

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
PARASITOLOGIA VETERINÁRIA

DOENÇA DE DALMENY:  
ASPECTOS PARASITOLÓGICOS, EPIDEMIOLÓGICOS E PATOLÓGICOS  
NA INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *SARCOCYSTIS CRUZI* (HASSELMANN,  
1926) EM BEZERROS

GILBERTO GARCIA BOTELHO

1985

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
PARASITOLOGIA VETERINÁRIA

DOENÇA DE DALMENY:

ASPECTOS PARASITOLÓGICOS, EPIDEMIOLÓGICOS E PATOLÓGICOS  
NA INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *SARCOCYSTIS CRUZI* (HASSELMANN,  
1926) EM BEZERROS

SOB A ORIENTAÇÃO DO PROFESSOR: CARLOS WILSON GOMES LOPES

Tese submetida como requisito  
parcial para obtenção do grau  
de Doutor em Ciências em Medicina  
Veterinária - Parasitologia Veterinária.

Itaguaí, Rio de Janeiro  
setembro, 1985

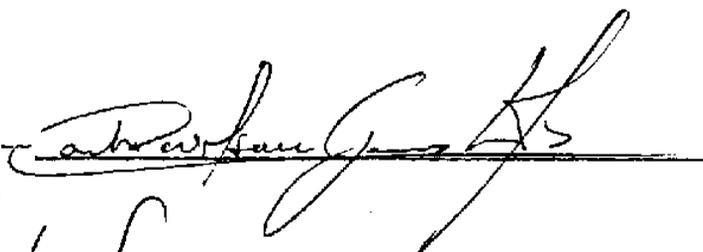
DOENÇA DE DALMENY:  
ASPECTOS PARASITOLÓGICOS, EPIDEMIOLÓGICOS E PATOLÓGICOS  
NA INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *SARCOCYSTIS CRUZI* (HASSELMANN,  
1926) EM BEZERROS

AUTOR

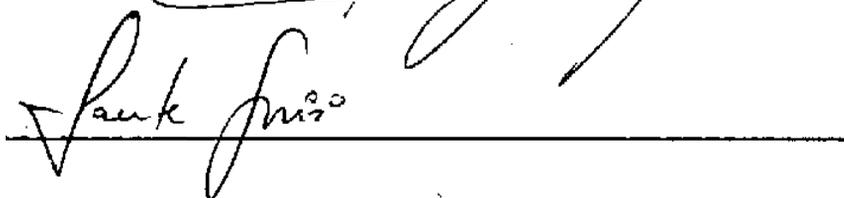
GILBERTO GARCIA BOTELHO

APROVADA EM: 30/09/1985

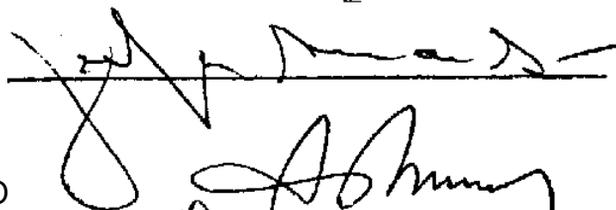
Dr. CARLOS WILSON GOMES LOPES



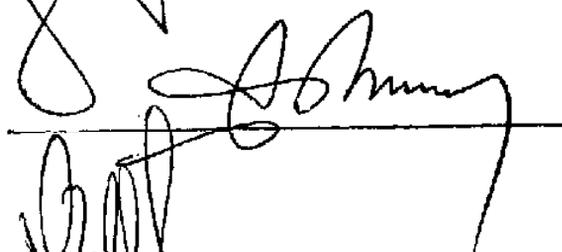
Dr. LAERTE GRISI



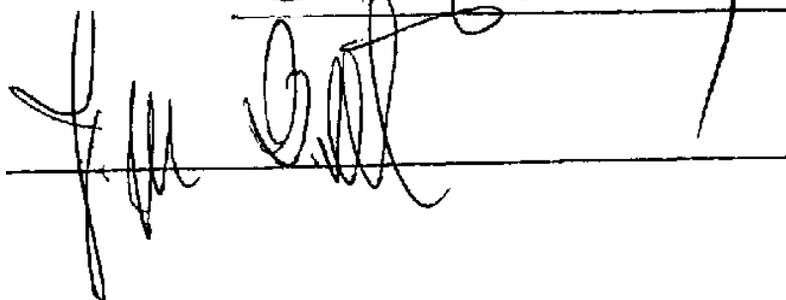
Dr. JEFFERSON ANDRADE DOS SANTOS



Dr. FRANCISCO BENEDITO RANGEL FILHO



Dr. JADYR VOGEL



Aqueles que com seu amor, carinho, compreensão e sacrifício, tudo fizeram para possibilitar a realização de mais esta etapa:

-minha esposa Marilena

-minhas filhas Cristiane e Flávia, e

-meus pais Gilberto e Maria José

## **BIOGRAFIA**

GILBERTO GARCIA BOTELHO, filho de Gilberto de Campos Botelho e Maria José Garcia Botelho, nasceu a 08 de agosto de 1946 no Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro.

Ingressou na UFRRJ em 1968, graduando-se em Medicina Veterinária em dezembro de 1971. Durante aquêle período realizou vários Cursos de Extensão Universitária, destacando-se: Atualização em Ornitopatologia; Atualização em Medicina Preventiva e Saúde Pública; Radioisótopos em Patologia Animal; Primeiro Curso Intensivo de Estudo Clínico, Laboratorial e Diagnóstico da Raiva; Imunologia Geral e das Alergias.

Estagiou nos laboratórios da Disciplina de Patologia Clínica e Semiologia do IV da UFRRJ no período de 1971 a 1972, quando foi contratado como Auxiliar de Ensino.

Foi Bolsista do CNPq nas categorias de Iniciação Científica, Aperfeiçoamento e Mestrado, este último realizado na UFMG em 1975/1976.

Passou a Professor Assistente de Patologia Clínica

do DMC/IV/UFRRJ em 1977, através de Concurso Público de Provas e Títulos.

Professor das Disciplinas de Bioquímica Clínica e Problemas de Patologia Clínica dos Cursos de Pós-Graduação em Patologia Clínica e Patologia Animal do IV/UFRRJ, desde 1977.

É membro do Conselho Editorial e Consultor Científico da Revista "Arquivos da UFRRJ".

Em várias ocasiões participou como Membro de Comissões Científicas para julgamento de Trabalhos apresentados em Congressos, bem como em Bancas de Defesa de Tese de Mestrado em Medicina Veterinária.

Participou de todos os Congressos de Medicina Veterinária realizados desde 1976, no Brasil.

Professor Orientador dos Cursos de Mestrado em Patologia Clínica e Patologia Animal do IV/UFRRJ.

Passou a Professor Adjunto do DMC/IV/UFRRJ em janeiro de 1985.

Realiza Curso de Pós-Graduação - Doutorado em Parasitologia, no IB/UFRRJ, cumprindo os créditos exigidos.

Dentre as publicações científicas destaca-se a primeira descrição, no Brasil, do encontro de esporocistos de *S. cruzi* nos linfonodos mesentéricos de cães infectados experimentalmente.

## ÍNDICE

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1. ASPECTOS GERAIS	3
2.2. SARCOCISTOSE BOVINA	4
2.3. ASPECTOS SISTEMÁTICOS	4
2.4. ASPECTOS BIOMORFOLÓGICOS	7
2.4.1. CICLO VITAL	7
2.4.2. FORMAS EXÓGENAS	10
2.4.3. FORMAS ENDÓGENAS	10
a) Hospedeiro Intermediário	10
b) Hospedeiro Definitivo	15
2.5. ASPECTOS CLÍNICOS	16
2.5.1. HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO	16
a) Sinais Clínicos	16
b) Desenvolvimento Ponderal	18
c) Temperatura, Pulso e Movimentos Respiratórios	19

2.5.2.	HOSPEDEIRO DEFINITIVO	20
2.6.	ASPECTOS PATOLÓGICOS	20
2.6.1.	HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO	20
	a) Patogenia	20
	b) Anatomia Patológica	22
	c) Histopatologia	25
2.6.2.	HOSPEDEIRO DEFINITIVO	30
	a) Patogenia	30
	b) Anatomia Patológica	31
	c) Histopatologia	32
2.7.	ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS	32
2.7.1.	ASPECTOS GERAIS	32
2.7.2.	HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO	34
	a) Sarcocistose Aguda	34
	b) Sarcocistose Crônica	35
	(1) NOS ANIMAIS	35
	(2) NO HOMEM	36
2.7.3.	HOSPEDEIROS DEFINITIVOS	36
2.7.4.	HOSPEDEIROS TRANSPORTE	38
2.7.5.	POTENCIAL COMO ZOONOSE	40
2.7.6.	PREVALÊNCIA	41
	a) Hospedeiro Intermediário	41
	b) Hospedeiro Definitivo	42
2.7.7.	IMUNOLOGIA E SOROLOGIA	42

a) Relações Imunológicas do <i>Sarcocystis</i>	42
b) Imunidade a Reinfecções	44
c) Sorologia da Sarcocistose	46
I. INFECÇÃO INTESTINAL	46
II. INFECÇÃO EXTRA-INTESTINAL	47
d) Sorologia da Sarcocistose Humana	48
2.8. DIAGNÓSTICO	50
3.8.1. HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO	50
a) Clínico	50
b) Laboratorial	51
bi. HEMATOLOGIA CLÍNICA	51
bii. BIOQUÍMICA CLÍNICA	55
biii. SOROLOGIA	59
c) Anátomo-Histopatológico	62
2.8.2. HOSPEDEIRO DEFINITIVO	63
2.9. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	67
2.10. TRATAMENTO	76
2.11. CONTROLE	76
3. MATERIAL E MÉTODOS	79
3.1. LOCAL DE TRABALHO	79
3.2. ORIGEM DOS ANIMAIS	79
3.2.1. BOVINOS	79
3.2.1. CÃES	80
3.3. MANEJO DOS ANIMAIS	80
3.3.1. BOVINOS	80

3.3.1.	CÃES	80
3.4.	OBTENÇÃO DO MATERIAL INFECTANTE	81
3.4.1.	MÚSCULO ESTRIADO CARDÍACO BOVINO	81
3.4.2.	ESPOROCISTOS	81
3.5	INFECÇÃO EXPERIMENTAL	81
3.5.1.	CÃES	81
3.5.2.	BOVINOS	82
3.6.	ACOMPANHAMENTO CLÍNICO E COLHEITA DE AMOSTRAS PARA ANÁLISES	83
3.6.1.	EXAME CLÍNICO	83
3.6.2.	AMOSTRAS DE SANGUE E SORO PARA ANALI- SES	83
3.6.3.	NECRÓPSIAS	83
	a) Cães	84
	b) Bovinos	84
3.7.	EXAMES LABORATORIAIS	85
3.7.1.	MENSURAÇÕES DO PARASITO	85
	a) Esporocistos	85
	b) Merozoítas	85
	c) Sarcocistos	85
3.7.2.	EXAMES HEMATOLÓGICOS	86
3.7.3.	EXAMES BIOQUÍMICO-SÉRICOS	86
3.7.4.	EXAMES HISTOPATOLÓGICOS	87
4.	RESULTADOS	88

4.1.	ASPECTOS PARASITOLÓGICOS	88
4.1.1.	HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO	88
4.1.2.	HOSPEDEIRO DEFINITIVO	91
4.2.	ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS	94
4.2.1.	HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO	94
4.2.2.	HOSPEDEIRO DEFINITIVO	97
4.3.	ASPECTOS CLÍNICO-LABORATORIAIS	97
4.3.1.	HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO	97
	a) Acompanhamento Clínico	98
	b) Laboratório Clínico	102
	bi. HEMATOLOGIA CLÍNICA	102
	I. SÉRIE VERMELHA	102
	II. SÉRIE BRANCA	107
	bii. BIOQUÍMICA CLÍNICA	110
4.3.2.	HOSPEDEIRO DEFINITIVO	118
4.4.	ASPECTOS PATOLÓGICOS	118
4.4.1.	HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO	118
	a) Patogenia	118
	b) Anatomia Patológica	118
	c) Histopatologia	123
4.4.2.	HOSPEDEIRO DEFINITIVO	124
5.	DISCUSSÃO	130
5.1.	ASPECTOS PARASITOLÓGICOS	130

5.1.1.	HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO	130
5.1.2.	HOSPEDEIRO DEFINITIVO	132
5.2.	ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS	134
5.2.1.	HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO	134
5.2.2.	HOSPEDEIRO DEFINITIVO	135
5.3.	ASPECTOS CLÍNICOS	135
5.3.1.	HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO	135
5.3.2.	HOSPEDEIRO DEFINITIVO	136
5.4.	ASPECTOS PATOLÓGICOS	137
5.4.1.	HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO	137
	a) Patogenia	137
	b) Anatomia Patológica	137
	c) Histopatologia	139
5.4.2.	HOSPEDEIRO DEFINITIVO	140
	a) Patogenia	140
	b) Anatomia Patológica	140
	c) Histopatologia	140
5.5.	ASPECTOS DIAGNÓSTICOS	141
5.5.1.	HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO	141
	a) Clínico	141
	b) Laboratorial	141
	bi. HEMATOLOGIA CLÍNICA	141
	bii. BIOQUÍMICA CLÍNICA	144

e) ANÁTOMO-HISTOPATOLÓGICO	145
5.5.2. HOSPEDEIRO DEFINITIVO	147
5.6. DIAGNOSTICO DIFERENCIAL	147
6. CONCLUSÕES	151
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	155
8. APÊNDICE	176

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
FIGURA 1: Ciclo vital de <i>S. cruzi</i>	8
FIGURA 2: Meronte da 1ª geração, em artéria mesentérica de bezerro infectado experimentalmente com esporocistos de <i>S. cruzi</i>	89
FIGURA 3: Merozoíta de 3ª geração dentro de célula mononuclear, em esfregaço de sangue periférico de bezerro infectado experimentalmente com esporocistos de <i>S. cruzi</i>	90
FIGURA 4: Esporocistos de <i>S. cruzi</i> em fezes de cão que recebeu coração bovino com sarcocistos	92
FIGURA 5: Valores médios de esporocistos por grama de fezes (EPG) durante o período de patência (PP), em cães que receberam coração de bovino com cistos de <i>S. cruzi</i>	93
FIGURA 6: Bradizoítas de <i>Sarcocystis</i> em esfregaço preparado após escarificação de fragmentos do músculo cardíaco bovino	96

- FIGURA 7: Valores médios de temperatura (T) dos grupos de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* ( $1:25 \times 10^4$ ;  $2:5 \times 10^5$ ;  $3:10^6$ ) e controle (C), do 8º ao 28º dia subsequente à infecção (DPI) 99
- FIGURA 8: Valores médios de pulso (P) dos grupos de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* ( $1:25 \times 10^4$ ;  $2:5 \times 10^5$ ;  $3:10^6$ ) e controle (C), do 10º ao 28º dia subsequente à infecção (DPI) 100
- FIGURA 9: Valores médios de movimentos respiratórios (MR) de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* ( $1:25 \times 10^4$ ;  $2:5 \times 10^5$ ;  $3:10^6$ ) e controle (C), do 10º ao 28º dia subsequente à infecção (DPI) 101
- FIGURA 10: Pesos médios dos grupos de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* ( $1:25 \times 10^4$ ;  $2:5 \times 10^5$ ;  $3:10^6$ ) e controle (C), até à 3ª semana subsequente à infecção (SPI) 103
- FIGURA 11: Valores médios de hemácias (Hc), hemoglobina (Hb) e hematócrito (VG) de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), da 1ª à 9ª semana subsequente à infecção (SPI) 104

- FIGURA 12: Valores médios de hemoglobina globular média (HGM), concentração hemoglobínica globular média (CHGM) e volume globular médio (VGM) de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), da 1ª à 9ª semana subsequente à infecção (SPI) 106
- FIGURA 13: Valores médios da leucometria global (LG) de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), da 1ª à 9ª semana subsequente à infecção (SPI) 108
- FIGURA 14: Valores médios (por microlitro) de neutrófilos (N) e linfócitos (L), e relação N/L de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), da 1ª à 9ª semana subsequente à infecção (SPI) 109
- FIGURA 15: Valores médios (por microlitro) de eosinófilos (Eo) e monócitos (M) de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), da 1ª à 9ª semana subsequente à infecção (SPI) 111
- FIGURA 16: Valores médios de fibrinogênio (F) e proteína total plasmática (P) de bezerros

infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), da 1ª à 8ª semana subsequente à infecção (SPI)

119

FIGURA 17: Aspecto anátomo-patológico da cavidade e órgãos abdominais, de bezerro infectado experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* e morto na 2ª semana subsequente à infecção

120

FIGURA 18: Aspecto anátomo-patológico da cavidade e órgãos abdominais, de bezerro infectado experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* e morto na 4ª semana subsequente à infecção

121

FIGURA 19: Sistema nervoso central: congestão, micro-hemorragias e edema perivascular, em bezerro infectado experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* e morto na 4ª semana subsequente à infecção

125

FIGURA 20: Rim: atrofia de glomêrulo e depósito de material amorfo de caráter protéico na face interna da cápsula de Bowman, de bezerro infectado experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* e morto na 4ª semana subsequente à infecção

126

FIGURA 21: Rim: região medular com cilindros protéi-

cos intratubulares, em bezerro infectado experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* e morto na 4ª semana subsequente à infecção

127

FIGURA 22: Músculo estriado esquelético: degeneração hialina, necrose e perda parcial de fibras musculares, em bezerro infectado experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* e morto na 5ª semana subsequente à infecção

128

FIGURA 23: Cisto de *S. cruzi* em músculo cardíaco de bezerro infectado experimentalmente com esporocistos de fezes de cães

129

## ÍNDICE DE TABELAS

Pág .

