

PREVALÊNCIA DE *Sarcocystis* spp. (LANKESTER, 1882) EM BOVINOS CLINICAMENTE SADIOS, DA REGIÃO SUL DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

RUAS, Jerônimo L; CUNHA, Cristina W; SILVA, Sergio S.

Laboratório Regional de Diagnóstico da Faculdade de Veterinária da UFPel. Pelotas/RS, C.P.: 354. E-mail: ruas@ufpel.tche.br (Recebido para publicação em 28/11/2000)

RESUMO

Amostras de coração, esôfago, músculos intercostais, masseter e diafragma de 305 bovinos abatidos em frigoríficos, foram processadas por exame a fresco. Foram detectados cistos de *Sarcocystis* spp. em 100% dos corações, 62,0% dos esôfagos, 52,8% dos masséteres, 52,8% dos músculos intercostais e 47,5% dos diafragmas. Cinquenta e sete amostras, selecionadas ao acaso, dos mesmos órgãos, foram processadas por exame histológico. Na comparação entre as técnicas de exame a fresco e histológico, foram detectados *Sarcocystis* spp., respectivamente, em 100% e 73% dos corações, 79% e 51,4% dos esôfagos, 74,9% e 49,1% dos masséteres, 56,1% e 33,3% dos diafragmas e 50,1% e 31,5% dos músculos intercostais. Pelo exame histológico das amostras positivas no exame a fresco foram identificados *S. cruzi* em 100% e *S. hirsuta* em 1,4%.

Palavras-chave: *Sarcocystis* spp., *S. cruzi*, *S. hirsuta*, exame a fresco, exame histológico, bovinos.

ABSTRACT

PREVALENCE OF *Sarcocystis* spp. (LANKESTER, 1882) IN CLINICALLY HEALTHY CATTLE FROM THE SOUTHEASTERN REGION OF RIO GRANDE DO SUL. A trial was conducted to determine the frequency of *Sarcocystis* spp., by the technique of fresh examination, in different muscles of 305 cattle slaughtered for human consumption in the municipality of Pelotas, State of Rio Grande do Sul. *Sarcocystis* spp. was detected in 100% of samples from the cardiac muscle, 62% in the oesophagic muscle, 52,8% in the masseter, 52,8% in the intercostalis and 47,5% in the diaphragm. Fifty seven of those samples, selected at random, were studied histologically. The detection of *Sarcocystis* spp. by the technique of fresh examination and histologically were of 100% and 73% in the heart, 79% and 51,4% in the oesophagus, 74,9% and 49,1% in the masseter, 56,1% and 33,3% in the diaphragm and 50,1% and 31,5% in the intercostals, respectively. *Sarcocystis cruzi* was identified in all samples positive at the histologic examination, and *S. hirsuta* in 1,4% of the samples. It was concluded that bovine sarcocystosis is endemic in southern RS; the fresh examination was more sensible than histological analysis; *S. cruzi* was the more frequent species in bovine; the heart is the more frequently infected organ.

Key Words: *Sarcocystis* spp., *S. cruzi*, *S. hirsuta*, fresh examination, histological examination, cattle.

INTRODUÇÃO

A sarcocistose foi descrita pela primeira vez por MIESCHER (1843), quando foi denominada de Túbulos de Miescher, na musculatura esquelética de camundongos domésticos *Mus musculus*, e o gênero foi discutido pela primeira vez por LANKESTER (1882) em rã.

Os parasitas do gênero *Sarcocystis* possuem um ciclo de vida heteroxeno, com um estágio assexuado nos hospedeiros intermediários (presa) e um estágio sexuado nos hospedeiros definitivos (predador). Nos hospedeiros definitivos, carnívoros e homem, o parasito desenvolve uma fase intestinal que culmina com a produção de oocistos, contendo no seu interior dois esporocistos similares, com

quatro esporozoítos cada. Nos hospedeiros intermediários, a infecção por *Sarcocystis* spp. causa cistos nos tecidos, os quais são colônias de parasitos, que quando maduros apresentam grande número de merozoítos (DUBEY, 1989).

