; ZUO Y. X.; HU J. J. Experimental *Sarcocystis hominis* infection in a water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Journal of Parasitology*, v.89, n.2, p. 393 – 94, 2003.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Neosporosis, Toxoplasmosis, and Sarcocystosis in Ruminants. *Veterinary Clinics Food Animal Practice*, v. 22, p. 645–671, 2006.

ESPOSITO, D. H.; FREEDMAN, D. O.; NEUMAYR, A.; PAROLA, P. Ongoing outbreak of an acute muscular *Sarcocystis*-like illness among travellers returning from Tioman Island, Malaysia, 2011-2012. *Euro Surveillance*, v. 17, n. 45, 2012.

FAYER, R.; JOHNSON, A. J.; LUNDE, M. Abortion and other signs of disease in cows experimentally infected with *Sarcocystis fusiformis* from dogs. *Journal of Infectious Disease*, v. 134, n. 6, p. 624-628, 1976.



- FAYER, R.; LYNCH, G. P.; LEEK, R. G.; GASBARRE, L. C. Effects of sarcocystosis on milk production of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 66, n. 4, p. 904-908, 1983.
- FAYER, R. Sarcocystis spp. in human infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 17, n. 4, p. 894-902, 2004.
- FARD, S. R. N.; ASGHARI, M.; NOURI, F. Survey of Sarcocystis infection in slaughtered cattle in Kerman, Iran. **Tropical Animal Health Production**, v. 41, p. 1633-1636, 2009.
- HAMIDINEJAT, H.; JALALI, M. H. R.; NABAVI, L. Survey on Sarcocystis infection on slaughtered cattle in south-west of Iran, emphasized on evaluation of muscle squash in comparison with digestion method. **Journal of animal e Veterinary Advances**, v. 9, n. 12, p. 1724 – 1726, 2010.
- HETTIARACHCHI, D. C.; RAJAPAKSE, R. P. V. J. Antigenic analysis of bovine Sarcocystis spp. in Sri Lanka. **Jornal of National Science Foundation of Sri Lanka**, v. 36, n. 3, p. 239-244, 2008.
- 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. **Veterinary Parasitology**, v. 84, p. 85–90, 1999.
- MORÉ, G.; ABRAHAMOVICH, P.; JURADO, S.; BACIGALUPE, D.; MARIN, J. C.; RAMBEAUD, M.; VENTURINI, L.; VENTURINI, M. C. Prevalence of Sarcocystis spp. in Argentinean cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 177, p. 162–165, 2011.
- OBIJAKU, I. N.; AJOGI, I. UMOH, J. U.; LAWAL, I. A.; ATU, B. O. Sarcocystis infection in slaughtered cattle in Zango abattoir, Zaria, Nigeria. **Veterinary World**, v. 6, n. 6, p. 346-349, 2013.
- PEREIRA, A. B. L.; CARVALHO, E. C. Q. Sarcocistose em bovinos abatidos em Londrina – Paraná. **Semina**, v. 10, n. 1, p. 27-33, 1989.
- PEZZAT, M. M. Frecuencia de Sarcocystis spp. em corazones de bovinos. **Veterinária Mexico**, v. 2, n. 2, p. 6-11. 1971.
- PUEBLA, D. H.; ZALDIVAR, Q. N.; FONT, P. H.; RODRÍGUEZ, V. Y.; MENDOZA, T. N. Variabilidad invasiva del Sarcocystis en bovino, según la pigmentación de la fibra muscular parasitada. *Revista Veterinaria Argentina*, v. 30, n. 300, p. 1 – 5, 2013.
- SAVINI, G.; ROBERTSON, I. D.; DUNSMORE, J. D. Risk factors associated with the occurrence of sarcocystosis in Western Australia: results of a postal survey. **Preventive Veterinary Medicine**, n. 19, p. 137 – 144, 1994.
- SERRA-FREIRE, N. M. Planejamento e análise de pesquisas parasitológicas. Editora da Universidade Federal Fluminense, Niterói, 199 p. 2002.
- SHEKARFOROUSH, S. S.; RAZAVI, S. M.; AHMADI, H.; SARIHI, K. Study on prevalence of Sarcocystis in slaughtered cattle in Shiraz. **Journal of Faculty of Veterinary Medicine**, University of Tehran, n. 59: p. 33 – 37, 2004.

TAYLOR, M. A.; BOES, J.; BOIREAU, P.; BOUE, F.; CLAES, M.; COOK, A. J. C.; DORNY, PIERRE; ENEMARK, H. L.; VAN DER GIESSEN, J.; HUNT, K. R.; HOWELL, M.; KIRJUSINA, M.; NÖCKLER, K.; POZIO, E.; ROSSI, P.; SNOW, L.; THEODOROPOULOS, G.; VALLÉE, I.; VIEIRA-PINTO, M. M.; ZIMMER, I. A. **Development of harmonised schemes for the monitoring and reporting of Sarcocystis in animals and foodstuffs in the European Union : EFSA Scientific Report. EFSA, 2010. 28 p.**

XIANG, Z; YONGSHU, H.; HAO, H; ROSENTHAL B. M.; DUNAMS, D. B.; LI, X.; ZUO, Y.; FENG, G.; CUI, L.; YANG, Z. Sarcocystis cruzi: Comparative studies confirm natural infections of buffaloes. **Experimental Parasitology. v. 127, n. 2, p. 460 – 466, 2011.**