TABELA 1: Médias de esporocistos por grama de fezes (EPG) e de esporocistos por dia (E/dia), ao final do experimento, de cães que receberam coração bovino com cisto de <i>S. cruzi</i>	95
TABELA 2: Valores médios (UI/l) de $\gamma$ -GT sérica de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de <i>S. cruzi</i> (E) e controle (C), durante o experimento	112
TABELA 3: Valores médios (UI/l) de ASAT sérica de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de <i>S. cruzi</i> (E) e controle (C), durante o experimento	113
TABELA 4: Valores médios (UI/l) de ASAT sérica de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de <i>S. cruzi</i> (E) e controle (C), durante o experimento	114

- TABELA 5: Valores médios (UI/l) de CPK sérica de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), durante o experimento 115
- TABELA 6: Valores médios (UI/l) de LDH sérica de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), durante o experimento 116
- TABELA 7: Valores médios de  $\alpha$ -HBDH sérica de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), durante o experimento 117

## APÊNDICE

	Pág.
TABELA 1: Valores de referência do hemograma de bezerros, segundo a literatura	177
TABELA 2: Valores médios da série vermelha do hemograma de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de <i>S. cruzi</i> (E) e controle (C), da 1ª à 9ª SPI	178
TABELA 3: Valores médios do leucograma de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de <i>S. cruzi</i> (E) e controle (C), da 1ª à 9ª SPI	179
TABELA 4: Valores médios de referência (UI/l) de alguns enzimas séricos, conforme KANEKO (1980)	180

QUADRO 1: Aspectos biomorfológicos das espécies de <i>Sarcocystis</i> dos animais domésticos	181
Resultado da análise micotoxicológica da ração	182

## **R E S U M O**

Para avaliar os aspectos parasitológicos, epidemiológicos, clínicos, laboratoriais e anátomo-histopatológicos da doença de Dalmeny, numa primeira etapa caninos com 6 meses de idade foram infectados com musculatura estriada cardíaca bovina contendo sarcocistos, para obtenção de esporocistos de *Sarcocystis*. Nos cães infectados não foram observadas alterações clínicas ou patológicas, assinalando-se, porém, a presença de esporocistos nos linfonodos mesentéricos. Com os esporocistos colhidos das fezes dos cães, numa segunda etapa bezerros com 3 a 6 meses de idade foram infectados com inóculos contendo 250 mil, 500 mil ou 1 milhão de esporocistos, e sinais clínicos relevantes foram observados no período de 24 a 28 dias após a infecção (DPI), independente do inóculo administrado. Merontes de 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> gerações foram encontrados em animais que morreram entre o 13<sup>o</sup> e o 30<sup>o</sup> DPI e merontes e merozoítas de 3<sup>a</sup> geração foram encontrados em células mononucleares, em esfregaços de sangue periférico ou da cepa de leucócitos, preparados do 24<sup>o</sup> ao 27<sup>o</sup> DPI. Com ba-

se no hemograma completo caracterizou-se, na série vermelha, uma anemia macrocítica com resposta, e na série branca, leucocitose por aumento nos números de linfócitos e neutrófilos. Níveis de proteína plasmática total diminuíram, enquanto de fibrinogênio aumentaram, progressivamente, da 1<sup>a</sup> à 8<sup>a</sup> semana após a infecção (SPI). Atividades de ASAT e CPK tiveram aumentos do 27° ao 48° DPI, enquanto em LDH ocorreram do 13° ao 41° DPI. Achados anátomo-patológicos mais importantes foram caracterizados como linfadenopatia generalizada, palidez de mucosas, emaciação, atrofia serosa da gordura, excessivo volume líquido amarelo nas cavidades pericárdica, pleural e peritoneal, sangue ralo, petéquias e sufusões em serosas de muitos órgãos, e musculatura estriada esquelética de aspecto tigróide. Histopatologicamente observaram-se esquizontes e infiltrados celulares mononucleares em vários órgãos examinados de 24 a 48 DPI, hemorragias no sistema nervoso central, nefrite não supurativa, atrofia de glomérulo, e cistos maduros, redondos ou fusiformes, de parede lisa e medindo menos de 0.5 micra de espessura, característicos da espécie *S. cruzi*. Bradizoítas foram obtidos após digestão tríptica de músculo cardíaco de animal morto aos 100 DPI, sendo a técnica segura, com a vantagem de dar resultados de forma mais rápida do que a digestão péptica.

## S U M M A R Y

To evaluate the parasitological, epidemiological and pathological aspects of Dalmeny's disease, 15 dogs with 6 months old approximately were fed with bovine cardiac muscle, positive for sarcocystis in order to obtain sporocysts. After 11 to 17 days, sporocysts of *Sarcocystis cruzi* with  $15 \times 10 \mu\text{m}$  in diameters were shed by the dogs. The prepatent period was 11 to 17 days while the patent period was 27 days. However, when some of the dogs were infected again with positive cardiac muscle, the prepatent and patent periods were 7 to 12 and 60 days, respectively. No Clinical signs nor pathologic findings were observed, except the appearance of sporocysts, well developed, in the mesenteric lymph nodes of 4 dogs necropsied in the end of the experiment.

With the sporocysts obtained at the 1st part of the experiment, 3 to 6 months calves were infected with  $25 \times 10^4$ ,  $5 \times 10^5$  or  $10^6$  sporocysts and significant clinical signs occur-

red without regard to the inoculum, and the parasitological findings were characterized by the appearance of meronts in the endothelial cells of the capillaries in different organs, and merozoites of 3rd generation in mononuclear cells of blood smears or in buffy coat from 24 to 27 days after infection (DAI). The erythrocytic values were characterized by macrocytic anemia while the leucocytic values were consisted by leucocytosis with an increase of lymphocytes and neutrophils. When levels of total plasmatic protein decreased, fibrinogen increased progressively from 1<sup>st</sup> to 8<sup>th</sup> week post infection (WPI). Increased activities of ASAT and CPK were observed from 27<sup>th</sup> to 48<sup>th</sup> DAI while the values of LDH had increased from 13<sup>th</sup> to 41<sup>th</sup> DAI. The clinical signs were prominent from 24 to 28 DAI and were consisted by anorexia, lost of weight, alopecia, dyspnea, lacrimation, salivation, yellowish discharge from the nostrils, prostration and hypothermia before death, while the necropsy findings were characterized by pale mucous membranes, serous atrophy of fat, excessive yellowish fluid in the pericardial, thoracic and peritoneal cavities, and aqueous blood. Petechias and suffusions were observed above the serosa of different organs. Further, the striated muscle has a striped appearance. Microscopically, lesions were consisted of hemorrhage around blood vessels in different organs. The whiteness of muscle was characterized by necrosis with hyalini-

zation or fragmentation of the muscle fibers. The kidneys had diffuse lesions such as subcapsular hemorrhage around blood vessels, and congestion of cortical and medular capillaries. At this stage the renal interstitium contained mononuclear cells infiltration. Casts of amorphous material were founded in the renal tubules, and glomerular capsules were thickened by increasing protein-like material deposited on the external surface of the basement membrane.

## INTRODUÇÃO

Doenças de bovinos têm sido consideradas como fator limitante em regiões que se dedicam à pecuária, seja de corte ou de leite, e perdas econômicas têm sido associadas ao manejo inadequado na criação de bezerros, onde as precárias condições e a alimentação inadequada tornam estes animais suscetíveis a infecções.

O controle e a prevenção aos agentes etiológicos de viroses, bacterioses, riquetsioses e parasitoses poderiam melhorar em muito o desenvolvimento destes animais. Entre as parasitoses, protozoários tais como os hematozoários *Babesia bigemina* (Smith & Kilborne, 1893) e *B. bovis* (Babes, 1888), *Trypanosoma vivax* (Zieman, 1905) e *T. theileri* (Laveran, 1902) e coccídios intestinais têm sido assinalados com frequência como responsáveis por danos incalculáveis no rebanho bovino. Porém, pouca consideração tem sido feita aos coccídios que fazem ciclo extra-intestinal, como *Toxoplasma gondii* (Nicole & Manceaux, 1909) e *Sarcocystis* Lankester, 1882 em que na maioria das vezes as lesões foram confundidas com outras, produ-

zidas por inúmeras causas de etiologia diversa.

Recentemente, pesquisas têm reconhecido que certas espécies do gênero *Sarcocystis* podem causar doença ou mesmo a morte de animais domésticos, em particular bovinos, ovinos, caprinos e suínos, e por isto, tem havido uma crescente procura de meios diagnósticos mais específicos, como também um estudo da doença na sua forma aguda, visando um conhecimento mais apurado dos aspectos clínicos, patológicos e epidemiológicos, já tendo sido demonstrado ser ela responsável por consideráveis perdas econômicas.

Apesar de a doença de Dalmeny estar sendo bastante estudada noutras partes do globo, tais como Estados Unidos, Canadá e Alemanha Ocidental, pouco se conhece sobre a sua importância no rebanho bovino brasileiro, o que motivou o interesse para esta pesquisa, que tem como objetivos:

1. Estudar os aspectos parasitológicos de *S. cruzi* em bezerros e cães;
2. Avaliar o possível efeito epidemiológico de *S. cruzi*, partindo-se de infecções experimentais de cães e bezerros; e
3. Estudar os aspectos clínicos e patológicos da infecção experimental de *S. cruzi* em bezerros e cães.

## REVISÃO DE LITERATURA

### 2. 1. ASPECTOS GERAIS

LEVINE (1982) afirma que há cerca de 1.560 importantes espécies de coccídios, e destas, cerca de 710 espécies de *Eimeria* e *Isospora* são conhecidas em mamíferos. De cerca de 15 coccídios entéricos de bovinos, podem ser destacados 3, sendo a *E. alburnensis* mediamente patogênica e ocorrendo nos terços médio e final do intestino delgado de bovino, zebuino e búfalo d'água; *E. bovis* é provavelmente a causa mais comum de coccidiose no gado bovino, ocorrendo também no zebuino e búfalo d'água; *E. zurni*, que é altamente patogênica, causa diarréia sanguinolenta, ocorrendo através dos intestinos delgado e grosso de bovinos, zebuínos e búfalo d'água. Dos coccídios extra-entericos, o bovino tem 3 espécies de *Sarcocystis* (*S. cruzi*, *S. hirsuta* e *S. hominis*), e especialmente na África, merontes de *Besnoitia besnoiti* ocorrem na pele e outros locais, podendo causar doença severa. Quanto ao cão (*Canis familiaris*), o autor relata haver cerca de 5 espécies de *Isospora*, sendo *I. canis* (*Cystoisospora canis*) bastante comum e ocorrendo nos intesti-

nos delgado e grosso, com média a moderada ação patogênica, e pelo menos 7 espécies de *Sarcocystis*, aparentemente nenhuma sendo patogênica para o cão. O autor não faz menção a coccídios extra-intestinais para o cão. Para o homem (*Homo Sapiens*), diz haver 2 espécies de Isospora (*I. belli* e *I. natalensis*) e 2 de *Sarcocystis* (*S. hominis* e *S. suihominis*) entre os coccídios entéricos, e *S. lindemanni* e *T. gondii* como coccídios extra-entéricos.

## 2. 2. SARCOCISTOSE BOVINA

Conforme descrições de LEVINE (1982) o bovino tem 3 espécies de *Sarcocystis* em seus músculos. *S. cruzi* (HASSELMANN, 1926) WENYON, 1926 é a espécie com sarcocistos microscópicos e é patogênica para o gado bovino, tendo o cão como hospedeiro definitivo; *S. hirsuta* MUOLÉ, 1888 tem o gato como hospedeiro definitivo, apresenta sarcocistos macroscópicos e não é patogênica para o gado bovino; e *S. hominis* (RAILLIET & LUCET, 1891) DUBEY, 1976, que tem o homem como hospedeiro definitivo e provavelmente não é patogênico para o gado bovino.

## 2. 3. ASPECTOS SISTEMÁTICOS

Segundo LEVINE (1973) e LEVINE & IVENS (1981) os coccídios são protozoários pertencentes ao filo Apicomplexa LEVINE, 1970; caracterizam-se pelo complexo apical, geralmente consistindo de anel polar, roptrias, micronemas, conóide e microtúbu-

los subpeliculares, presentes no mesmo estágio; microporo geralmente presente no mesmo estágio; sexualidade por singamia; todas as espécies são parasíticas, já tendo sido descritas cerca de 4 mil.

A classe é Esporozoazida LEUCKART, 1879; a conóide, se presente, forma um completo cone truncado; reprodução geralmente sexual e assexual; oocistos contêm esporozoítas infectivos que resultam de esporogonia; locomoção por flexão, deslizamento, ondulação ou açoites flagelares do corpo; flagelos presentes apenas em microgametas de alguns grupos; pseudópodes ordinariamente ausentes, e se presentes, usados para alimentação, não locomoção; são homoxenos ou heteroxenos, com cerca de 4 mil espécies descritas.

A subclasse é Coccidiasina LEUCKART, 1879; gamontes ordinariamente estão presentes, sendo pequenos e tipicamente intracelulares; conóide não modificada e sizígia geralmente ausente; a anisogamia é marcada; o ciclo vital consiste caracteristicamente de merogonia, gametogonia e esporogonia; há cerca de 2.400 espécies, a maioria em vertebrados.

A ordem é Eucoccidiorida LÉGER & DUBOSCQ, 1910; merogonia presente; ocorre em vertebrados e/ou invertebrados, com cerca de 2.400 espécies.

A subordem é Eimeriorina LÉGER, 1911; macrogameta e microgamonte desenvolvem-se independentemente; sizígia normalmente ausente; microgamonte produz tipicamente muitos microgametas; zigoto não móvel e esporozoítas tipicamente inclusos num esporocisto; endodiogonia ausente ou presente; homo ou hetero-

xenos; cerca de 1.500 espécies descritas.

A família é *Sarcocystidae* POCHE, 1913; são heteroxenos, produzindo oocistos após singamia; sizígia ausente; oocistos com 2 esporocistos, cada um com 4 esporozoítas, no intestino de um hospedeiro definitivo; os estágios assexuais ocorrem num hospedeiro intermediário; há cerca de 105 espécies descritas.

A subfamília é *Sarcocystinae* POCHE, 1913; obrigatoriamente heteroxenos, com multiplicação assexual no hospedeiro intermediário (presa); a última geração de merontes (sarcocistos) no hospedeiro intermediário forma metrócitos, que dão os bra-dizoítas, infectivos para hospedeiro definitivo (predador): oocistos esporulam em tecidos de hospedeiro predador, eliminando esporocistos esporulados em suas fezes.

O gênero é *Sarcocystis* LANKESTER, 1882; última geração de merontes tipicamente em músculos estriados; os merozoítas são alongados; há cerca de 90 espécies descritas.

O outro gênero desta subfamília é *Frenkelia* BIOCCA, 1968, com a última geração de merontes tipicamente no sistema nervoso.

Outras subfamílias importantes da família *Sarcocystidae* são: *Toxoplasmatinae* BIOCCA, 1959 com os gêneros *Toxoplasma* NICOLE & MANCEAUX, 1909, *Hammondia* FRENKEL & DUBEY, 1975 e *Besnoitia* HENRY, 1913, e *Cystoisosporinae* SMITH, 1981 com o gênero *Cystoisospora* FRENKEL, 1977.

## 2. 4. ASPECTOS BIOMORFOLÓGICOS

A maioria dos trabalhos experimentais sobre *Sarcocystis*, anteriores a 1972, consistiram em tentativas de transmitir o organismo entre mamíferos que comumente desenvolvem cistos em seus músculos, ou a pássaros, havendo mais de 20 relatos reivindicando sucesso em infectar tais animais administrando-lhes cistos tissulares ou por injetar-lhes organismos de cistos tissulares de *Sarcocystis*; entretanto, à luz do recentemente elucidado ciclo vital de *Sarcocystis*, está claro que vários dos experimentos anteriores não foram acompanhados por adequados controles, em vários deles devendo ter ocorrido contaminação dos ambientes por oocistos ou esporocistos; além disso, erros de observação não relacionados a infecções por *Sarcocystis* e interpretações errôneas, deram uma falsa impressão de como *Sarcocystis* é transmitido (MARKUS, 1978).

### 2. 4. 1. CICLO VITAL

Carnivorismo por predadores e transmissão de oocisto/esporocisto aos animais presas são essenciais no ciclo vital de *Sarcocystis*, parecendo provável que em natureza poucos esporocistos são necessários serem ingeridos para iniciar reprodução assexual nos tecidos da presa, dando grande número de parasitos (LEVINE, 1982).

FAYER & JOHNSON (1973) deram a primeira descrição convincente de esquizontes de *Sarcocystis* em animais experimen-

tais, e foram vistos em todos os tecidos durante autópsia de bezerros, realizadas 26 a 33 dias após os animais receberem grande número de esporocistos de *Sarcocystis* de fezes de cães de laboratório. Em experimentos subseqüentes, esquizontes foram primeiro encontrados 20 dias após ingestão de esporocistos, e não foram mais vistos aos 40, 46 e 54 dias após ingestão (FAYER & JOHNSON, 1974).

DUBEY & FAYER (1983) descreveram detalhadamente o ciclo vital (Fig. 1), considerando que *Sarcocystis* spp. são parasitos obrigatoriamente de 2 hospedeiros, geralmente alternando entre um hospedeiro intermediário herbívoro e um hospedeiro final carnívoro. Geralmente eles são mais específicos para seus hospedeiros intermediários do que para os definitivos, e ambos hospedeiros podem ter mais do que 1 espécie de *Sarcocystis*, ocorrendo, por exemplo, pelo menos 3 em bovinos e 9 em cães. Pode-se dizer então que bovinos domésticos e bisão, são os hospedeiros intermediários para *S. cruzi*, e cão, coiote, lobo, raposa e possivelmente mão pelada são seus hospedeiros finais. Outras espécies, seus hospedeiros intermediários e finais estão listados no Quadro 1, do apêndice.