Os bovinos são hospedeiros intermediários para três espécies de sarcosporídeos, *S. cruzi*, *S. hirsuta* e *S. hominis*, cujos hospedeiros definitivos são, respectivamente, o cão, o gato e os primatas. As espécies de *Sarcocystis* do homem (*S. hominis*) e do gato (*S. hirsuta*) são pouco patogênicas para bovinos, praticamente não causando sinais clínicos. *S. cruzi*, cujo hospedeiro definitivo é o canino, provoca sinais clínicos e doença severa em bovinos, caracterizada por anemia, anorexia, caquexia, morte em terneiros e aborto em vacas prênes (LEVINE, 1986; DUBEY, 1993; SAITO et al. 1995; SAITO et al., 1999).

O diagnóstico de sarcocistose e o conhecimento dos aspectos epidemiológicos e clínicos nesta doença, tem demonstrado a sua importância, sendo responsável por consideráveis perdas econômicas devido a condenação de partes de carcaças em frigorífico (DUBEY et al., 1989; RADOSTISTIS et al., 1994).

No Rio Grande do Sul estudos preliminares de NISHIKAWA et al. (1983) indicam que dentre as doenças parasitárias, a sarcocistose pode ser responsável por baixos índices produtivos.

Os objetivos deste estudo foram de determinar a prevalência de *Sarcocystis* spp. em bovinos clinicamente sadios da Região Sul do Estado do Rio Grande do Sul, identificar as espécies mais frequentes e, ainda verificar a sensibilidade das técnicas de diagnóstico de *Sarcocystis* spp. no músculo de bovinos.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Amostras:

Foram coletadas amostras de músculos (cardíaco, masseter, diafragma, intercostais e esofágico) de 305 bovinos clinicamente sadios procedentes da Região Sul do Estado do Rio Grande do Sul, de ambos os sexos, com idade entre 3 e 6 anos, abatidos para consumo humano em um frigorífico na cidade de Pelotas.

As amostras coletadas consistiam de fragmentos de aproximadamente 20g de cada um dos músculos: cardíaco (ventrículo direito), esofágico (terço anterior), masseter (porção medial), diafragma (pilar), Intercostais, (espaço intercostal da 12ª e 13ª costelas).

2. Exame a fresco:

Para quantificação da presença de *Sarcocystis* spp., as 305 amostras de músculos coletadas foram processadas para observação a fresco. Cada amostra foi escarificada com bisturi e os fragmentos obtidos colocados sobre uma lâmina histológica, macerados, diluídos em solução salina fisiológica (0,85%) e prensados com lâmina (18x18mm). Após a montagem, cada preparado foi examinado em microscópio

ótico em aumento de 100X, 200X e 400X. O resultado do exame foi classificado como positivo ou negativo para a presença de merozoítos e/ou cistos de *Sarcocystis* spp. (SAITO, 1984).

3. Exame histológico:

Das 305 amostras coletadas de cada músculo, 57 foram selecionadas ao acaso, totalizando 285 cortes dos diferentes músculos que foram processadas para exame histológico, a fim de comparar a sensibilidade entre as técnicas. Fragmentos destas amostras foram fixadas em formol tamponado 10%, incluídos em parafina, cortados a 5µm de espessura e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE). Os cortes histológicos foram examinados em microscópio ótico com aumento de 100X, 200X 400X e 1000X (objetiva de imersão), para a pesquisa de cistos. Foram identificadas as espécies de *Sarcocystis* presentes nas amostras positivas no exame histológico, de acordo com critérios baseados na forma e espessura da parede dos cistos (MARKUS, 1978; SAITO et al. 1996).

4. Análise Estatística:

Para avaliar a presença de *Sarcocystis* spp. nos diferentes músculos e a sensibilidade entre as técnicas empregadas, foi utilizado o teste Z para proporções (KIRKWOOD, 1988)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do exame a fresco, realizado nas 305 amostras dos diferentes músculos são apresentados na Figura 1. O miocárdio foi o músculo mais freqüentemente infectado, apresentando-se positivo em 100% das amostras, seguido pelo músculo esofágico em 62,2%, masseter em 52,8%, intercostais em 52,8% e diafragma em 47,5% das amostras.

A Tabela 1 apresenta o resultado do teste estatístico realizado com as diferentes proporções de cistos presentes nos músculos estudados. O miocárdio, por ter apresentado a maior positividade pela técnica de exame a fresco (100%), foi escolhido como padrão **ouro** do teste estatístico

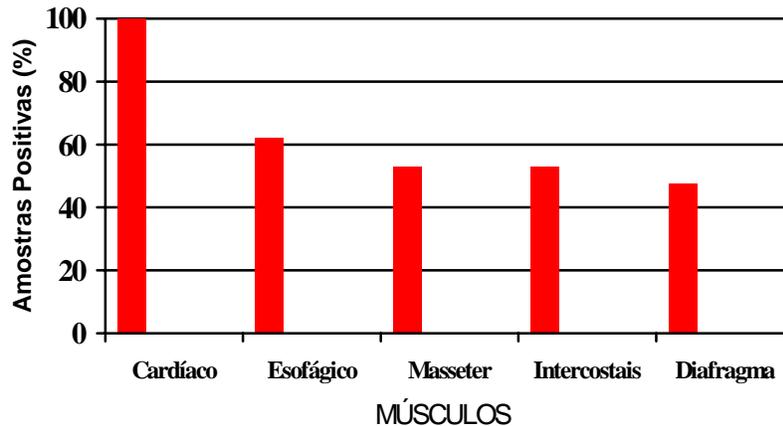


Figura 1 – Presença de *Sarcocystis* spp. em diferentes músculos de bovinos (nº 305), da região sul do Rio Grande do Sul; análises realizadas pela técnica de exame a fresco

TABELA 1 - Resultado da sensibilidade do exame a fresco em diferentes músculos de bovinos naturalmente infectados com *Sarcocystis* spp., comparados com o músculo cardíaco, que foi 100% positivo por esta técnica.

MÚSCULOS	%	Z	P
Cardíaco	100,0	-	-
Esofágico ¹	62,0	4,07	< 0,0001 ^{***}
Masseter ²	52,8	0,9	> 0,05 ^{ns}
Intercostais ²	52,8	0,9	> 0,05 ^{ns}
Diafragma ²	47,5	2,65	< 0,01 [*]

¹ teste Z para uma proporção.

² teste Z para duas proporções, com exceção do miocárdio.

Pela análise da Tabela 1 verifica-se que a taxa de detecção de *Sarcocystis* spp. no músculo esofágico diferiu estatisticamente daquela observada para o músculo cardíaco (Z=4,07 e P<0,0001). Nos músculos masseter e intercostais não foi encontrada diferença significativa quando comparados com o esofágico (Z=0,9 e P>0,05). Contudo no diafragma houve diferença significativa, quando comparado com o masseter e intercostais (Z=2,65 e P<0,01).

A presença de *Sarcocystis* spp. em 57 amostras analisadas pelos exame a fresco e histológico está apresentado na Figura 2.

Os resultados da análise estatística pelo Teste "Z" para uma proporção, comparando a eficácia das técnicas de exame a fresco e exame histológico são apresentados na Tabela 2.