Hospedeiros finais tornam-se infectados com *Sarcocystis* quando ingerem formas maduras do parasito, encistadas em órgãos musculares e tecidos nervosos de hospedeiros intermediários; a parede cística é rompida por enzimas digestivas, sendo liberados zoítas em forma de banana (bradizoítas ou cistozoítas), encistados; estes zoítas penetram nas células caliciformes da superfície do intestino delgado, rapidamente diferenciam-se em gametas masculino e feminino e movem-se para baixo, na região da lâmina própria do intestino; dentro de 1 dia após zoítas se-

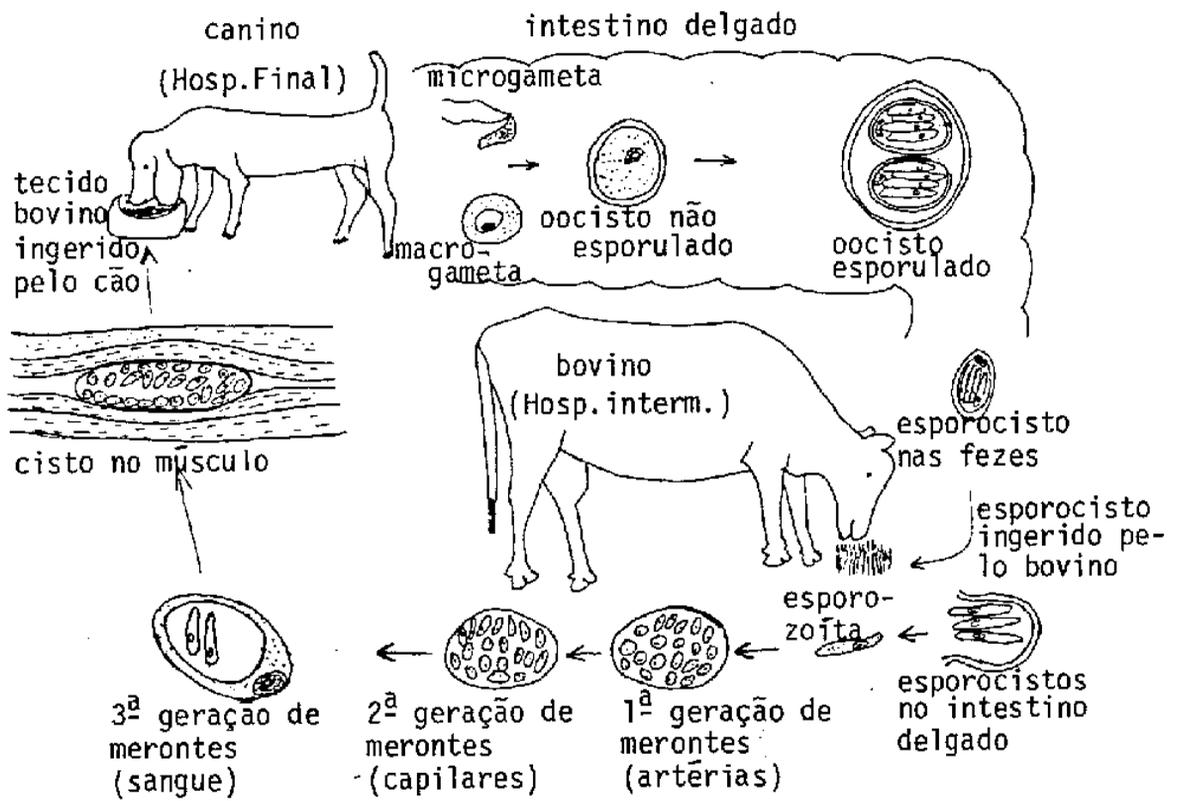


Fig. 1: Ciclo vital de *Sarcocystis cruzi*  
 Seg. DUBEY & FAYER (1983)

rem ingeridos pelo carnívoro, ocorre fertilização e a parede é formada em torno do zigoto; ainda dentro da lâmina própria o zigoto madura a um oocisto, dentro do qual 2 esporocistos se desenvolvem, e em cada um destes desenvolvem-se 4 esporozoítas; assim, há 8 esporozoítas em cada oocisto esporulado; oocistos, e mais freqüentemente esporocistos livres, movem-se ao lumen intestinal e saem com as fezes do hospedeiro carnívoro, e os bovinos, tornam-se infectados pela ingestão desses oocistos ou esporocistos, e como resultado da exposição a enzimas digestivas bile, esporozoítas liberados dos esporocistos, no intestino delgado penetram na parede e encontram seu caminho nas células endoteliais de artérias, particularmente aquelas dos intestinos e linfonodos mesentéricos; os esporozoítas parecem permanecer dormentes nos primeiros 10 dias, antes de passar por extensa proliferação nuclear para tornarem-se merontes ou esquizontes de primeira geração, que se desenvolvem em estreita associação com o endotélio de artérias, sendo as células hospedeiras desconhecidas; esquizontes maduros contendo merozoítas parecem ficar entre o endotélio e a túnica elástica, projetando-se para o lumen; merozoítas liberados de esquizontes entram na corrente sanguínea e desenvolvem-se em esquizontes de segunda geração no endotélio de capilares de virtualmente todos os órgãos do corpo, a maioria sendo encontrada em glomérulos renais; os esquizontes maduros da segunda geração são encontrados aproximadamente 4 a 5 semanas pós-inecção (SPI), e os merozoítas liberados destes esquizontes de segunda geração entram na corrente sanguínea e circulam extracelularmente; eles se multiplicam na corrente sanguínea dividindo-se em 2 progênies que têm sido encontrado até 6 SPI; o número de tais gerações na corrente sanguí-

nea é desconhecido, havendo pelo menos esta terceira geração de merogonia dentro do sangue; os merozoítas liberados da segunda geração de esquizontes ou os zoítas que se desenvolvem no sangue, penetram músculos e células nervosas; diferente dos estágios nos vasos sanguíneos, que crescem em contato direto com o citoplasma da célula hospedeira, o estágio intramuscular é separado do Citoplasma da célula hospedeira por um vacúolo parasitóforo; assim, a membrana circundando o vacúolo parasitóforo torna-se incorporada na parede cística de *Sarcocystis*, o encistamento ocorrendo em torno de 5 a 7 SPI; formação cística inicial é de difícil visualização e freqüentemente é negligenciada; contém parasitos globulares chamados metrócitos (célula-mãe) que se dividem em 2 para produzir mais metrócitos; eventualmente os metrócitos globulares dão os zoítas em forma de banana que caracterizam os cistos maduros de *S. cruzi*, primeiro encontrados em torno de 11 SPI; somente estes cistos contendo bradizoítas são infectivos aos hospedeiros carnívoros.

#### 2. 4. 2. FORMAS EXÓGENAS

Oocistos, e mais freqüentemente esporocistos, são as formas eliminadas com as fezes dos hospedeiros definitivos e que contaminam o meio (DUBEY & FAYER, 1983).

#### 2. 4. 3. FORMAS ENDÓGENAS

##### a) Hospedeiro Intermediário

FRELIER et al. (1979) citam relatos de FAYER (1977) de

que a ingestão de esporocistos pelo gado bovino é seguida por pelo menos 3 gerações assexuais: a primeira e a segunda são esquizontes, a primeira sendo encontrada nas células do endotélio vascular de artérias de pequeno e médio calibre, aos 15 dias pós-infecção (DPI), e a segunda, nas células do endotélio de capilares, aos 28-35 DPI; a terceira geração é o estágio de cisto.

No mesmo sentido, mas citando achados mais detalhados de outros autores, LEVINE & IVENS (1981) relatam que a primeira geração de merontes ocorre nas células endoteliais das artérias de intestino grosso, rins, pâncreas e cérebro (FAYER, 1977), a segunda geração de merontes ocorre nas células endoteliais de capilares de muitos órgãos, principalmente nos glomérulos renais (FAYER & JOHNSON, 1973/1974), e os sarcocistos ocorrem nos músculos esqueléticos, esôfago, coração e outros músculos do bovino (FAYER et al., 1976a).

DUBEY (1982b), relatando observações pessoais e de outros autores cita a existência de uma geração a mais de merontes precedendo a formação de sarcocistos intramusculares (HEYDORN et al., 1975; DUBEY, 1976, 1980/1982a/1982b); assim, a primeira geração ocorreu 7 a 25 DPI; a segunda geração foi encontrada em capilares de muitos órgãos de bezerros mortos entre 20 e 33 DPI, e a terceira geração ocorreu na corrente sanguínea e leucócitos, 27 a 29 DPI. A formação de sarcocistos começou aos 33 e foi completada aos 75 DPI (HEYDORN et al., 1975).

Merozoítas de *S. orientalis*, *S. bovicanis*, (*S. cruzi*), *S. ovicanis* (*S. tenella*) e *S. sui hominis* têm sido observados

nos esfregaços de sangue periférico de ratos, bovinos, ovinos e suínos, respectivamente, experimentalmente infectados, durante sarcocistose aguda (GESTRICH et al., 1975; ZAMAN & COLLEY, 1975, HEYDORN & GESTRICH, 1976; HEYDORN, 1977a) e dentro de células brancas do sangue de ratos e suínos experimentalmente infectados (ZAMAN & COLLEY, 1975; HEYDORN, 1977b).

DUBEY (1982) relata que 1 bezerro foi inoculado com 350 mil esporocistos, e foram preparados esfregaços de sangue aos 27, 28 e 29 DPI, encontrando-se, respectivamente, 2, 19 e 50 merozoítas, livres no sangue e em leucócitos, morrendo o bezerro de sarcocistose aguda no 29º DPI; em outros 7 bezerros, merozoítas foram encontrados no sangue, intermitentemente, entre 25 e 46 DPI; a concentração de merozoítas esteve entre 0.14 e 9.8/ml de sangue; de 454 merozoítas encontrados nestes bezerros, 16 (2.8%) foram extracelulares, e o restante estava dentro de células mononucleares, o número máximo de merozoítas ocorrendo no dia 31 PI em 4 bezerros, e nos dias 28, 29 e 35 PI em 3 outros, não sendo encontrados merozoítas em células da série granulocítica; dezoito células mononucleares infectadas continham merozoítas com 2 núcleos, e 5 células continham 2 merozoítas cada, tendo os merozoítas cerca de 6.8 X 3.2 micra (5.4 a 8.4 X 2.8 a 4.2; N=179); os extracelulares mediam cerca de 6.8 X 2.0 micra (5.6 a 7.7 X 1.4 a 3,5; N=8) e seus núcleos eram freqüentemente picnóticos ou distorcidos; apenas 5 dos merozoítas estavam em divisão; a maioria era intracelular no sangue; isto pode ser necessário para o transporte dos organismos que, de outra forma, poderiam ser mortos pelos anticorpos do

soro (LEVINE & IVENS, 1981).

A duração da parasitemia, que se estende de 25 a 46 DPI pode ter relação com o ciclo vital do parasito e seus efeitos sobre o hospedeiro, e a ocorrência da parasitemia coincidiu com a maturação da segunda geração de merontes (26 a 33 DPI), como reportado por FAYER & JOHNSON (1973), porém, neste estudo, os merozoítas ainda estavam presentes no sangue de 2 bezerros aos 42 e 46 DPI; se estas diferenças estão relacionadas ao parasito ou hospedeiro, permanece por ser determinado.

CERNA (1983) comenta sobre achados de FAYER (1979) de que merozoítas de *S. bovicanis* (*S. cruzi*) são capazes de multiplicação durante o transporte no sangue, o mesmo fenômeno tendo sido observado por ele próprio (CERNA, 1981) em *S. dispersa*, no sangue periférico e impressão de órgãos de camundongo experimentalmente infectado.

FAYER et al. (1979a) comentando sobre o desenvolvimento de *Sarcocystis*, apontam que após serem dados esporocistos de fezes canina a bezerros jovens, esquizontes coccidianos desenvolveram-se em muitos órgãos do corpo (FAYR & JOHNSON, 1973), e nos animais que sobreviveram à fase aguda da infecção, esquizontes não foram mais encontrados, porém, cistos típicos da infecção clássica por *Sarcocystis* estavam presentes em músculos cardíaco e esquelético (FAYER E JOHNSON, 1974) e dentro do tecido neural (FRELIER et al., 1979).

Cistos intramusculares encontrados numa ovelha moribunda foram examinados por microscopia eletrônica (ME) e continham apenas metrócitos; após a morte desta novilha, carne refri-

gerada da carcaça foi dada a um cão e um gato, por 4 dias consecutivos, mas amostras fecais foram negativas para esporocistos de *Sarcocystis*, de 2 dias antes até 40 dias após ingestão; a ME e os experimentos de alimentação sugerem que os cistos nesta novilha eram imaturos e não infectivos (FRELIER et al., 1977).

Caracterizando cistos encontrados no músculo cardíaco bovino, OGASSAWARA et al. (1978) relatam que os mesmos são alongados, divididos em compartimentos e de membranas delgadas, corroborando descrições de TADROS & LAARMAN (1976), sugerindo ser a espécie *S. cruzi*, para o qual o cão representa o hospedeiro definitivo.

OGASSAWARA & BENASSI (1980) dizem que a existência de 3 distintas espécies de *Sarcocystis* na musculatura bovina tem sido demonstrada em condições naturais bem como experimentais; assim, os estudos em ME realizados por GESTRICH et al. (1975), HEYDORN et al. (1975) e MEHLHORN et al. (1975) demonstram que, na musculatura de bovinos infectados com esporocistos coletados de fezes de cães, gatos e homem, há desenvolvimento de 3 tipos de cistos morfológicamente diferentes, levando os autores a concluir, desta observação, que *S. fusiformis*, tal como descrito na literatura, corresponde à fase do ciclo evolutivo de pelo menos 3 espécies distintas, e que são infectantes para o cão, o gato e o homem.

GESTRICH et al. (1975) encontraram nítida diferença na espessura da parede, medindo o sarcocisto do homem, 5.4 a 6.9 micra (média 5.9), do gato 3.8 a 5.4 micra (média 4.7) e do cão 0.5 micra. Em Minas Gerais (Brasil), GOMES & LIMA (1982)

fizeram observações semelhantes.

TADROS & LAARMAN (1976) na Holanda, e BOCH et al. (1978) na Alemanha, também constataram a presença de 3 tipos de cistos em bovinos abatidos.

#### b) Hospedeiro Definitivo

Bradizoítas (ou cistozoítas) de cistos maduros, sem passar por esquizogonia prévia, rapidamente diferenciam-se em gametas, dentro de 1 dia havendo fertilização e formação de zigoto, o qual madura a oocisto que geralmente esporula ainda no intestino, liberando os esporocistos (DUBEY & FAYER, 1983).

Parasitas coccidianos desenvolvem-se no trato digestivo de hospedeiros finais, exceto umas poucas espécies. Há, contudo, alguns autores que encontraram os parasitos em locais incomuns de hospedeiros finais (SHIMURA et al., 1981). Em *Eimeria*, esquizontes foram encontrados em linfonodos mesentéricos de ovinos e caprinos (LOTZE et al., 1964); mais ainda, esquizontes, gametas e oocistos foram encontrados em linfonodos mesentéricos de caprinos (LIMA, 1979) e no fígado de suínos e camurça. (DESSER, 1978). Em *Isospora*, oocistos de *I. papionis* foram encontrados nos músculos esqueléticos de babuínos na África do Sul (McCONNELL et al., 1972). Em *Cystoisospora*, DUBEY & FRENKEL (1972) encontraram estágios extra-intestinais quando infectaram gatos com *C. felis* e *C. rivolta*. Em *Sarcocystis*, SHIMURA et al. (1981) fazem relatos de tais casos, e num estudo, esporocistos estavam presentes nos linfonodos mesentéricos de cães

infectados com *S. cruzi*. Observações semelhantes a estas últimas também foram feitas por BOTELHO & LOPES (1983), quando 4 de 5 cães, após serem infectados com músculo cardíaco bovino contendo cistos de *S. cruzi*, eliminaram esporocistos nas fezes, 7 a 12 DPI, e quando sacrificados 60 DPI, esporocistos semelhantes àqueles das fezes foram encontrados em linfonodos mesentéricos. Organismos semelhantes a coccídios foram observados em granulomas subcutâneos de 1 cão (SHELTON et al., 1968).

## 2. 5. ASPECTOS CLÍNICOS

### 2. 5. 1. HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO

#### a) Sinais Clínicos

Duas espécies de *Sarcocystis* são altamente patogênicas para seus hospedeiros bovino e ovino, pois sob condições experimentais observam-se sinais clínicos generalizados, incluindo miocardite (FAYER & LUNDE, 1977), anemia, anorexia, perda de peso e morte (FAYER & JOHNSON, 1973/1974; FAYER 1974a; JOHNSON et al., 1975; MUNDAY et al., 1975; FRELIER et al., 1977; GILES et al., 1980; FAYER & PRASSE, 1981; GOMES & LIMA, 1982), vacas e ovelhas podendo abortar (FAYER et al., 1976).

Sem considerar o estágio, o número de sarcocistos observados nos tecidos não tem relação à severidade da doença, ainda que experimentalmente sinais clínicos pareçam estar relacionados ao número de esporocistos ingeridos (FAYER & JOHNSON, 1973; JOHNSON et al., 1975; LEEK & FAYER, 1978).

Referindo-se à época de apresentação, JOHNSON et al. (1975) relatam que aos 23 DPI os sinais clínicos de anorexia, média desidratação, perda de peso, anemia e fraqueza progrediram, e aos 26-33 DPI, bezerros inoculados com *S. fusiformis* (*S. cruzi*) de cães, morreram ou foram eutanasiados, e também citam que opistótono e extensão dos membros ocorreram em 3 animais, e ainda, que animais infectados, mortos antes de 23 DPI e os controles, não tiveram qualquer sinal clinicopatológico. MAHRT & FAYER (1975) fizeram observações semelhantes, e citam que o aparecimento dos sinais ocorreu aos 21-28 DPI, e que mortes ocorreram, 1 no 29° e outra no 34° DPI.

Além dos já referidos, FAYER et al. (1976) observaram sinais clínicos como nervosismo, espasmos clônicos intermitentes com tremores (7 a 10 SPI), que eram intensificados quando as vacas eram estressadas por pesagem e colheita de sangue, e hipersalivação (1° notada 4 a 8 SPI, e se prolongando por 1 a 19 semanas); os pelos em todos os animais foram secos e quebradiços e perderam o brilho, da 8ª à 16ª SPI, 3 vacas perdendo todos os pelos nos últimos 2.5 a 3.5 cm da cauda.

GOMES & LIMA (1982) inoculando bezerros com 200 mil ou 500 mil esporocistos de *S. cruzi*, e examinando-os a partir dos 15 DPI, não observaram reações imediatas, embora isolamentos posteriores tenham mostrado que os animais tornaram-se infectados.

De acordo com as afirmativas de DUBEY & FAYER (1983), a severidade da doença clínica é dependente do número de esporocistos ingeridos; dentro de 4 a 6 SPI, bovinos experimentalmen-

te inoculados com 100 mil ou mais esporocistos desenvolveram febre de 2 a 30 dias, anemia (sangue aquoso, defeituosa coagulação do sangue), anorexia, diarreia ou fezes amolecidas, fraqueza muscular, hipersalivação, tremores musculares, perda de pelos (particularmente em torno dos olhos, pescoço e ponta da cauda) e médio nervosismo; alguns bovinos morreram como resultado de tais infecções.

FAYER et al. (1983) infectando vacas Holstein múltiparas com 60 mil esporocistos de *S. cruzi* observaram, além de sinais e sintomas da doença, diminuição na produção de leite.

#### b) Desenvolvimento Ponderal

FAYER et al. (1976) inocularam *S. fusiformis* (*S. cruzi*) de cães em bovinos adultos, e observaram que consumo de alimentos começou a diminuir cerca de 4 SPI, e gradualmente aumentou a níveis originais em 3 a 5 semanas; 1 vaca, contudo, comeu progressivamente menos até 60 DPI, quando estava moribunda e foi sacrificada; observou-se ainda que todas as vacas perderam peso entre a 7<sup>a</sup> e a 14<sup>a</sup> SPI, com perda média de 112 Kg, variando de 77 a 154 Kg.

Em ovinos infectados experimentalmente com 100 mil esporocistos de *S. ovis* (*S. tenella*), LEEK & FAYER (1980) observaram que os animais ganharam menos peso do que os controles, embora as diferenças não fossem significantes, devendo-se levar em consideração que a morte de 2 dos 4 ovinos do grupo infectado influenciou marcadamente o peso médio de grupo.

## c) Temperatura, Pulso e Movimentos Respiratórios

FAYER et al. (1976) relatam que a temperatura normal do bovino, que varia de 38.0 a 39.1°C, foi excedida em todas as vacas inoculadas com *S. fusiformis* (*S. cruzi*) de cães, dando pico médio de 40.1°C entre a 4ª e a 6ª SPI, e novamente, entre a 14ª e a 16ª SPI, agora com pico médio de 39.9°C, observando ainda os autores que, entre esses picos, metade ou mais das vacas tiveram temperatura de mais de 39,1°C na maior parte do tempo.