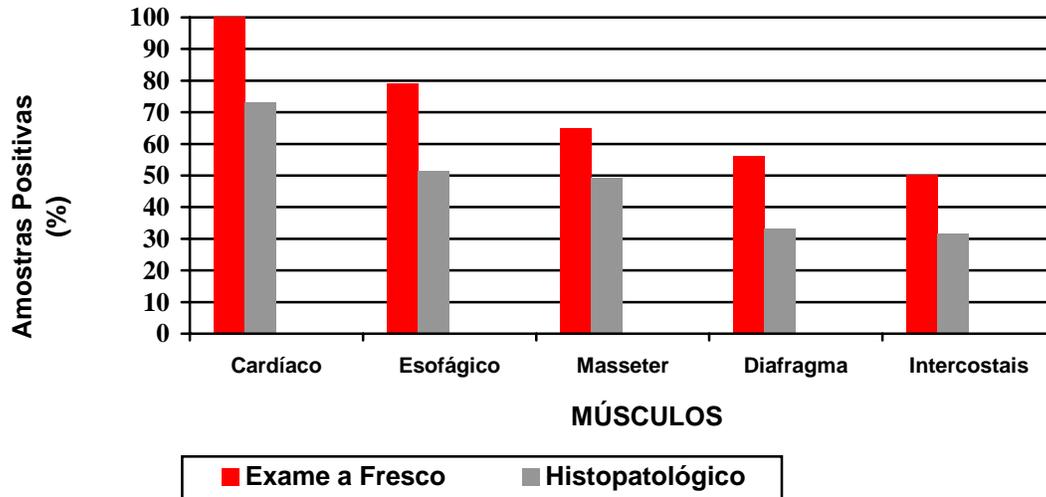


Figura 2 - Presença de *Sarcocystis* spp. em diferentes músculos de bovinos (N = 57), clinicamente sadios, abatidos na região sul do Rio grande do Sul; análises realizadas pelas técnicas de exame a fresco e histopatológico.

TABELA 2 - Análise comparativa da frequência de *Sarcocystis* spp. pelas técnicas de exame a fresco e histológico nos diferentes músculos (Teste Z para uma proporção).

MÚSCULO	T.E.F. ¹ (%)	T.E.H. ² (%)	Z	p
Cardíaco	100,0	73,0	3,33	<0,0001***
Esofágico	79,0	51,4	5,00	<0,0001***
Masseter	64,9	49,1	2,38	<0,05*
Diafragma	56,1	33,3	3,38	<0,001**
Intercostal	50,1	31,5	2,74	<0,001**

1 - Técnica de exame a fresco.

2 - Técnica de exame histopatológico

A análise estatística entre as técnicas de exame a fresco e histológico demonstrou, pelos resultados obtidos, a maior sensibilidade do exame a fresco.

Do total de 285 amostras dos diferentes músculos estudados, pelo exame histológico, em 138 foram encontrados *S. cruzi* e *S. hirsuta*. A presença de *S. hominis* não foi detectada. Cistos de *S. cruzi* foram encontrados nas 138 (100%) amostras positivas e apresentaram parede fina (<1,0µm), lisa e uniforme. Cistos de *S. hirsuta* foram encontrados em duas (1,4%) amostras de diafragma. Estes apresentavam parede grossa (5,0-5,5µm) e estriada.

Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram alta prevalência de *Sarcocystis* spp. em bovinos em criação extensiva na região estudada. Prevalências de 100% no músculo cardíaco, pelo exame a fresco foram encontradas, também, por NISHIKAWA (1983), PIVATO (1986) e SILVA et al (1989) em trabalhos realizados na mesma região.

No Rio Grande do Sul acredita-se que a alta prevalência da doença esteja intimamente ligada com o carnivorismo praticado pelos cães, que são alimentados com vísceras e órgãos de bovinos abatidos nas propriedades rurais, ou pelo consumo de carcaças de bovinos mortos no campo por etiologias diversas. Além disso, o potencial de contaminação do meio através das fezes de cães infectados é extremamente alto (FORD, 1986).