Com o mesmo objetivo, temperatura corpórea de bezerros inoculados com 200 mil esporocistos de *S. cruzi* foi tirada diariamente por FAYER & LYNCH (1979), observando aumento (2 x o desvio padrão) do 27º ao 31º DPI, indicando este fato que parasitos viáveis foram utilizados.

Num surto natural de sarcocistose em novilhas leiteiras, FRELIER et al. (1977) observaram que alguns animais tiveram febre, enquanto outros estavam com temperatura, pulso e movimentos respiratórios dentro dos limites normais na ocasião do exame clínico.

Em ovinos inoculados com 200 mil esporocistos de *S. ovicanis* (*S. tenella*), LEEK & FAYER (1980) observaram que os animais apresentaram temperatura média mais alta aos 14 DPI (41°C) e aos 25 DPI (41.5°C).

GOMES & LIMA (1982) não observaram alterações nos índices normais de frequência cardíaca, frequência respiratória e movimentos do rumem em bezerros infectados com 200 mil ou 500

mil esporocistos de *S. cruzi*.

#### 2.5.2. HOSPEDEIRO DEFINITIVO

*Sarcocystis* geralmente não é patogênico para carnívoros, é o que afirmam DUBEY & FAYER (1983), acrescentando os autores que cães, coiotes e outros carnívoros criados em laboratório e aos quais carne bovina pesadamente infectada foi administrada, eliminaram grande número de esporocistos, porém, não ficaram doentes, ainda que houvesse vômito e inapetência por 1 ou 2 dias, mas se estes sinais foram relacionados à infecção com *Sarcocystis* ou à dieta, não foi estabelecido.

#### 2.6. ASPECTOS PATOLÓGICOS

##### 2.6.1. HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO

###### a) Patogenia

Embora *Sarcocystis* tenha sido considerado não patogênico (JUBB & KENNEDY, 1970), várias espécies ocorrendo em animais são agora reconhecidas como altamente patogênicas (DUBEY, 1976), e bezerros experimentalmente infectados usualmente tornam-se severamente doentes e muitos morrem FAYER & JOHNSON, 1974; JOHNSON et al., 1975; FAYER et al., 1976b), considerando-se *S. cruzi* a espécie mais patogênica do gênero.

A doença caracteriza-se por anemia, anorexia e caquexia, ocorrendo as lesões mais proeminentes entre 26 e 33 DPI

(GESTRICH et al., 1975; JOHNSON et al., 1975; MAHRT & FAYER 1975; FAYER et al., 1976b), constatando-se ainda aborto e morte (GESTRICH et al., 1974; GESTRICH et al., 1975; MUNDAY et al., 1975; LEEK & FAYER, 1976; LEEK et al., 1977), observando-se, da mesma maneira, doença e morte em condições naturais (CORNER et al., 1963; MEADS, 1976; FRELIER et al., 1977; SCHMITZ E WOLF, 1977; GILES et al., 1980).

Segundo DUBEY & FAYER (1983), os bezerros tornam-se doentes e anêmicos no período que coincide com maturação e liberação dos esquizontes da segunda geração, a primeira geração não tendo sido associada com doença clínica. Pode haver várias causas de anemia e morte, e ainda que a anemia pareça ser primariamente hemolítica, só a hemorragia não contribui para a perda de 50 a 75% das células do sangue; muitas células são removidas da circulação pelo baço e não há hematúria. O aumentado tempo de protrombina e a aumentada concentração de produtos de degradação do fibrinogênio em bezerros afetados sugere coagulopatia intravascular, possivelmente contribuindo ao infarto e à sutil necrose em vários tecidos; é possível que algum metabólito desconhecido liberado pelo parasito ou célula hospedeira infectada cause a anemia; contudo, animais transfundidos com sangue de animais doadores sofrendo de sarcocistose aguda, permaneceram assintomáticos. O achado de anticorpos anti célula vermelha de cavalo, num cavalo infectado com *Sarcocystis*, e depósitos de IgG e IgM em glomérulos renais de bovinos, sugerem um aspecto imunopatológico da doença; um desses mecanismos pode ser a produção de complexos imunes tóxicos. Tanto antígenos circulan-

tes como anticorpos humorais são encontrados em bovinos e outros animais infectados com *Sarcocystis*. Também, alterações nos vasos sanguíneos podem ser sutis, e um cuidadoso estudo ultra-estrutural do endotélio vascular infectado é necessário. Alterações no fígado (inflamação e degeneração) podem contribuir para aumentados níveis de bilirrubina sérica, e a destruição de eritrócitos provavelmente cause aumentados níveis de nitrogênio uréico sanguíneo; inflamação geralmente segue a liberação de esquizontes de segunda geração, e pode ser devida à destruição de alguns merozoítas de segunda geração, em tecidos sensibilizados; hipersensibilidade pode estar envolvida, mas a inflamação geralmente cessa após o parasito ter encistado e o cisto ter maturado, e uma inflamação granulomatosa segue a ruptura de cistos maduros; a causa da ruptura do cisto é desconhecida, e em certos hospedeiros (ovinos, caprinos e suínos) pode haver eliminação de cistos dos tecidos.

#### b) Anatomia Patológica

Segundo dos SANTOS (1979), os sarcosporídios parasitam as fibras cardíacas e são extremamente freqüentes no bovino, não acarretando fenômenos clínicos nem determinando lesões macroscópicas. Entretanto, trabalhos experimentais têm demonstrado a patogenicidade desses parasitos, evidenciando-se que os animais infectados desenvolvem as lesões, principalmente entre 26 a 33 DPI (FAYER et al., 1973; MARQUES Jr et al., 1983). Os exames macroscópicos à necrópsia revelam principalmente lin-

fadenopatia, palidez das mucosas, emaciação e ascite (FAYER & JOHNSON, 1975; JOHNSON et al., 1975; MAHRT & FAYER, 1975; BLOOD et al., 1979b; FAYER & FRASSE, 1981).

Na sarcosporidiose induzida em bezerros, JOHNSON et al. (1975) apontam, quanto as observações macroscópicas, que atrofia serosa da gordura foi generalizada, porém, foi mais aparente no seio coronariano do coração e no hilo da pelve renal; a gordura foi escassa, gelatinosa, edematosa e marcada de petéquias e pequenos aglomerados brancos; excesso líquido amarelo foi observado nas cavidades pericárdica, peritoneal e torácica, em bezerros moribundos que foram eutanasiados, o sangue foi notadamente ralo e aquoso; hemorragias petequiais ocorreram no coração, pericárdio, serosa do trato gastrointestinal, mesentérico, mediastino e bexiga; também em 3 bezerros com resposta mais pronunciada à infecção, houve hemorragias equimóticas e pequenos pontos vermelhos nos rins, adrenais, pâncreas, mucosa do intestino delgado e cérebro; os linfonodos viscerais, particularmente mesentéricos e mediastínicos estavam frequentemente aumentados, edematosos e continham pequenos focos de pontos vermelhos; os músculos estriados cardíaco e esquelético tinham um matiz róseo e vermelho (mosqueado) nalguns bezerros; além disto, traços brancos ocorreram nos músculos cardíaco e diafragmático de bezerros com lesões severas.

Observações semelhantes às anteriormente descritas, bem como outras, foram feitas por vários autores. Assim, encontra-se em FRELIER et al. (1979) e LEVINE & IVENS (1981), que

bezerros inoculados com 200 mil a 1 milhão de esporocistos de *S. cruzi* foram mortos ou morreram 26 a 54 DPI, e foram observadas hemorragias de serosa na cavidade peritoneal, pericárdio, miocárdio e superfície dorsal do cérebro, e linfadenopatia generalizada.

FAYER & JOHNSON (1975b) produziram doença em bezerros aos quais administraram *S. cruzi* de coiotes naturalmente infectados; 1 bezerro que recebeu 135 mil esporocistos tornou-se inativo e foi morto 43 DPI; um outro recebeu 720 mil esporocistos e morreu 50 DPI; ambos bezerros tiveram lesões macroscópicas de médio hidroperitônio e hidropericárdio, e musculatura e membranas mucosas pálidas; 1 dos bezerros também teve médio hidrotórax, miocárdio ventricular mosqueado e com petéquiais, áreas vermelho-escuras nos pulmões, e linfonodos aumentados.

Descrevendo achados macroscópicos na sarcocistose bovina, DUBEY & FAYER (1983) apontam, como principais, redução da gordura Corpórea, tanto a pericárdica como a peri-renal, passando por atrofia serosa, aparecendo gelatinosa e translúcida; os órgãos foram pálidos a hemorrágicos; durante a fase hemorrágica aguda (4 a 5 SPI), hemorragias foram encontradas na esclerótica, superfície serosal das vísceras, coração, timo e nos músculos do corpo, geralmente sendo mais pronunciadas na superfície serosal do retículo e coração; músculos subcutâneos e muitos músculos esqueléticos tinham bandas alternadas, claras e escuras (aspecto tigróide ou em mosaico); as hemorragias foram petequiais a equimóticas; fígados foram pálidos, com bordos arredondados, e ocasionalmente ictéricos; linfonodos foram ede-

matosos, aumentados e freqüentemente com petéquias; músculos foram flácidos; hemorragias no sistema nervoso central geralmente não foram proeminentes.

### c) Histopatologia

Ao microscópio, dos SANTOS (1979) informa que o protozoário se dispõe em cistos localizados na fibra muscular, têm forma alongada e são denominados tubos de Miescher, e acrescenta que o parasito é aparentemente inócuo para a fibra e produz apenas um deslocamento do sarcolema; todavia, como capaz de produzir uma toxina (sarcocistina), deve-se admitir que possa, em certas circunstâncias, determinar lesões da fibra muscular.

Quanto as alterações histopatológicas na sarcosporidiose induzida em bezerros, JOHNSON et al. (1975) apontam que estágios de desenvolvimento não foram observados em bezerros examinados aos 3 e 19 DPI; 1 único esquizonte estava num linfonodo mesentérico de 1 bezerro examinado aos 20 DPI, e bezerros examinados aos 19 e 20 DPI tinham uns poucos infiltrados linfocitários perivasculares disseminados nos rins, fígado, pulmões e coração, mas todos os bezerros examinados de 26 a 54 DPI tiveram moderado a severo infiltrado celular mononuclear nos tecidos perivascular e intersticial do coração, músculo esquelético, pulmões, fígado e rins, sendo que os músculos com maior infiltração foram aqueles do diafragma, esôfago e língua, acrescentando os autores que a resposta celular em bezerros examinados de 26 a 33 DPI consistiu princi-

palmente de linfócitos, com uns poucos macrófagos, eosinófilos e plasmócitos; por outro lado, resposta celular observada do 359 ao 549 DPI consistiu dos mesmos tipos celulares, porém, macrófagos e plasmócitos tornaram-se mais abundantes. Bezerros examinados de 26 a 33 DPI tiveram as mais severas alterações histopatológicas agudas, e durante esse tempo, esquizontes havia em todos os tecidos moles; muitos dos esquizontes estavam dentro de células endoteliais dos capilares e pequenos vasos sanguíneos; tais células eram grandes e algumas vezes obstruíam o lumen vascular, e quando isto ocorria, áreas focais de hemorragia e edema acompanhavam a resposta celular mononuclear. Alterações degenerativas e pequenas áreas multifocais de necrose foram observadas no miocárdio de 4 bezerros que foram examinados do 31° ao 33° DPI, sendo as lesões caracterizadas por perda de estriações, hialinização do sarcoplasma, picnose e cariorexia e deposição de cálcio; em grau menor, áreas multifocais de degeneração foram encontradas nos músculos esqueléticos de 4 bezerros; tecido adiposo de coração, rins e mesentério também continha pequenos focos necróticos, lesões estas que foram caracterizadas por mineralização e perda de detalhe celular. As alterações no sistema nervoso central de 3 bezerros examinados 31, 32 e 33 DPI foram caracterizadas por hemorragia peritricial e médio infiltrado celular mononuclear perivascular do cérebro, cerebelo e medula espinhal, bem como médio infiltrado celular mononuclear das meninges, e os esquizontes estavam frequentemente associados com estas alterações; contudo, nalguns casos não houve resposta tissular aparente. O epitélio e a lâ-

mina própria adjacentes do terço distal de muitas vilosidades do intestino delgado de 8 bezerros examinados do 26° 0 ao 54° DPI continham focos microscópicos de restos celulares, fagócitos carregados de hemossiderina, ocasionalmente uns poucos eritrócitos livres, e esquizontes restritos a células na margem subepitelial da lâmina própria acompanhavam estas lesões nos bezerros examinados do 26° ao 33° DPI, e eram idênticos àqueles observados em outros tecidos. Não se sabia se os bezerros eram livres de coccídios, porém, estágios sexuais ou oocistos não foram encontrados em amostras fecais e em secções de intestino. Nem esquizontes nem lesões foram observados em secções de intestino de bezerros examinados 3, 19 e 20 DPI. Somente média alteração inflamatória ou, em alguns casos, nenhuma resposta ocorreu nas glândulas adrenais, tiróide, salivares e pâncreas, nos linfonodos, no baço e coriorretina, ainda que esquizontes fossem frequentemente reconhecidos nestes tecidos; em outros tecidos a severidade da resposta parece ser proporcional ao número de esquizontes, ainda que variações fossem observadas de órgão a órgão e entre bezerros. Pequenos cistos jovens de *Sarcocystis*, contendo 3 a 6 zoítas apareceram em fibras musculares no 33 DPI; muitos dos cistos estavam circundados por tecido muscular, enquanto outros estavam separados do músculo por um halo claro; apenas cistos (não esquizontes) havia em bezerros examinados aos 46 e 54 DPI, e ainda que difusa reação celular mononuclear estivesse presente, nem hemorragia nem edema foram observados nesta época; pequenos nódulos microgliais consistindo de 8 a 20 células e médio infil-

trado celular mononuclear havia em secções de cérebros examinados, de 2 bezerros. Em folículos de linfonodos e baço, proliferação celular linfóide e poeminentes centros germinativos foram vistos em bezerros examinados de 24 a 54 DPI; eritrócitos e fagócitos carregados de hemossiderina enchiam os sinusóides de linfonodos que drenavam áreas onde ocorreram hemorragias; esquizontes havia freqüentemente em secções de linfonodos mesentéricos. Apontam finalmente os autores que alterações atribuídas a *Sarcocystis* não foram observadas em 4 bezerros controles que foram examinados durante o período quando a maioria dos bezerros inoculados se tornaram severamente doentes.

GESTRICH et al. (1975) encontraram que 5 bezerros, cada um recebendo 2 milhões de esporocistos de *S. cruzi* de cães, morreram 27 a 30 DPI, que havia muitos merontes e merozoítas em seus órgãos e que baixas doses de esporocistos não causaram morte, porém, produziram sarcocistos de parede fina (menos de 0.5 micra de espessura), encontrados nos músculos de bezerros examinados 98 dias mais tarde.

Média infiltração celular mononuclear dos tecidos conjuntivos, moderada hiperplasia linfóide de baço e linfonodos, e merontes jovens nos linfonodos e músculos foram observados por FAYER & JOHNSON (1974) em bezerros inoculados com 135 mil e 720 mil esporocistos de *S. cruzi*, e mortos aos 43 DPI.

Infectando experimentalmente 6 vacas com *S. fusiformis* (*S. cruzi*) de cães, FAYER et al. (1976) encontraram cistos nos músculos estriados cardíaco e esquelético, e eram mais numerosos no coração, olhos e língua; uns poucos cistos também

foram encontrados no cérebro e cerebelo de 3 vacas. Alterações microscópicas nos músculos de todas as vacas consistiram de infiltrado celular mononuclear (principalmente linfócitos, porém, também macrófagos, plasmócitos e eosinófilos), alterações degenerativas (picnose, aumentada eosinofilia) e edema; miosite e miocardite foram multifocais e variaram em severidade, de média a moderada; todas as vacas tiveram média a moderada glomerulonefrite, caracterizada por hiper celularidade dos glomérulos e achatamento irregular e focal das membranas basais dos capilares; o tecido intersticial, especialmente em torno dos vasos sanguíneos e glomérulos, tinha infiltrado celular mononuclear multifocal.

CORNER et al. (1963), JOHNSON et al. (1975) e SCHMITZ & WOLF (1977) descrevem que moderada a severa infiltração por células mononucleares nos tecidos perivascular e intersticial foi observada em secções histológicas de coração, músculos esqueléticos, pulmões, fígado e rins de animais natural e experimentalmente infectados com *S. cruzi*.

Cisto jovem (contendo 1 ou 2 merozoítas) causa pouca ou nenhuma alteração do sarcolema altamente ordenado; entretanto, como o cisto aumenta, deslocamento de miofibrilas com perda de registro é freqüentemente vista (ZEVE et al., 1966; SHEFFIELD et al., 1977; PACHECO et al., 1978). À medida que o cisto se torna mais velho, a célula muscular passa por outras alterações degenerativas, isto é, estreitamento e separação das miofibrilas (PACHECO et al., 1978). Calcificação distrófica de músculo estriado tem sido reportada em sarcosistose experimen-

tal (JOHNSON et al., 1975).

Aumento de linfonodos devido a edema e hiperplasia reticular foram observações de DUBEY & FAYER (1983), apontando também que hepatite não supurativa foi caracterizada por infiltração celular mononuclear em torno dos vasos sanguíneos portais, dutos biliares e canalículos biliares, e lipidose centrolobular; a vesícula biliar estava grossa devido a edema e infiltrações com células mononucleares, e freqüentemente continha bile espessa; miocardite e miosite não supurativas seguiram a fase hemorrágica, e lesões no sistema nervoso central foram relativamente insignificantes e consistiram de gliose focal.

SMITH et al. (1972) comentam que certos casos de miosite eosinofílica no bovino têm sido atribuídos à sarcosporidiose, porém, que esta conclusão é baseada em insuficiente evidência; acrescentam que, embora *Sarcocystis* possa estar presente em moderado número, em músculos afetados com miosite eosinofílica, raro que lesões e parasitos possam ser demonstrados estar topograficamente relacionados e nenhuma alteração seja evidente nos organismos; assim, a conclusão mais válida é que miosite eosinofílica, de etiologia desconhecida, possa ocorrer no músculo esquelético já afetado com sarcosporidiose.

## 2. 6. 2. HOSPEDEIRO DEFINITIVO

### a) Patogenia

As observações feitas por HEYDORN & ROMMEL (1972), FEYER (1974b) e SHIMURA et al. (1981) em secções coradas de intestino

delgado, de que houve pouca reação celular ao parasito (*S. cruzi*), sugerem um baixo nível de resistência à reinfecção em cães, e FAYER (1974) observou ainda que as reinfecções foram caracterizadas por períodos patentes mais longos do que na infecção original, acreditando ser o fato devido a um maior número de parasitos na segunda ingestão de carne infectada. Assim, até quando é conhecido, *S. cruzi* não é patogênico para carnívoros (LEVINE & IVENS, 1981).

#### b) Anatomia Patológica

FAYER (1974) não encontrou parasitos em secções coradas do intestino delgado de nenhum de 2 cães, 1 dia antes da inoculação de carne bovina contendo cistos de *S. cruzi*; contudo, parasitos foram encontrados nas vilosidades do duodeno, Jejunum e íleo, do 2° ao 13° DPI; eles ocorriam na lâmina própria, imediatamente abaixo do epitélio, no terço central da vilosidade; ainda que macrogamontes, oocistos e esporocistos fossem encontrados em todos os segmentos, foram mais abundantes na parte distal do jejuno e proximal do íleo; não foram encontrados microgamontes ou esquizontes; oocistos em vários estágios de desenvolvimento e esporulação foram observados do 7° ao 13° DPI; lesões macroscópicas não foram vistas no intestino delgado removido de cães infectados, observações também feitas por SHIMURA et al. (1981).

### c) Histopatologia

FAYER (1974b) afirma que lesões microscópicas não são encontradas, e pouca ou nenhuma reação celular ao parasito *S. cruzi* vista em secções coradas do intestino delgado de cães.

## 2. 7. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

### 2. 7. 1. ASPECTOS GERAIS

O sucesso do tipo clássico do ciclo coccidiano, como por exemplo, o de *Eimeria*, depende largamente de uma contaminação substancial e regular do território do hospedeiro, com fezes infectivas, e fácil contato entre o oocisto fecal maduro infectivo e o suprimento alimentar de membros suscetíveis das espécies hospedeiras, sendo estas condições facilmente obtidas com roedores, galináceos e herbívoros, entre os quais *Eimeria* predomina (LEVINE, 1973). Carnívoros, por outro lado, têm mínimo contato oral com solo contaminado; além disto, como regra geral, carnívoros não contaminam seus ambientes de moradia, com fezes, porém, tendem a depositá-las em certos lugares, ocasionalmente até mesmo enterrando-as. Por isto, ainda que a infecção direta intra-específica com oocistos em coccídios convencionais, ocorra mesmo entre carnívoros, uma vez o jovem tenha deixado a ninhada e começado sua freqüente vida solitária de caça, as chances de sucesso de infecção direta com oocistos são mais limitadas. É evidente que coccídio de carnívoros, que tenha desenvolvido habilidade para excistar e parcialmente desen-

volver-se em tecidos de hospedeiro presa intermediário próprio, tem uma substancial vantagem de sobrevivência (FRENKEL, 1974), e o desenvolvimento destes estágios intermediários, evidentes particularmente nalguns membros de gênero *Cystoisospora* e em *Toxoplasma*, foi levado ao estado mais sofisticado em *Sarcocystis* e *Frenkelia*, onde não apenas o ciclo vital tornou-se estritamente heteroxeno, porém, onde toda multiplicação esquizogônica ocorre no hospedeiro intermediário, culminando na formação de cistozoítas (bradizoítas), que se tornaram especialmente adaptados para iniciar gametogonia nos tecidos do hospedeiro final carnívoro (TADROS & LAARMAN, 1976).

Há alguma evidência de que em *Eimeria* o estágio que estimula imunidade protetora do hospedeiro seja a segunda geração de esquizogonia (HORTON-SMITH, 1947/1949/1963) e que os estágios gametogônicos podem ter pouco efeito imunizante (ROSE, 1967/1973). Por estas observações, tenta-se ligar aparente falta de imunidade protetora reportada em vários hospedeiros finais de coccidiose induzida por *Sarcocystis*, à ausência de desenvolvimento esquizogônico nos tecidos intestinais destes hospedeiros. Invasão da lâmina própria do hospedeiro definitivo por cistozoítas de *Sarcocystis* infectivo, é seguida diretamente por diferenciação e maturação de gametócitos, "in situ"; fertilização de gametas femininos é então seguida por deposição da parede oocística, o que provavelmente deixa o parasito imunologicamente inerte.

## 2. 7. 2. HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO

### a) Sarcocistose Aguda

O bovino é hospedeiro intermediário de 3 espécies de sarcoporídeos: *S. cruzi*, *S. hirsuta* e *S. hominis*, sendo os caninos, felinos e primatas, respectivamente, os hospedeiros definitivos (LEVINE, 1977). As espécies referidas para felinos e primatas são pouco patogênicas e praticamente não provocam sinais clínicos; entretanto, *S. cruzi* provoca doença aguda severa e mesmo morte em bezerros, e aborto em vacas (GESTRICH et al., 1975; JOHNSON et al., 1975; FAYER et al., 1976; MEADS, 1976; FRELIER et al., 1979). Muitos sinais foram semelhantes àquêles descritos por CORNER et al. (1963) para doença de Dalmeny, e FAYER et al., (1976b) não encontraram evidência de transmissão intra-uterina de *Sarcocystis*, porém, organismos lembrando o parasito foram detectados em placentas e cérebros de bezerros abortados (MUNDAY & BLACK, 1976).

MARKUS et al. (1974) compararam a descrição de parasitos não identificados por CORNER et al. (1963) no surto da chamada doença de Dalmeny no gado canadense, com esquizontes de *Sarcocystis* produzidos experimentalmente em rim de bezerro, e com esporozoários não identificados de um bezerro naturalmente infectado, na Inglaterra, concluindo que estes protozoários não identificados foram *Sarcocystis*.

FAYER & LEEK (1979) conseguiram com sucesso, por meio de transfusão de sangue, transmitir merozoítas de *S. cruzi*, *S. tenella* e *S. sui hominis* entre hospedeiros intermediários da mesma espécie. Em determinado experimento com *S. tenella*, tan-

to animais experimento como controle mostraram cistos intramusculares, e os autores interpretaram que os controles adquiriram alguns cistos, como resultado de contaminação com esporocistos que poderiam ter sido carreados nas mãos ou roupas dos tratadores dos animais; observaram também que sinais clínicos de sarcocistose não foram vistos nos transfundidos nem nos controles.

## b) Sarcocistose Crônica

### (1) NOS ANIMAIS

Vários relatos têm sugerido uma associação entre nódulos pequenos, acinzentados, na carne, e *Sarcocystis*, sendo possível que as lesões ocorram quando sarcocistos degeneram.

O papel de *Sarcocystis* como causa de miosite eosinofílica em bovino, ovino e outros animais não é claro, podendo a reação no músculo estar associada com rutura ou desenvolvimento de cistos.

Enquanto alterações patológicas musculares acreditadas serem causadas por *Sarcocystis*, tem sido frequentemente reportadas (BLAZER et al., 1976; MEHLHORN & HEYDORN, 1977), muitos autores têm observado pouca ou nenhuma reação inflamatória em torno de cistos intatos de várias espécies de *Sarcocystis* de mamíferos (BURGISSER, 1975; KARR & WONG, 1975; MEHLHORN et al., 1975; ROMMEL & GEISEL, 1975; ZAMAN & COLLEY 1975; VILES & POWELL, 1976).

Lesões de rutura de cisto na sarcocistose murina expe-

rimental consistiram em infiltração granulocítica seguida de infiltração mononuclear e finalmente fibrose (RUIZ & FRENKEL, 1976), e camundongos com pesadas infecções tiveram dificuldade para se locomoverem.

REZAKHANI et al. (1977) citado por MARKUS (1978), acreditam que sarcocistose pode ter sido a causa de bloqueio de 2º grau num ovino, e AGNESE (1951) estabelece a possível relação entre a parasitose do sistema de condução intrínseco do coração, com a doença da Adam-Stokes em caprino e bovino.

## (2) NO HOMEM

A sarcocistose humana é usualmente assintomática e não há reação inflamatória associada com a presença de cistos musculares (MANDOUR, 1965a; JEFFREY, 1974; KUTTY & DISSANAIKE, 1975; KUTTY et al., 1975). Contudo, sintomas relatados e que podem ter sido o resultado de sarcocistose incluíram inchaço e fraqueza musculares intermitentes, dor muscular, miosite focal, eosinofilia, febre, indisposição e broncoespasmo (JEFFREY, 1974).

### 2. 7. 3. HOSPEDEIROS DEFINITIVOS

Em geral *Sarcocystis* tem mais especificidade para seus hospedeiros intermediários de que para os definitivos, observando-se virtualmente uma estreita margem de hospedeiros intermediários e ampla margem de hospedeiros definitivos. Assim, bovinos domésticos (*Bos taurus* e *Bos indicus*) e bisão (*Bison*

bison) são os únicos hospedeiros intermediários descritos até aqui para *S. cruzi*; entretanto, cães (*Canis familiaris*) (HEYDORN & ROMMEL, 1972; FAYER & LEEK, 1973; FAYER et al., 1973 SUTEU & COMAN, 1973; FAYER, 1974a; ROMMEL et al., 1974; VERSHININ, 1974), raposas (*Vulpes vulpes*) e lobos (*Canis lupus*) (ROMMEL et al., 1974; FAYER et al., 1976a); coiotes (*Canis latrans*) (FAYER, 1974a; FAYER & JOHNSON, 1975a) e mão pelada (*Procyon lotor*) (FAYER et al., 1976a) são alguns dos hospedeiros definitivos já referidos.

Outro aspecto importante a ser considerado é que bovinos têm 3 espécies de *Sarcocystis*, ocorrendo pelo menos 9 espécies do parasito nos cães.

Carne bovina infectada com *Sarcocystis*, estocada por 2 a 8 dias a 4°C ou por 18 dias a 2°C, infectou gatos (GESTRICH & HEYDORN, 1974; MARKUS, et al., 1974). Contudo *Sarcocystis* não infectava cães ou gatos se a carne fosse aquecida a uma temperatura interna de 65 - 70°C por 10 minutos, ou se fosse mantida a -20°C por mais do que 3 dias (GESTRICH & HEYDORN, 1974; FAYER, 1975).

FAYER (1976) teve sucesso em infectar cães com carne bovina moída obtida em supermercados e coração bovino refrigerado por 3 dias; por outro lado, carne congelada por 7 dias perdeu a infectividade.

Esporocistos podem ser eliminados por carnívoro infectado, por um período de meses, e contaminação ambiental por esporocistos é a fonte de infecção do hospedeiro presa (DUBEY & FAYER, 1983).

FAYER (1980) observou que nos dias de pico de eliminação, a média alcançava 145.000 a 408.400 esporocistos por animal, e que o número médio de esporocistos eliminados por cães que receberam 454 a 908 g de carne, variou de 861.000 a mais de 20 milhões, e sugeriu, com base em suas pesquisas, que o longo período de patência e a facilidade com que os cães se locomovem de um lugar para outro, podem promover uma grande disseminação de esporocistos em determinada área. Contudo, se esses animais ficam confinados numa área restrita, aumentam as possibilidades de uma concentração maciça de esporocistos neste local. Por outro lado, apesar do autor admitir o fato de uma alta contaminação do meio ambiente com esporocistos de *Sarcocystis*, admite também que mais estudos são necessários, a fim de esclarecer o papel do cão e outros animais na cadeia epidemiológica de transmissão da sarcocistose, particularmente nos casos de criações extensivas de bovinos.

#### 2. 7. 4. HOSPEDEIROS-TRANSPORTE

Astrópodes coprófagos e pássaros podem contribuir à disseminação de esporocistos de fezes de mamíferos, e uma implicação evolutiva de um longo período de patência de *Sarcocystis* num pássaro migratório, poderia ser aquela em que a mesma espécie de *Sarcocystis* poderia tornar-se estabelecida em roedores não relacionados e constituindo a presa do pássaro em diferentes regiões zoogeográficas.

Agora é aparente que os esporocistos livres conhecidos

há vários anos, do homem (como *Isospora hominis*), gatos, cães e vários carnívoros e onívoros silvestres, são aqueles de várias espécies de *Sarcocystis* (MARKUS, 1978).

Baseando-se em dados experimentais, MARKUS (1980) hipotetiza que esporocistos depositados (por regurgitação ou de outra maneira) sobre esterco bovino, por um grupo de moscas coprofílicas poderiam, por seu turno, serem transferidos a bovino por outro grupo de moscas, onde os esporocistos poderiam facilmente ser ingeridos quando os bovinos lambessem pele e narinas. O mesmo autor referencia ainda que, no laboratório, baratas atuaram como vetores experimentais de *Sarcocystis* murino.

A viabilidade de 2 espécies de *Sarcocystis* bovino parece não ser afetada por passagem através do intestino de moscas, como julgado pela habilidade dos esporocistos em excistar. Este fato, junto com a descoberta de que moscas transportam esporocistos de *Sarcocystis*, sugerem que moscas coprofílicas podem desempenhar um papel na distribuição desses coccídios no meio; contudo; a frequência com que os coccídios podem ser disseminados deste modo, e sua relação à prevalência marcadamente alta da infecção com *Sarcocystis*, recordada em bovino e alguns outros hospedeiros intermediários em vários países, ainda têm que ser avaliadas por outros estudos a campo.

Considerando o assunto em outro organismo da família, BIGALKE (1960) mostra que *Besnoitia besnoiti* pode ser transmitida pela mosca sugadora *Glossina brevipalpis*, por muitos tabanídeos e *Stomoxys calcitrans*, o que ele considerou como um modo mecânico de transmissão. O mesmo autor (1967) também estabe-

lece que cistos tissulares de *B. besnoiti* podem reter sua viabilidade por até 9 anos, pontificando que gado bovino cronicamente infectado pode formar um importante reservatório natural para transmissão por artrópodes, a gado indene. Entretanto, um significativo papel de dípteros na transmissão de *B. besnoiti* foi excluído por HUAN (1968), citado por TADROS & LAARMAN (1976), mostrando que gado no Kazaquistão pode tornar-se infectado no inverno, quando dípteros estavam completamente ausentes na região. Este autor então sugeriu que carrapatos ixodídeos poderiam desempenhar um papel na transmissão do parasito ao gado.

Segundo FAYER & LEEK (1979), não são conhecidos artrópodes vetores participando da disseminação de *Sarcocystis* entre hospedeiros intermediários; além disto, pelo volume de sangue que artrópodes vetores podem transmitir mecanicamente, a possibilidade de que tais vetores estejam envolvidos na transmissão destes parasitos, tem de ser estudada.

#### 2. 7. 5. POTENCIAL COMO ZOONOSE

Por causa do pantropismo dos esquizontes de *Sarcocystis* no corpo dos animais domésticos, a marcada patogenicidade de algumas espécies, na sarcocistose aguda, e o fato de que agora é conhecido que o homem pode eliminar oocistos e esporocistos de *Sarcocystis* após comer carne bovina ou suína crua ou mal passada, este protozoário assumiu um novo significado veterinário e médico (MARKUS, 1978).

Referindo-se ao assunto, DUBEY & FAYER (1983) comen-

tam que diferentes resultados foram obtidos quando carne bovina e suína infectadas com *Sarcocystis* foram dadas a voluntários humanos; náusea, dor estomacal e diarreia apareceram dentro de 3 a 6 horas após ingestão da carne bovina, e estes sintomas foram mais pronunciados e mais graves após ingestão de carne suína mal passada; estes sintomas semelhando toxicose continuaram por 48 horas, e média dor estomacal e diarreia foram associadas com eliminação de esporocistos de *Sarcocystis* nas fezes, durante a 2ª e 3ª SPI. A extensão da doença clínica resultante da ingestão de carne infectada com *Sarcocystis* entre humanos não tem sido documentada, parecendo provável variar significativamente com preferências culturais e dietéticas.

## 2. 7. 6. PREVALÊNCIA

### a) HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO

Protozoários do gênero *Sarcocystis* têm sido encontrados em músculos estriados (esquelético e cardíaco) de alta percentagem de bovinos através do mundo (KALLAB, 1966; CARRO et al., 1971; LEVINE, 1973; KRUIJF et al., 1974; MUNDAY et al., 1975; BOCH et al., 1978; FASSI-FEHRI et al., 1978). No Brasil as observações feitas até aqui aparentemente não são diferentes, pois GOMES & LIMA (1982) verificaram a frequência de 95.8% de *Sarcocystis* sp. em fragmentos musculares de 168 bovinos provenientes de várias regiões do Estado de Minas Gerais.

## b) Hospedeiro Definitivo

Trabalhos conduzidos no Brasil fazem referência apenas à frequência de *S. cruzi* em pesquisas de esporocistos em fezes de cães alimentados com coração bovino (OGASSAWARA et al., 1977/1978).

OGASSAWARA et al., (1980) examinando fezes de 100 gatos de distintas raças, idades, de ambos os sexos e de diferentes áreas da Cidade de São Paulo, encontraram 9% de animais positivos para *Sarcocystis* sp., e PEREIRA JUNIOR & BITENCOURT (1981) realizando 10475 exames de fezes no Rio de Janeiro, encontraram 392 (3.74%) positivos para *S. hominis*.

## 2. 7. 7. IMUNOLOGIA E SOROLOGIA

### a) Relações Imunológicas do *Sarcocystis*

Imunidade cruzada entre *Sarcocystis* e outros coccídios tipo *Isospora* não foi demonstrada (MARKUS, 1978), e quando gatos que estavam eliminando esporocistos de conhecida espécie de *Sarcocystis* foram super-infectados com *Toxoplasma*, resultou na produção de oocistos deste parasito (PIEKARSKI & WITTE, 1970; FRENKEL, 1973); ainda, gatos que eram imunes a *Toxoplasma* e que previamente tinham sido infectados com *Hammondia*, foram suscetíveis a *Sarcocystis*, como foi um gato que previamente tinha sido infectado com o que aparentemente era uma espécie de *Besnoitia* (RUIZ & FRENKEL, 1976). Infecção prévia de carnívoros com *Isospora* spp. parece não conferir imunidade a *Sarcocystis* (ROMMEL et al.,

1972; HEYDORN & ROMMEL, 1972a); inversamente, infecção prévia de gatos com *Sarcocystis* bovino não torna os animais, imunes a subsequente infecção com *I. felis* (*C. felis*) (MARKUS, 1978).

Soros de pessoas passando *I. hominis* (*S. hominis*) foram testados pelo teste do corante para *Toxoplasma* (LAARMAN & Mas BAKAL, 1971) e teste indireto de anticorpos fluorescentes (TIAF) (ARIEETAY & PIEKARSKI, 1976; MARKUS, 1978), porém, reação cruzada com *Toxoplasma* não foi observada. Vários outros autores incluindo MARKUS (1978), MUDAY et al. (1975), ARYEETAY & PIEKARSKI (1976), RUIZ & FRENKEL (1976), FRELIER et al. (1977) e LUNDE & FAYER (1977) também falharam para encontrar qualquer reatividade cruzada entre *Sarcocystis* e *Toxoplasma*, em vários testes sorológicos.

Alguns baixos títulos obtidos no TIAF, quando antígeno *Sarcocystis* foi testado com soro de camundongo positivo para *Besnoitia* (RUIZ & FRENKEL, 1976), pode representar ligeira antigenicidade comum. Também TADROS & LAARMAN (1976) obtiveram forte reação cruzada entre *Sarcocystis* e *Frenkelia*, no mesmo teste, porém, nenhuma reação cruzada com *Toxoplasma*. Tanto *Sarcocystis* como *Frenkelia* tiveram ligeira afinidade a *Besnoitia*. Os mesmos autores demonstraram que diferentes espécies de *Sarcocystis* repartem antígenos.