Com relação a positividade de *Sarcocystis* spp. em miocárdio de bovino, quando utilizadas as técnicas de exame a fresco e exame histológico, foi demonstrada uma frequência de 100% e 73,6%, respectivamente. PIVATO, (1986) encontrou resultados semelhantes comparando as duas técnicas, 100% e 87,2%. SANTURIO et al. (1984), na região de Santa Maria/RS, usando a técnica de exame histológico em músculo cardíaco, observou resultados diferentes, com uma prevalência de 41% de bovinos positivos detectados por essa técnica. A técnica de exame a fresco mostrou-se mais sensível que o exame histológico na pesquisa de cistos e/ou merozoítos em todos os músculos estudados. A análise estatística, comprovou diferenças significativas a favor da técnica de exame a fresco, conforme Figura 2. Isto pode ser justificado pelo fato de que o volume amostrado por escarificação para exame a fresco foi maior que o volume amostrado para exame histológico, aumentando, assim, a probabilidade de detecção dos cistos e/ou merozoítos. Associado a isto, a técnica de exame a fresco permite a visualização de cistos intactos, cistos rompidos e merozoítos vivos e com movimento. Pela histologia, são visualizados somente cistos, uma vez que merozoítos livres raramente são detectados devido à dificuldade de identificá-los entre as células musculares. Além disso, a técnica de exame a fresco é de fácil execução, rápida e econômica, não necessitando de equipamentos ou materiais sofisticados, ao contrário da

técnica de exame histológico que, por ser mais complexa, exige maior tempo na execução, equipamentos e pessoal técnico especializado.

Com base no apresentado, aceita-se a técnica de exame a fresco, como sendo de maior eficácia quando comparada com a técnica de exame histológico na detecção de *Sarcocystis* spp. em músculos de bovinos.

Constatou-se que existem, no mínimo, duas espécies de *Sarcocystis* parasitando os diferentes músculos, *S. cruzi* e *S. hirsuta*. A maior frequência de *S. cruzi* na região em estudo, pode ser explicada pelo fato de que o ciclo canino-bovino, ocorre mais eficientemente do que o ciclo felino-bovino, já que em propriedades rurais de exploração pecuária, o cão é utilizado no manejo do gado. Este fato foi, também, relatado por SAVINE et al. (1992), que encontrou apenas 0,5% de outras espécies de *Sarcocystis* em estudo realizado na Austrália. Além disso, a alta ocorrência de *S. cruzi* é, também, favorecida pela capacidade e tempo de eliminação de esporocistos pelos cães.

No que se refere a localização do parasito, os resultados demonstraram a maior ocorrência no músculo cardíaco (Figura 1), o que foi confirmado na análise estatística pela comparação da positividade em diferentes músculos. Considerando a adaptação do parasito ao encistamento em tecido muscular do hospedeiro, possivelmente, a maior ocorrência no músculo cardíaco esteja relacionada com a infecção por via digestiva (DUBEY et al., 1989). O parasito ao atingir a circulação geral, alcança por via venosa, primeiro o coração, alojando-se no miocárdio (PEZZAT, 1971).

De acordo com os resultados expostos na Tabela 1, pode-se constatar que o músculo cardíaco é o mais indicado para detecção de formas de *Sarcocystis* spp. em bovinos, pela técnica de exame a fresco. Como segunda opção, estariam em patamar de igualdade os músculos esofágico, masseter e intercostais, que não diferiram estatisticamente entre si, sendo o diafragma o músculo menos indicado para esta finalidade.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que a sarcocistose bovina é endêmica na Região Sul do Rio Grande do Sul, com os animais apresentando 100% de positividade; a técnica de exame a fresco é mais sensível do que o exame histológico, além de ser mais fácil de executar e mais econômica; *S. cruzi* é a espécie mais frequente em bovinos, com uma baixa frequência de *S. hirsuta* e não sendo detectada a presença de *S. hominis*; o coração bovino é o órgão mais frequentemente parasitado sendo todas as amostras positivas pela técnica de exame a fresco e obtendo o maior índice de positividade na técnica de exame histológico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DUBEY, J.P.; SPEER, C.; FAYER, R. **Sarcocystosis of Animals and Man**. Florida, Boca Raton, 1989. 215p.
DUBEY, J.P. Recent advances in Neosporosis, Toxoplasmosis and Sarcocystosis with special reference to abortion in livestock. **Proceedings of the VI th. International Coccidiosis Conference**, p. 27. 1993.

FORD, E. G. Role of the dog, fox, cat and human as carnivore vectors in the transmission of the sarcosporidia that affect sheep and meat production. **Australian Journal Agricultural Research**, v. 37, p.79-88. 1986.
KIRKWOOD, B. R. Essentials of medical statistics. LONDON, Blackwell Scientific Publications, 1988. 234p.
LEVINE, N. D. The taxonomy of *Sarcocystis* (PROTOZOA, APICOMPLEXA) species. **Journal of Parasitology**, v. 72, n. 3, p. 372-378. 1986.
MIESCHER, E. Über eigenthümliche schläuche in den muskeln einer hausmaus. **Berl. Verh. Naturforsch. Ges. Basel., Augsburg**, 5: 198-202, 1843 apud LEVINE, N.D. Nomenclature and of *Sarcocystis* in the ox and sheep and of fecal coccidia of the dog and cat. **Journal of Parasitology**, v.63, n. 1, p. 38-51. 1977.
NISHIKAWA, H.; ARNONI, J. V.; SILVA, S. S.; PIVATO, I. Prevalência de *Sarcocystis* sp (LANKESTER, 1882) No Rio Grande do Sul. In: Resumos do Encontro de Pesquisa Veterinária da Faculdade de Veterinária da UFPel. Pelotas, 1983. P. 7.
PEZZAT, M. M. Frequencia de *Sarcocystis* spp. en corazones de bovinos. **Veterinária Mexico**, v.2, n.2, p. 6-11. 1971.
PIVATO, I. M. Ocorrência de *Sarcocystis* sp (LANKESTER, 1882) em bovinos clinicamente sadios abatidos em Pelotas, RS. 23 p., 1986.
RADOSTITIS, D. M.; BLOOD, D. C.; GAY, C. C. Veterinary Medicine, 8ed London, Baillière Tindall, 1994. 1763p.
SAITO, M. A new simple method for detection of bovine *Sarcocystis* cystis. **Veterinary Japan**, v.37, p.158-162. 1984.
SAITO, M.; SHIBATA, Y.; KOBAYASHI, T.; KOBAYASHI, M.; KUBO, M.; ITAGAKI, H. Ultrastructure of the of the cyst wall of *Sarcocystis* specis with canine final host in Japan. **Journal of Veterinary Medical Science** v. 58, n. 5, p. 861-867, 1996.
SAITO, M.; SHIBATA, KUBO, M.; SAKAKIBASHI, I.; YAMADA, A; ITAGAKI, H. First isolation of *Sarcocystis hominis* from cattle in Japan. **Journal of Veterinary Medical Science** v. 60, n. 3, p. 307-309, 1999.
SAITO, M.; TAGUSHI, K.; SHIBATA, Y.; KOBAYASHI, T.; SHIMURA, K.; ITAGAKI, H. Toxicity and properties of the extract from *Sarcocystis cruzi* cysts. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 57, n. 6, p. 1049-1051, 1995.
SANTURIO, J. M.; SANTOS, A. F. dos.; SILVEIRA, A. F. Ocorrência de sarcocistose em coração de bovinos do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, v.14, n. 1, p. 51-54. 1984.
SAVINE, G.; DUSMORE, J.D.; ROBERTSON, I.D. & SREVIRATINA, P. *Sarcocystis* spp. in Western Australian cattle. **Australian Veterinary Journal**, v. 69, p. 201-202. 1992.
SILVA. S.S.; ANSELMINI, F.B.; AMARAL, C.W.C.; PEREIRA, S.L.S.; MATUTE, E.J.R. *Sarcocystis cruzi*: Ocorrência em bovinos adultos e fetos clinicamente sadios abatidos em frigoríficos de Pelotas, RS. In: Resumos do Encontro de Pesquisa Veterinária da Faculdade de Veterinária da UFPel. Pelotas, 1989. P. 10.