DUBEY & FAYER (1983) comentam que as altas taxas de prevalência (75 a 100%) de infecção com *Sarcocystis* em animais de fazenda, sugerem que o parasito é bem tolerado pelo hospedeiro intermediário; entretanto, doença clínica resultou quando grandes números (10 mil ou mais) de esporocistos foram ingeridos de uma vez. Idade do animal não parece ser um fator

na resistência à doença, processo agudo e severo tendo sido observado em bezerros jovens, natural e experimentalmente infectados. Vacas múltiparas, algumas com cerca de 7 anos de idade foram tão suscetíveis quanto bezerros jovens, imunidade passiva via transferência de anticorpos através de colostro parece não proteger da sarcocistose clínica nem fornece imunidade protetora entre diferentes espécies de *Sarcocystis* no mesmo hospedeiro, isto é, infecção de bezerros com *S. hirsuta* não protege contra subsequente infecção com *S. cruzi*, e infecção de baixo grau (natural ou experimental) não protege contra o desenvolvimento de doença aguda após uma infecção com um grande número de esporocistos.

#### b) Imunidade a Reinfecções

Possível imunidade adquirida de curta duração, em doninhas, a *Sarcocystis* de vole (arganaz), foi observada; contudo, o parasito normalmente parece estimular pouca ou nenhuma imunidade a hospedeiro carnívoro, que pode tornar-se infectado repetidamente (TADROS & LAARMAN, 1976). Estes mesmos autores tiveram sucesso em reinfestar cães repetidamente com *Sarcocystis* cardíaco bovino, sem aparente redução na quantidade dos esporocistos excretados. Observações similares sobre o mesmo parasito foram feitas por FAYER (1974b), enquanto reinfecções de gatos com *Sarcocystis* ovino foram estudadas por ROMMEL et, al., (1972).

Portadores humanos de *I. hominis* (*S. hominis*) podem excretar esporocistos por longos períodos (vários anos), o que

sugere repetida reinfecção pela fonte de carne; por outro lado, repetidos exames fecais de 2 pessoas que comiam carne bovina crua como dieta regular diária, falharam em revelar esporocistos de *S. hominis*, sugerindo-se a possibilidade de que uma dose diária regular de *Sarcocystis* possa ter muito mais sucesso em estabelecer imunidade protetora do que grandes doses separadas por intervalo de tempo (LAARMAN, 1964). O desenvolvimento de imunidade protetora pelo hospedeiro intermediário, contra re-infecção com os estágios tissulares generalizados e musculares, necessita mais elucidção. É, contudo, seguro especular que, devido ao contato imediato entre os estágios esquizogônicos e os órgãos internos durante a fase pré-sarcocística e a prolongada persistência de sarcocistos viáveis no músculo, os estágios no hospedeiro intermediário são provavelmente mais imunogênicos do que os estágios gametogênicos, que são restritos ao trato intestinal de hospedeiro final; ainda, o efeito de sarcocistos rompidos, em infecções de longa duração no hospedeiro intermediário, sobre o aumento da imunidade protetora contra nova infecção, é um fascinante tópico para futura investigação (TADROS & LAARMAN, 1976).

ROMMEL et al. 1972) deram sarcocistos macroscópicos de ovino a 8 gatos, depois da eliminação de esporocistos na 1ª infecção ter cessado; nenhum dos animais foi imune, e todos passaram esporocistos após 12 a 16 dias, por 25 a 47 dias.

Sete cães foram re-infectados com *Sarcocystis* bovino, após cessação da excreção de esporocistos (HEYDORN & ROMMEL, 1972); eles eliminaram esporocistos por várias semanas, começando 10 a 12 dias após a 1ª refeição de esôfago moído, no ex-

perimento de re-infecção.

Voluntários humanos com infecções patententes de *Sarcocystis* bovino foram super inectados sem dificuldade (ARYEETAY & PIEKARSKI, 1976), e reinfecções de pessoas, com *Sarcocystis* bovino e suíno, foram possíveis (HEYDORN, 1977b).

### c) Sorologia da Sarcocistose

#### I. INFEÇÃO INTESTINAL

Bezerros (feto e pré-colostro) foram sorologicamente negativos a antígenos *Sarcocystis*, e níveis de anticorpos detectados no colostro foram mais altos do que no soro bovino materno; ainda, bezerros que receberam colostro desenvolveram anticorpos circulantes passivos por 4 a 6 semanas, após o que se converteram em negativos (TADROS & LAARMAN, 1976).

Anticorpos detectados pelo TIAF não apareceram no soro de um gato experimental com infecção intestinal por uma espécie de *Sarcocystis* bovino (MARKUS, 1978), enquanto títulos de TIAF em gatos, depois de ingestão de camundongos pesadamente infectados com *S. muris*, foram 1:512 a 1:4000, como opostos a 1:16 ou 1:32 antes da infecção (RUIZ & FRENKEL, 1976).

Quatro cães que tinham eliminado grande número de esporocistos de uma espécie de *Sarcocystis* bovino, não tiveram anticorpos séricos a *Sarcocystis* no teste de hemaglutinação indireta (HAI) (LUNDE & FAYER 1977), e MARKUS (1978) acredita que produção de anticorpos pelo hospedeiro não seja estimulada ape-

nas pela presença de estágios sexuais não proliferantes de *Sarcocystis* no intestino. Esta sugestão é suportada pelo fato de que uma falta de reação celular foi observada no intestino de carnívoros infectados com várias espécies de *Sarcocystis* (FAYER, 1974b; MUNDAY et al., 1975).

## II. INFECÇÃO EXTRA-INTESTINAL

Ovinos jovens e adultos desenvolveram anticorpos para fixação de complemento, entre 15 a 47 dias depois de receberem esporocistos de gatos ou cães (MUNDAY & RICKARD, 1974; MUNDAY et al., 1975), e anticorpos circulantes mostrados pelo TIAF, 19 apareceram entre 28 a 35 dias, em bezerros que tinham recebido 250 mil esporocistos de cães (NEDJARI et al., 1976), títulos de 1:40 a 1:640 sendo encontrados, dependendo do tempo que tinha passado depois da inoculação. Títulos ao TIAF, de 1:512 a 1:4000 foram obtidos depois da inoculação de camundongos (soro-negativos antes da infecção) com esporocistos de *S. muris* de gatos (RUIZ & FRENKEL, 1976).

Alterações nas proteínas séricas e imunoglobulinas em resposta à infecção de bezerros com esporocistos de cães, foram estudadas por FAYER & LUNDE (1977), observando ainda estes autores que o teste de difusão em agar-gel não foi tão sensível quanto a HAI na detecção de anticorpos a *Sarcocystis* em bovinos experimentalmente infectados. Títulos séricos na HAI começaram a subir 30 a 45 dias depois da inoculação oral com 200 mil esporocistos, e alcançaram níveis de 1:39000. Concluiu-se que títulos à HAI de 1:1458 ou maiores poderiam sugerir sarcocistose

aguda em bovinos, enquanto títulos de 1:486 ou menores poderiam indicar provável infecção subclínica não significativa.

Títulos de anticorpos à HAI em vacas de 5 a 8 anos de idade e que receberam esporocistos de cães, aumentaram ligeiramente após infecção (FAYER et al., 1976b), e esse mesmo teste foi avaliado num surto de sarcocistose clínica em bezerros leiteiros, e foi mostrado ser útil (FRELIER et al., 1977).

#### d) Sorologia da Sarcocistose Humana

Amostras de soros humanos selecionados ao acaso examinados no TIAF, tendo como antígeno *Sarcocystis* bovino (de cistos musculares), reagiram com um título aparentemente positivo até uma diluição de 1:1024 (MARKUS, 1978). Subseqüentes pesquisas usaram antígenos de cistos musculares de origem bovina e ovina ou esporozoítas de *Sarcocystis*, no TIAF, e TADRUS & LAARMAN (1976) relatam que títulos positivos desconhecidos carreadores de *S. hominis*, são mais altos do que aqueles de pessoas não eliminando esporocistos. ARYEETAY & PIEKARSKI (1976), em contraste, não observaram qualquer diferença nos títulos de anticorpos entre pessoas controles e voluntários experimentalmente infectados com *Sarcocystis* de bovino, e os títulos não aumentaram após infecção intestinal.

Numa recente revisão da sarcocistose muscular no homem (JEFFREY, 1974), foi sugerido que o teste de fixação de complemento (TFC) poderia ser de valor (MCGILL & GOODBODY, 1957-citado por MARKUS, 1978) na distinção entre toxoplasmose e

sarcocistose, em casos onde estudo morfológico de pequenos cistos, nos músculos, do diagnóstico equívoco. Se anticorpo a *Sarcocystis* é verdadeiramente formado no homem, segue-se que testes usando antígeno *Sarcocystis* no soro de pessoas tendo cistos musculares não identificados, de *Toxoplasma*, poderiam ser positivos para *Sarcocystis*, por causa de uma passada ou concomitante infecção intestinal com *S. hominis*. Nos animais domésticos de carne, só a fase extra-intestinal do ciclo vital de *Sarcocystis*, é completada; porém, no homem, tanto infecções tissulares (raras) como intestinais (muito comuns), ocorrem e um resultado positivo num teste serológico para sarcocistose numa pessoa com cistos musculares não identificados poderia, desta forma, ser difícil de interpretar.

A probabilidade de que um teste para toxoplasmose seja positivo de qualquer modo é boa, já que agora está bem estabelecido o fato de que anticorpos a *Toxoplasma* são encontrados em muitas pessoas sadias. Por isto, somente um teste negativo para toxoplasmose poderia ajudar a excluir este protozoário num paciente tendo cistos musculares não identificados. Contudo, a ausência de demonstrável anticorpo a *Toxoplasma* não pode ser tomada como prova absoluta de que o parasito não está presente nos tecidos (REMINGTON & ARAÚJO, 1974- citado por MARKUS, 1978).

Ainda que muitas pessoas tivessem aparentes anticorpos séricos a *Sarcocystis*, no TIAF (MARKUS, 1978), este não foi o caso quando antígeno *Sarcocystis* ovino foi usado no TFC

(BORDJOSKI & CONIC, 1974- citado por MARKUS, 1978; BORDJOSKI et al., 1975- citado por MARKUS, 1978), mas como *Sarcocystis* de ovino parece não infectar o homem, este antígeno pode não ter sido adequado.

Antigenicidade comum entre espécies relacionadas ou não de *Sarcocystis* foi demonstrada; entretanto, mais estudos a respeito precisam ser realizados (TADROS & LAARMAN, 1976), e a adaptação de organismos em cistos musculares, como antígenos para detectar infecções intestinais, e de esporozoítos como antígenos para fornecer informação acerca de infecções extra-intestinais, ainda tem de ser estabelecida.

Métodos de preparo de antígenos e de execução de vários testes sorológicos deveriam ser comparados (MARKUS, 1978).

Anticorpos contra *Sarcocystis* não foram detectados no soro do leite de vacas; assim, antígenos termoresistentes no leite podem, na opinião de TADROS & LAARMAN (1976), dar uma explicação para a reação positiva nos vegetarianos.

## 2. 8. DIAGNÓSTICO

### 2. 8. 1. HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO

#### a) Clínico

Vários autores afirmam que o diagnóstico clínico não freqüente, apesar da sarcocistose bovina ser observada em bovinos de todo o mundo (FRELIER et al., 1977; LEVINE, 1977; BLOOD et al., 1979). Entretanto, sob condições experimentais obser-

vam-se sinais clínicos generalizados incluindo miocardite (FAYER & LUNDE, 1977), anemia, anorexia, perda de peso (FAYER & JOHNSON, 1973/1974; FAYER et al., 1973; JOHNSON et al., 1975; MUNDAY et al., 1975; FRELIER et al., 1977; GILES et al., 1980; FAYER & FRASSE, 1981; GOMES & LIMA, 1982), vacas e ovelhas podendo abortar (FAYER et al., 1976).

Um diagnóstico presuntivo de sarcocistose bovina aguda é feito com base nos sinais clínicos de anemia, anorexia, febre, aumento de linfonodos, excessiva salivação, aborto e perda de pelos, particularmente da pontada cauda (DUBEY & FAYER, 1983).

#### b) Laboratorial

Valores normais (de referência) da série vermelha do hemograma (MOLLERBERG et al., 1975), do hemograma completo (SCHALM et al., 1975; PINHEIRO, 1985) e de enzimas séricos (KANEKO, 1980) são encontrados nas Tabelas 1 e 4, no apêndice, nas respectivas páginas 177 e 180.

#### bi) Hematologia Clínica

COSTA VAL et al., (1971) examinando cerca de 200 hemogramas de bezerros, desde o nascimento até 6 meses de idade, observaram diferenças nos resultados, entre raças e idades dos animais, e SCHALM et al. (1975) indicam que vários fatores ambientais e fisiológicos influenciam a composição do sangue, afirmando ainda que, devido ao fato de os linfócitos serem geralmente

mais do que 2 vezes mais numerosos do que os neutrófilos no sangue periférico, na saúde, nos bovinos, as respostas à doença, observadas nas contagens total e diferencial dos leucócitos, são tais que a contagem total não reflete a severidade da doença, particularmente no estágio inicial agudo.

MAHRT & FAYER (1975) relatam que bezerros infectados com 220 mil esporocistos de *S. fusiformis* (*S. cruzi*) de cães, estavam em boa saúde e tiveram níveis hematológicos e enzimático-séricos normais por 3 SPI, porém, entre a 3<sup>a</sup> e a 4<sup>a</sup> SPI, os animais tiveram anemia oligocitêmica, que progrediu em severidade até os bezerros entrarem em decúbito e morrerem, 1 no 29<sup>o</sup> e outros 2 no 34<sup>o</sup> DPI, observando-se que o sangue coletado dos bezerros, uns poucos dias antes da morte, era bastante aquoso; hematócrito (VG), níveis de hemoglobina (Hb) e número de eritrócitos (Hc) estavam reduzidos nestes bezerros infectados, e as diferenças entre os grupos experimento (E) e controle (C) para estes parâmetros foram estatisticamente significantes nos dias 27, 30 e 30, respectivamente. Por outro lado, a contagem diferencial dos leucócitos para E e C estiveram dentro dos limites normais até 31-33 DPI, quando houve desvio à esquerda degenerativo.

Descrevendo experimentação em que vacas, e bezerros de 5 a 6 meses e meio de idade foram inoculados com 150 mil a 1 milhão de esporocistos de *S. fusiformis* (*S. cruzi*) de cães, FAYER et al. (1976) relatam que os animais tinham VG inicial normal de 31 a 41%, valores que caíram para menos de 16-31% entre a 4<sup>a</sup> e a 10<sup>a</sup> SPI, e ainda que o VG então aumentasse, ne-

nhum animal ganhou o nível inicial; acrescentam que a redução na contagem de hemácias foi 1° observada para as vacas, no 20° DPI, o número de células permanecendo no nível normal baixo ( $5 \times 10^6/\mu\text{l}$ ) ou abaixo do normal (menos de  $2.3 \times 10^6/\mu\text{l}$ ) através do experimento.

FRELIER et al. (1977) descrevem que, num surto de sarcocistose em novilhas leiteiras, avaliação hematológica e biópsia de medula óssea indicaram presença de anemia macrocítica hipocrônica com resposta (VG de 16%); 6 novilhas tinham anemia marginal (VG médio de 28% - 25 a 30%), e os autores concluem dizendo que os achados clínicos e hematológicos nestes casos naturais de sarcocistose lembram muito aqueles reportados na doença experimental, por JOHNSON et al. (1975).

Inoculando *S. cruzi* em bezerros de 3 a 6 meses de idade e pesando em média 80 Kg, FAYER & LYNCH (1979) observaram número de eritrócitos reduzirem, especialmente durante as semanas 5<sup>a</sup>, 6<sup>a</sup> e 8<sup>a</sup> PI; os leucócitos também estavam reduzidos, particularmente durante a 5<sup>a</sup> SPI, contudo, os leucócitos já estavam baixos no começo do experimento, e assim o efeito pode ter sido devido, em parte, ao menor número de leucócitos nestes animais; valores de Hb também estavam reduzidos, particularmente durante a 6<sup>a</sup> SPI, enquanto que contagens de plaquetas e níveis de ferro sérico não foram afetados. Por estes resultados os autores indicam que *S. cruzi* tem vários efeitos fisiológicos específicos sobre bezerros, mais do que aqueles induzidos por estado nutricional, incluindo evidência metabólica de má função renal, catabolismo muscular, indução precoce de

gliconeogênese, e redução da contagem de eritrócitos, de leucócitos e teores de Hb.

LEEK & FAYER (1980) comentam que cordeiros com 8 a 16 semanas foram inoculados com 100 mil esporocistos de *S. ovicanis*; (*S. Tenella*); no dia zero e semanalmente (à exceção das semanas 3 a 5, quando foi feita 2 vezes por semana) foram colhidas amostras de sangue para exames hematológicos; os valores médios de VG não variaram significativamente até 21 DPI, entretanto, de 28 a 83 DPI os animais tiveram VG significativamente mais baixo, e os valores médios de Hb paralelaram um tanto aqueles de VG.

Em nosso meio, MARQUES Jr et al. (1983) observaram diminuição progressiva dos valores de hemácias, Hb e VG, a partir da 2ª SPI, atingindo valores de 50% do normal entre a 6ª e a 8ª SPI, o que também foi observado por FAYER E JOHNSON (1975), MAHRT & FAYER (1975) e FAYER & PRASSE (1981); índices hematológicos absolutos indicaram anemia normocítica normocrônica, semelhante à encontrada em infecção experimental realizada pelos autores anteriormente citados, e em casos de infecção natural diagnosticados por GILES et al. (1980) e COLLERY & WEAVERS (1981). Relatam ainda MARQUES Jr et al. (1983), que apesar da variação no número total de leucócitos e nas contagens diferenciais nos exames semanais, observou-se que os valores encontrados estiveram sempre dentro dos limites normais, o que também foi encontrado por MAHRT & FAYER (1975) e por FAYER & PRASSE (1981), e acrescentam que recuperação do estado geral a partir da 8ª SPI, com retorno dos valores hematológicos aos níveis normais em 1 animal, foi ob-

servado, apontando também que 1 outro animal, entretanto, apresentou agravamento do quadro clínico e seus valores hematólogicos apresentaram aumento aparente a partir da 7<sup>a</sup> SPI, provavelmente em decorrência de hemoconcentração.

### bii) Bioquímica Clínica

Analisando o soro sanguíneo de bovinos indianos mestiços de 1 a 6 anos de idade, em Igarapé (MG), BOTELHO (1977) observou valores de proteína total (PT) variando entre 7,96 e 9,22 g/dl, enquanto que para bezerros mestiços, no Rio de Janeiro, NASCIMENTO & PINHEIRO (1981) observaram os valores de  $7,06 \pm 2,82$  g/dl.

Alterações nos níveis de PT, glicose (GLI), nitrogênio uréico sanguíneo (NUS) e fosfatase alcalina (PA) não foram significantes em bezerros experimentalmente infectados com 220 mil esporocistos de *S. fusiformis* (*S. cruzi*) de cães (MAHRT & FAYER, 1975), enquanto FRELIER et al. (1977) apontam, num surto de sarcocistose em novilhas leiteiras, que lactato desidrogenase (LDH-451 UI) e aspartato amino transferase (ASAT-215, UI) séricas estavam elevadas, e o nível de albumina sérica (A) estava abaixo do normal (1.8 g/dl), lembrando estes achados, aqueles descritos por JOHNSON et al. (1975) e MAHRT & FAYER (1975) para a doença em condições experimentais.

FRELIER et al. (1979) infectando bezerros com 200 mil a 1 milhão de esporocistos de *S. cruzi* observaram alterações hematólogicas que foram acompanhadas de aumentos nas atividades

de enzimas associados com dano de fibra muscular (creatina fosfoquinase-CPK, ASAT e LDH); clinicamente estes aumentos coincidem com lesões de miopatia degenerativa (MAHRT & FAYER, 1975).

Em análises enzimáticas de cordeiros com 8 a 16 semanas, inoculados com 100 mil esporocitos de *S. ovicanis* (*S. tenella*), LEEK & FAYER (1980) observaram que níveis de LDH não variaram significativamente até 31 DPI; entretanto, os valores foram significativamente mais altos nos dias 31, 35, 42, 49 e 63 PI; as alterações nos níveis de ASAT paralelaram um tanto aquelas de LDH, valores significativamente mais altos ocorrendo nos dias 21, 24, 28, 31, 35, 42, 49, 56 e 63 PI; quanto às proteínas séricas, os níveis foram reduzidos significativamente durante o período agudo da doença, nos dias 28, 31 e 35 PI; aumentaram rapidamente após o período agudo e alcançaram níveis significativamente altos aos 56 e 63 DPI.

Referindo-se as dosagens semanais de PT, MARQUES Jr et al. (1983) observaram diminuição gradativa da 3<sup>a</sup> à 7<sup>a</sup> SPI, enquanto MAHRT & FAYER (1975) utilizando animais de 60 dias de idade, não encontraram variação, e PRASSE & FAYER (1981) utilizando animais de 4 meses de idade, observaram diminuição apenas entre a 3<sup>a</sup> e a 4<sup>a</sup> SPI, a partir de quando os valores retornaram aos níveis normais. Ainda quanto às proteínas, PRASSE & FAYER (1981) observaram diminuição gradativa da taxa de A, independente da PT ter retornado ao normal, fato que também foi observado por MARQUES Jr et al. (1983).

KANEKO (1980) comentando a respeito de enzimas e distúrbios neuromusculares afirma que CPK é a mais usada na de-

terminação de doenças neuromusculares dos animais domésticos. O autor diz que elevações na atividade do enzima têm sido observadas na deficiência de vitamina E-selênio, bem como na miodegeneração devida à ingestão de plantas tóxicas, em bovinos, acrescentando que as elevações são mais pronunciadas nas miopatias do que nas neuropatias, porque mionecrose é uma alteração mais prevalente em miopatias. Comenta ainda o autor que ASAT também é utilizada para avaliar distúrbios neuromusculares, e elevações têm sido observadas na doença do músculo branco em cordeiros, bovinos e suínos, e miodegeneração devida à ingestão de plantas tóxicas, em bovinos. Mas, ainda que o uso de ASAT tenha provado ser útil como auxiliar diagnóstico, falta a enzima organoespecificidade, já que em adição à alta concentração nos músculos cardíaco e esquelético, atividades também são altas no fígado, bem como em outros órgãos.

Comentando sobre LDH, ainda o mesmo autor diz que elevações têm sido observadas na deficiência de vitamina E-selênio em bovinos e suínos, também tendo sido reportadas numa variedade de desordens hepáticas. Desta forma, a menos que análise isoenzimática seja utilizada, os níveis das elevações de LDH não são organoespecíficos.

Em relação às desordens hepáticas, ainda KANEKO (1980) comenta que atividade de ASAT foi encontrada estar elevada na necrose experimental do órgão em equinos, bovinos, suínos, cães e gatos, porém, também elevada em doenças envolvendo os sistemas musculares cardíaco (infarto miocárdico) e esquelético (distrofia muscular azotúrica) nestas espécies, comentando ainda

o autor que considerável atividade de ASAT foi encontrada em quase todos os tecidos analisados em mamíferos, enquanto alanina amino transferase (ALAT) foi observada apenas em células parenquimatosas hepáticas de canino, felino e homem, e visto que fígado de equinos, bovinos, ovinos e suínos, adultos, não contém significativo nível de ALAT, só muito pequenas elevações neste enzima ocorrem na necrose hepática nestas espécies. Assim, significantes elevações na atividade de ALAT são hepatoespecíficas apenas em pequenos animais e primatas.

Outro enzima comentado por KANEXO (1980) é a gama glutamil transferase (Y-GT), afirmando o autor que estudos nos animais têm sugerido que atividade desta enzima, diferente de PA, não é significativamente elevada na necrose hepática, e que a Y-GT pode bem ser o enzima de escolha para medir o grau de colestase intra ou extra-hepática, e acrescenta que distintas vantagens são aparentes no uso desta enzima na colestase em ruminantes, já que níveis de PA variam grandemente e não são úteis no diagnóstico; ainda mais, visto que Y-GT está ausente nos tecidos esqueléticos, animais com desordens ósseas sempre exibem valores normais, e além disto, Y-GT origina-se no tecido biliar hepático e não é superproduzida em doenças hepáticas.

A respeito deste mesmo enzima, RIBEIRO & NASCIMENTO (1981), analisando amostras de soro sanguíneo de bezerros do Rio de Janeiro, com o objetivo de medir a atividade de Y-GT, observaram valores de  $17,2 \pm 10,1$  U/l, enquanto BOTELHO et al. (dados não publicados), estudando a atividade do enzima em bovinos de abate, Rio de Janeiro, observaram valores 7,72 a 16,21, com níveis

médios de 12,03 UI/l.

DUBEY & FAYER (1983) afirmam que níveis séricos de LDH, desidrogenase do sorbitol (DS), CPK, NUS e bilirrubina ajudam no estabelecimento do diagnóstico, sendo as determinações de DS e NUS especialmente úteis.

### biii) Sorologia

Segundo O'DONOGHUE & WEYRETER (1983), desde que foi reconhecido que *Sarcocystis* pode causar doença severa e mesmo fatal em bovino, ovino e suíno, tem havido crescente procura de um teste diagnóstico específico para o diagnóstico clínico da infecção causada por estes parasitos, afirmando os autores que, mais do que colocar uma pesada segurança no método clássico de detectar estágios parasíticos em biópsias ou material de necrópsia (que obviamente não é praticável em todas as situações clínicas), tentativas têm de ser feitas para demonstrar anticorpos específicos do hospedeiro, dirigidos contra o parasito, e ainda que algum sucesso tenha sido reportado no imunodiagnóstico de infecções císticas tissulares latentes (O'DONOGHUE, 1978/1981; REITER et al., 1981), muitos testes imunoserológicos têm falhado em detectar anticorpos específicos bem cedo no curso de infecções para permitir o diagnóstico da doença aguda (chamada sarcosistose aguda). Recentemente algum sucesso foi obtido no sorodiagnóstico de infecções agudas em ovinos e camundongos experimentalmente infectados, pelo uso de um ensaio imunoabsorvente da imunoglobulina M ligada a enzima (O'DONOGHUE

& WEYRETER, 1982); contudo, este teste não foi ajustado para sorodiagnóstico de infecções agudas em todas as espécies de animais hospedeiros, visto que não detectou anticorpos bem cedo no curso de infecções em suínos (O'DONOGHUE & WEYRETER, 1983).

Várias modificações de ensaios imunoenzimáticos têm sido sucessivamente aplicadas na detecção de antígenos em infecções víricas e bacterianas (O'BEIRNE & COOPER, 1979), bem como em infecções parasitárias, como com *Toxoplasma* (van KNAPEN & PANGGABEAN, 1977) e *Schistosoma* (FERREIRA et al., 1979). Um ensaio imunoenzimático (DAS-ELISA) foi então desenhado e testado por O'DONOGHUE & WEYRETER (1983); anticorpos específicos a vários antígenos *Sarcocystis* spp. foram isolados de soro imune de coelho e usados no ensaio para detectar antígenos circulantes de *Sarcocystis* em animais experimentalmente infectados. Para isso, 2 modelos parasito-hospedeiro, diferindo marcadamente no grau de patogenicidade para o hospedeiro intermediário, foram examinados: *S. miescheriana* - altamente patogênico (ZIELASKO et al., 1981) e *S. muris* - relativamente apatogênico (BLEWASKA, 1981), observando os autores, deste ensaio, que DAS-ELISA provou ser altamente específico, e sensível pelo menos para facilitar não apenas o imunodiagnóstico da sarcocistose clínica, porém, também infecções que foram subclínicas em natureza, durante a fase aguda da infecção, e concluíram que os ensaios em suínos e camundongos foram sensíveis o bastante para detectar significantes níveis de antigenemia ocorrendo durante infecções letais e não letais acompanhadas de doença clínica e também durante infecções subclínicas. No caso de infecções letais, e provável

que o diagnóstico poderia ser realizado rapidamente, pelo menos para permitir um suficiente regime de tratamento quimioterápico, devido ao intervalo de tempo relativamente curto envolvido entre a apresentação dos sintomas da doença e a morte do hospedeiro; contudo, muito mais informação epidemiológica é requerida para estabelecer o real significado de infecções por *Sarcocystis*, já que doença clínica não letal causada por certas espécies do parasito tem sido implicada em perdas na produção e na reprodução (FAYER, 1980). Uma técnica específica permitindo o diagnóstico diferencial da infecção aguda por *Sarcocystis* é requerida, e ensaios imunoenzimáticos para a detecção de antígenos circulantes pode satisfazer esta necessidade; contudo, extensos estudos são primeiramente necessários, para determinar se os ensaios podem ser usados para detectar antígenos circulantes em outras espécies animais hospedeiras, infectadas com outras espécies de *Sarcocystis* (O'DONOGHUE & WEYRETER, 1983).

DUBEY & FAYER (1983) dizem que testes sorológicos incluindo HAI e ELISA têm sido úteis no laboratório; eles parecem ser específicos, porém, sua sensibilidade no diagnóstico da infecção aguda precisa ser aumentada; antígeno para este teste preparado por lise de bradizoítas liberados de cistos, e no presente não existe disponível comercialmente, e afirmam ainda que diagnóstico definitivo de sarcocistose aguda de ocorrência natural é difícil, porque na ocasião em que os animais tornam-se doentes ou morrem, os esquizontes já desapareceram, mas o reconhecimento das lesões ajuda no diagnóstico. Assim, hemorragia

(especialmente nos músculos) não acompanhada de inflamação é característica de sarcocistose aguda).

### c) Anátomo-Histopatológico

A infecção por *Sarcocystis* é determinada quase que exclusivamente pelo achado de cistos intramusculares em secções histológicas, ou seu conteúdo em preparações de digestão de musculatura (FAYER & JOHNSON, 1974). O diagnóstico da sarcocistose aguda é mais difícil, já que as manifestações clínicas só recentemente têm sido reportadas (JOHNSON et al., 1975; MAHRT & FAYER, 1975), e o curto estágio parasítico (esquizonte) responsável por doença aguda pode ser impossível de ser encontrado em secções histológicas (FAYER et al., 1976).

A técnica da digestão péptica descrita por JACOBS & MELTON (1957) mostrou ser, no bovino, um método preciso e seguro para a pesquisa de sarcosporídeos (GOMES & LIMA, 1982), e estes mesmos autores, com o objetivo de fazer a diferenciação das espécies de *Sarcocystis* presentes nas amostras de tecidos bovinos fizeram mensurações nas paredes, encontrando cistos medindo em média 0.5, 4.8 e 5.8 micrômetros. GESTRICH et al. (1975) utilizando técnica semelhante identificaram 3 espécies de *Sarcocystis*, concluindo que os cistos cujas paredes mediam menos de 0.5 micrômetros deveriam ser identificados como pertencentes à espécie *S. bovicanis* (*S. cruzi*), e aqueles cistos de paredes espessas, possuindo em média 4.7 e 5.8 micrômetros de espessura, deveriam ser identificados como pertencentes às espé-

cies *S. bovifelis* (*S. hirsuta*) e *S. bovihominis* (*S. hominis*), respectivamente.

FRELIER et al. (1979) afirmam que, de importância diagnóstica é a presença de caquexia, anemia com resposta e linfoadenopatia, além de anticorpos a *Sarcocystis* e desenvolvimento de *S. cruzi* em vários tecidos, esclarecendo que estas anormalidades, só, não são diagnósticas, contudo, os dados combinados caracterizam os sinais e lesões da doença.

## 2. 8. 2. HOSPEDEIRO DEFINITIVO

Cães que receberam carne infectada com *Sarcocystis* subsequentemente eliminaram esporocistos coccidianos (cada um com 4 esporozoítas) em suas fezes (HEYDORN & ROMMEL, 1972; FAYER & LEEK, 1973; MAHRT, 1973; FAYER, 1974).

HEYDORN & ROMMEL (1972) encontraram que cães que receberam esôfago bovino infectado com *S. fusiformis* (*S. cruzi*), começaram a passar esporocistos 9 a 10 DPI e tiveram infecção patente por 57 a 71 dias. O período patente mais longo neste caso pode ter sido um resultado da produção de uma infecção muito pesada, por alimentar os cães com carne infectada por 4 dias consecutivos, ou ainda, diferenças podem ter resultado de diferenças específicas ou de linhagem no material infeccioso obtido de bovino.

Num estudo conduzido por JOHNSON et al. (1975), as reinfecções foram caracterizadas por períodos patentes mais longos do que a infecção original, o que foi acreditado ser devi-

do a um maior número de parasitos na 2ª ingestão de carne infectada.

OGASSAWARA et al. (1978) comentam que cães que receberam 1 vez, coração bovino proveniente de matadouro, começaram a eliminar esporocistos nas fezes a partir do 10º DPI, e 2 deles mantidos em observação eliminaram esporocistos em suas fezes por um período de 59 dias. No mesmo estudo, os cães que receberam, durante 6 dias consecutivos, coração bovino adquirido em feira livre, também eliminaram esporocistos a partir do 10º dia após a 1ª administração, e continuaram a eliminar por 76 a 89 dias; observou-se então que tanto a administração única (coração bovino procedente de matadouro) como a múltipla (coração procedente de feira livre) revelaram que, independente da forma de administração bem como da conservação dos cistos, o período prepatente foi de 10 dias, concordando neste aspecto com as observações de HEYDORN & ROMMEL (1972), anteriormente descritas.

Embora não se tenha uma explicação definitiva para persistência na eliminação de esporocistos, FAYER (1974) sugere, baseando-se em seu experimento, haver diferenças de linhagem e dose infectante de *Sarcocystis*; todavia, TADROS & LAARMAN (1976) afirmam que a localização profunda dos oocistos no tecido intestinal faz com que haja um deslizamento gradual dos mesmos para o lumen intestinal, resultando, conseqüentemente, num período de patência relativamente longo, embora a partir do 10º-12º DPI a eliminação tenha sido intermitente, fato também observado por FAYER (1977), que também verificou que os cães que

receberam cerca de 454 e 569 g de coração bovino naturalmente infectado, eliminaram cerca de 861.000 a 3.764.000 esporocistos por animal, respectivamente, durante 40 dias de observação, constatando ainda grande eliminação de esporocistos 15-30 dias após a ingestão do material infectante.

GOMES & LIMA (1982) administraram coração bovino contendo *S. cruzi* a 3 cães e observaram período prepatente de 10 dias; o maior número de esporocistos foi verificado entre 15 e 30 DPI, o pico foi atingido no 24° e 25° DPI e o número médio de esporocistos eliminados no pico foi de 1.025.000; observaram também que 1 cão que recebeu infecção única eliminou esporocistos em 25 dias, durante 61 dias de período de patência, enquanto 2 outros, que receberam infecções durante vários dias consecutivos, eliminaram esporocitos em 29 e 35 dias, durante um período de patência de 76 e 90 dias, respectivamente. Em outro experimento, 4 cães foram re-infectados com material proveniente dos bezerros infectados experimentalmente com *S. cruzi*, observando-se que os dados relativos a períodos prepatente e patente bem como pico de eliminação de esporocistos, foram semelhantes àquêles da infecção inicial, entretanto, os cães eliminaram, individualmente, cerca de 30 milhões de esporocistos durante 60 dias de observação.

Os esporocistos de *Sarcocystis* diferem daquêles de outros coccídios (MARKUS, 1979) em que: (1) usualmente são eliminados isolados e não dentro de oocistos; (2) estão em geral totalmente esporulados à excreção; (3) o período patenteé marcadamente maior do que em outros coccídios que habitam o intesti-

no, à exceção de *Frenkelia* (ROMMEL et al., 1977), estreitamente relacionado, no presente considerado como um gênero separado.

Evidência histológica indica que oocistos de *Sarcocystis* desenvolvem-se tipicamente abaixo do epitélio intestinal, e a retenção deles subepitelialmente na parede intestinal poderia explicar a persistência de esporocistos nas fezes (MARKUS, 1972). Uma conseqüência do desenvolvimento subepitelial de *Sarcocystis* é que freqüentemente não é possível diagnosticar sarcocistose intestinal crônica pelo exame de fezes (MARKUS, 1978).

FAYER (1974) observou que esporocistos de *Sarcocystis* nas fezes de cães ocorriam isoladamente, porém, ocasionalmente, eram vistos aos pares; não foi determinado, contudo, se os pares eram circundados por uma parede oocística ou estavam meramente alinhados, adjacentes um ao outro. No tempo da passagem, os esporocistos continham 4 esporozoítas e (ou) um corpo residual granular compacto, ou um corpo residual espalhado; nem micrópila nem corpo de Stieda estavam presentes; 20 esporocistos mediram 14.2 a 20.6 X 9.2 a 12.8, com média igual a 15,7 X 9.9 micra.

OGASSAWARA et al. (1977) também fizeram observações quanto aos esporocistos de *Sarcocystis*, anotando as medidas de 13.0 a 16.7 X 10.4 a 11.1, com média igual a 15.0 X 10.8 micra; os esporocistos correspondiam, pela morfologia e dimensões, aos de *S. fusiformis* (*S. cruzi*) descrito por HEYDORN & ROMMEL (1972), em fezes de cães experimentalmente infectados com esôfago de bovino contendo cistos do parasito, e para os quais as medidas

foram dadas como sendo 13.9 a 17.0 X 6.2 a 10.8, com média igual a 15.9 X 8.3 micra. Esporocistos com dimensões de 14.8 a 17.3 X 8.7 a 9.9 com média igual a 16.0 X 9.8 micra foram encontrados em fezes de cães Beagle mantidos em estabelecimento comercial (MAHRT, 1973), concluindo este autor que se tratava de esporocistos de *Sarcocystis*, e admitiu como provável fonte de infecção, o alimento de cães (órgãos de bovinos, administrados crus).

Inoculando oralmente cães com pedaços de carne bovina contendo cistos de *Sarcocystis*, SHIMURA et al. (1981) observaram eliminação de esporocistos de *S. cruzi* nas fezes, os quais tinham as dimensões de 15.0 a 17.5 X 10.0 a 11.0, com a média igual a 16.5 X 10.4 micra (N= 36), enquanto GOMES & LIMA (1982), em 100 esporocistos, observaram as dimensões de 13.9 a 16.5 X 9.1 a 10.8, com média igual a 14.8 X 10.5 micra.

## 2.9. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Em animais que estiveram em pasto com samambaia (*Pteridium aquilinum*), diagnóstico diferencial deve ser feito, devido ao quadro apresentado na intoxicação provocada pela referida planta. Assim, TOKARNIA et al. (1967) observaram: que a intoxicação ocorria somente em animais que estiveram durante várias semanas ou meses em pastos onde havia a planta; que ocorreu somente no inverno (de abril a agosto); que o quadro clínico se caracterizou por febre alta, diátese hemorrágica, erosões e úlceras nas narinas e mucosa do aparelho digestivo, anemia e mor-

te em 1 a alguns dias; que a maioria dos animais tinha idade abaixo de 2 anos; que os achados de necrópsia incluíram hemorragia em todos os órgãos, e úlceras nas mucosas; que histopatologicamente foram observadas hemorragias, úlceras, focos de necrose no fígado, atrofia dos centros germinativos dos folículos linfóides no baço, e ainda, processos necrobióticos e rarefação do tecido hematopoiético na medula óssea. Citam ainda os autores que a evolução pode ser superaguda, aguda (morte em 1 a 3 dias) e subaguda; que a mortalidade é alta, poucos animais se recuperando; que o início é súbito, com febre alta, hemorragias das aberturas naturais, petéquias e equimoses nas mucosas e pele, diarréia fétida com coágulos de sangue, tempo de coagulação do sangue aumentado, trombocitopenia, neutropenia, anemia e morte, podendo ocorrer ulcerações nas mucosas em casos subagudos, e devido à netropenia, ocorrem, às vezes, infecções bacterianas secundárias.

DÖBEREINER et at. (1969) afirmam que no Rio de Janeiro a intoxicação mais freqüente é por *Cestrum laevigatum*. Aqui os sintomas são apatia, anorexia, tremores musculares, excitação, agressividade, andar cambaleante, morte; a evolução da doença se dá dentro de 24 horas depois do aparecimento dos primeiros sintomas; freqüentemente os animais são encontrados mortos nos pastos, sem terem sido vistos doentes; as lesões macroscópicas observadas mais constantemente são o aspecto de nóz moscada da superfície de corte do fígado, e ressecamento do folhoso bem como do intestino grosso, cujo conteúdo é coberto de muco e

muitas vezes sanguinolento; são encontradas ainda petéquias, equimoses e sufusões hemorrágicas, mais freqüentemente nas serosas e no endocárdio, às vezes nos tecidos conjuntivos subcutâneo, intermuscular e peritraqueal, mais raramente na mucosa da vesícula biliar, da laringe, da traquéia, dos brônquios e dos intestinos; em poucos casos há edema da parede da vesícula biliar; os exames histopatológicos revelam como constante uma distrofia hepática, geralmente acentuada, traduzida sobretudo por necrose controlobular do parênquima, mais congestão ou hemorragias; freqüentemente há vacuolização da célula hepática na periferia da lesão.

Pelo quadro que apresenta, com a leptospirose também deve ser feito diagnóstico diferencial; esta é uma doença zoonótica causada por 1 ou mais sorotipos de leptospiras, tendo a doença, no bovino, variada manifestação clínica, e além de ser um problema para animais de fazenda, é também problema de saúde pública, pois o homem usualmente se infecta por contato direto ou indireto com animais infectados.

ROBERTS (1970) descreve que hemoglobinúria, anemia e icterícia resultam da excessiva destruição de células vermelhas, explicando o autor que hemoglobinúria pode ocorrer durante a última parte do período febril ou mais tarde, e que a anemia e a icterícia ocorrem menos freqüentemente do que a hemoglobinúria, e acrescenta que em todos os casos clínicos de leptospirose há destruição de eritrócitos, e se esta destruição ocorre a uma taxa mais rápida do que a produção, resulta anemia, que pode ser apenas ligeira e transitória; um outro acha-

do da doença é leucopenia, que usualmente ocorre concorrentemente com febre, sendo a redução do número de leucócitos um reflexo da diminuição em linfócitos e neutrófilos. O autor revela ainda que exame pós-morte de bezerros que tenham morrido de leptospirose hemolítica aguda pode mostrar icterícia generalizada, com hemorragia subepitelial, subserosal e submucosal, hemoglobinemias e hemoglobinúria, acrescentando que aumento de baço é característico e que podem ocorrer áreas descoradas no fígado, podendo o órgão estar ligeiramente aumentado; os rins consistentemente conterão mais alterações macroscópicas do que o fígado; na fase aguda da doença os rins podem estar congestionados e ligeiramente aumentados, com áreas de pigmentação (hemorragiformes) pequenas, de forma irregular, abaixo da cápsula; se o animal morre durante o estágio final da doença, a superfície dos rins pode estar pontilhada de focos de cor branca ou cinza.

Com relação a outras doenças parasitárias, anaplasmoses e babesioses devem ser colocadas no diagnóstico diferencial. Assim, RISTIC (1970a) relata que na anaplasmoses o período de decréscimo progressivo do VG é seguido por gradativo e crescente número de eritrócitos parasitados, presença de moderada reticulocitose (com maior concentração quando o VG era mais baixo) e, embora a níveis flutuantes, a macrocitose persistiu durante o período de convalescença; o VGM aumentou 2 vezes e meia o normal no período em que os valores de Hb e VG tinham um aumento definido; o HGM elevou-se e o CHGM diminuiu durante o período de observação. Ainda RISTIC (1970a) relata que anemia maximal ocorre 1 a 6 dias após o pico de parasitemia, tempo no qual um aumentado número de eritrócitos aparentemente intatos, livres de *Anaplasma* são fa-

gocitados pelos macrófagos do baço e medula óssea, em decorrência de processo autoimune que se desenvolve durante o curso da infecção. Acrescenta o autor, que aumento progressivo da anemia pode persistir por 4 a 15 dias, que durante este período os animais podem perder até 70% de seus eritrócitos circulantes, que em animais que sobrevivem à fase patente da doença, a convalescença começa com acelerada hematopoiese, caracterizada por reticulocitose, macrocitose e granulocitose, e que animais para os quais a doença foi fatal, não mostraram evidência de aumentada atividade da medula óssea; a forma clínica é geralmente média; alterações patológicas macroscópicas são típicas de anemia aguda, em que eritrócitos são removidos pelo sistema retículo endotelial (SRE), e lesões proeminentes incluem mucosas ictéricas, baço aumentado e vesícula biliar obstruída. Evidência de degeneração hepática, renal e miocárdica, hemossiderose e eritrofagocitose são usualmente encontradas ao exame microscópico.

Segundo PORTER & GREVE (1976) o período de incubação na anaplasnose varia de 15 a 36 dias, permanecendo os animais assintomáticos durante tal período, e estando a sintomatologia clínica inteiramente relacionada com a quantidade de inóculo. Estas últimas observações também foram feitas por GALLO & BALBO (1976), indicando estes autores que o período de incubação na infecção natural varia de 1 a 3 meses, correspondendo ao período de aparecimento dos corpúsculos no sangue periférico.

Quanto à babesiose, RISTIC (1970b) relata que, dependendo da espécie de *Babesia*, o período de incubação após trans-

missão por carrapato, varia de 5 a 10 dias, e que em animais infectados, anemia progressiva é seguida de febre, indisposição, anorexia e hemoglobinúria; o baço está sempre aumentado e a polpa se torna vermelha escura; no fígado há degeneração parenquimatosa, obstrução de dutos biliares e resultante icterícia; as alterações dos túbulos renais resultarão na excreção de Hb na urina; áreas congestionadas podem aparecer sobre membranas mucosas do trato gastrointestinal; obstruções de capilares sanguíneos de certos órgãos vitais, por eritrócitos parasitados ou parasitos livres, pode ser uma causa direta de morte; a forma aguda é facilmente reconhecível clinicamente e pode ser diagnosticada observando parasitos eritrócíticos em esfregaços de sangue.

Na patogenia da *B. bigemina* em bezerros, ficou evidenciado o decréscimo dos valores do VG e Hb, na fase aguda, com aumento progressivo destes índices até o final do estudo, observando-se ainda que os leucócitos totais diminuíram nos primeiros dias e aumentaram na fase aguda (LOZANO, 1975).

OMUSE (1978) afirma que o quadro hematológico na anaplasiose é tipicamente de anemia hemolítica, com valores de VG, teor de Hb e número de eritrócitos muito baixos, além da leucocitose com linfocitose, monocitose e neutrofilia, acrescentando o autor que na babesiose os resultados são semelhantes, porém, menos acentuados, sendo que a linfocitose e neutrofilia estão presentes.

Estudos hematológicos na babesiose por *B. bovis* foram realizados em bezerros, por REHMAN & ROYCHOUDHURY (1981), reve-

lando anemia subclínica no período prepatente; a anemia pronunciou-se no período parasitêmico e os níveis de VG e Hb permaneceram baixos, mesmo após o desaparecimento da forma intra-eritrocitária da circulação periférica; o leucograma durante a infecção revelou leucocitose, com monocitose e moderada neutropenia relativas.

Em nosso meio, PINHEIRO (1985) observou que no período quando o número de eritrócitos alcançava os valores máximos (entre 5 e 7 DPI) e mínimos (entre 22 e 25 DPI), o VGM e HGM, inversamente, apresentavam seus valores mínimos e máximos; os animais infectados apresentaram leucometria global (LG) maior que os controles, embora sem haver diferenças significativas entre colheitas (0, 9, 18 e 27 DPI); diferenças significativas entre colheitas (mas não entre grupos) foram observadas na contagem de neutrófilos segmentados, diminuindo em relação ao dia inicial de observação, sem levar, entretanto, à neutropenia; valores mais elevados de monócitos e linfócitos foram observados nos infectados, entretanto, monocitose e linfocitose absolutas não foram observadas.

Coccidioses provocadas por certos eimeriídeos devem ser incluídas no diagnóstico diferencial, e de acordo, com BAILEY (1970), as espécies mais comumente responsáveis por coccidiose clínica são *E. zurni* e *E. bovis*, algumas outras espécies podendo, sob condições favoráveis, serem responsáveis pela doença. O mesmo autor diz que, como é verdadeiro para outras doenças de animais de fazenda, as perdas econômicas devidas à coccidiose são quase impossíveis de se determinar, acrescentando que be-

zerros com 3 semanas a 6 meses de idade são mais comumente afetados, os sinais clínicos começando cerca de 2 semanas após infecção, e diarreia é o sinal mais característico, observando-se animais com membros posteriores e base da cauda sujos de fezes, e amontoados de fezes contendo tragos de sangue e (ou) muco podem ser encontrados no solo, indicando a severidade da diarreia; animais afetados apresentam-se repetidamente com o dorso arqueado, porém, eliminam poucas fezes; sangue e muco visíveis são especialmente característicos de infecções com *E. zurni* e *E. bovis*; bezerros afetados logo mostram evidência de subnutrição; os pelos tornam-se ásperos e o paciente é fraco, preguiçoso e desidratado; pneumonia freqüentemente é uma complicação; em casos severos o animal usualmente morre dentro de 3 a 4 dias depois da apresentação dos sinais, porém, aqueles vivendo por pelo menos 2 semanas depois do aparecimento de sinais severos podem recuperar-se, a menos que a morte resulte de infecção secundária; convulsão e outros sinais de desordem neurológica podem ocorrer antes da morte; durante os estágios do ciclo vital (assexual e sexual), o número de organismos aumenta enormemente, o que resulta em grande número de células do hospedeiro, parasitadas e destruídas, o que colabora para as lesões macroscópicas que são observadas, quais são: erosão e necrose da mucosa intestinal, engrossamento da parede intestinal e hemorragia circunscrita ou difusa; a mucosa pode estar irregularmente engrossada, e a superfície corroída ou áspera e granular em aspecto; em casos severos, membrana diftérica pode ser encontrada sobre a superfície mucosal do ceco ou colom; a

maioria das testes ocorre na parte final do intestino delgado, ceco e colom, podendo estar confinadas a uma porção relativamente pequena do intestino, ou extensas, com marcada congestão e hemorragia de todo o intestino grosso; tentativa diagnóstica pode ser feita pelos sinais clínicos; diarréia sanguinolenta ocorre freqüentemente, porém, não é patognomônica; oocistos nas fezes confirmam o diagnóstico clínico, e à necrópsia, estágios de desenvolvimento e oocistos podem ser demonstrados em esfregaços de mucosa intestinal afetada.

DUBEY & FAYER (1983) comentam que, por causa das estreitas similaridades, esquizontes de *Sarcocystis* necessitam ser diferenciados de taquizoítas e cistos tissulares de *Toxoplasma*, e afirmam que esquizontes de *Sarcocystis* ocorrem nos ou próximos aos vasos sanguíneos e estão em contato direto com o citoplasma da célula hospedeira, enquanto *Toxoplasma* cresce em virtualmente todas as células e está separado do citoplasma da célula hospedeira por um vacúolo. Ainda, conforme TADROS & LAARMAN (1976), ao contrário de *Sarcocystis*, o interior dos cistos de *Toxoplasma* não é dividido em compartimentos.

Quadro clínico com certas semelhanças à sarcocistose observado na ehrlichiose, conforme assinalado por MASSARD (1984). A autora observou que o parasito, quando dentro da célula mononuclear, caracteriza-se como grânulos cocóides, arredondados ou ovais agrupados em colônias (mórula); observou também, em relação ao quadro hematológico, que os neutrófilos geralmente apresentam-se dentro dos limites considerados roamais, ou às vezes um pouco baixo quando ocorria linfocitose e monocitose mais acentuadas.

## 2.10. TRATAMENTO

Virtualmente nada é conhecido sobre terapia para sarcocistose; o coccidiostático amprolium reduziu a severidade da doença aguda em bezerros quando dado oralmente na dose de 100 mg/Kg de peso vivo, por 30 dias, começando no dia da inoculação dos esporocistos (FAYER & JOHNSON, 1975b).

Não há terapia específica para infecções crônicas intestinais e musculares nos animais domésticos ou homem; contudo, talvez o tratamento normalmente não seja necessário, já que a infecção intestinal é autolimitante, e a infecção crônica extra-intestinal é usualmente subclínica (MARKUS, 1978).

Num levantamento a respeito da quimioterapia da sarcocistose e toxoplasmose, MARKUS (1978) comenta que as drogas para tratar infecções por coccídios formadores de cistos no homem e animais, têm sido limitadas principalmente àquelas que foram válidas para outros usos; assim, as sulfonamidas têm sido usadas extensamente no homem; por outro lado, não há drogas aprovadas para uso em animais domésticos, ainda que algumas sejam usadas experimentalmente. Nos últimos anos, considerável atenção tem sido focada no tratamento do gato, por causa da importância do animal na propagação de oocistos infectivos. Infelizmente as drogas geralmente reduzem, porém, não acabam com a passagem de oocistos nas fezes.

## 2.11. CONTROLE

TADROS & LAARMAN (1976) acreditam que as seguintes re-

comendações devem ser observadas para o controle da coccidiose induzida por *Sarcocystis*:

1. Evitar consumo de carnes bovina ou suína mal passadas, pelo homem bem como pelos carnívoros domésticos;
2. Educação dos fazendeiros quanto ao meio de transmissão de *Sarcocystis* a bovinos, suínos e ovinos, e aos deletérios efeitos que a sarcosporidiose pode ter sobre a saúde dos animais;
3. Exame das carcaças para sarcosporidiose, nos abatedouros, e condenação da carne pesadamente infectada, para minimizar a infecção de carnívoros, mas também para alertar os fazendeiros de que a sarcosporidiose é economicamente indesejável;
4. Incinerar as carcaças de animais de fazenda, mortos de causa natural ou doença, para impedir ingestão por gatos, cães e outros carnívoros;
5. Impedir que fezes infectadas de humanos, caninos e felinos contaminem o pasto;
6. Impedir a contaminação da forragem de inverno por fezes de cães e gatos;
7. Desenvolvimento de drogas coccidiostáticas ativas contra os estágios tissulares intermediários, nos animais de fazenda.

Pode ser observado que a sarcosporidiose nos suínos domésticos, antes amplamente disseminada na Europa, foi praticamente eliminada de vários países como Holanda e Alemanha Oriental, que adotaram o hábito de cozinhar totalmente a carne

de porco, e manter os suínos em concreto e sob dieta artificial controlada (TADROS & LAARMAN, 1976).

DUBEY & FAYER (1983) comentam que a eliminação de esporocistos de *Sarcocystis* nas fezes de carnívoros é o fator chave na disseminação da infecção; desta forma, as medidas de controle devem ser dirigidas para interromper o ciclo, impedindo os carnívoros de se tornarem infectados, e impedindo que as fezes de carnívoros contaminem alimentos e pastos; para isto, esforços deveriam ser feitos no sentido de enterrar ou incinerar animais domésticos mortos, e carne mal cozida ou crua nunca deveria ser dada a carnívoros. Depreende-se então que, por causa de uma alta percentagem de bovinos e ovinos adultos ter sido encontrada estar infectada com *Sarcocystis* spp. pelo mundo, a ingestão de carne por carnívoros provavelmente resulta em infecção e subsequente eliminação de esporocistos e oocistos destes parasitos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1. LOCAIS DE TRABALHO

No desenvolvimento da parte experimental e análise dos resultados obtidos neste trabalho, foram utilizadas as dependências da Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O. Neitz (área de Parasitologia, Departamento de Biologia) e Laboratório de Micotoxinas (área de Microbiologia, Departamento de Biologia Vegetal) do Instituto de Biologia, e Laboratórios de Patologia Clínica (Departamento de Medicina e Cirurgia) do Instituto de Veterinária, ambos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. As instalações de campo foram as da PESAGRO-RIO (Estação Experimental de Itaguaí - bovino de leite) da Secretária de Agricultura e Abastecimento do Estado do Rio de Janeiro.

### 3.2. ORIGEM DOS ANIMAIS

#### 3.2.1. BOVINOS

Um total de 17 bezerros mestiços, com idades entre 3 e 6 meses foi obtido no Município de Itaguaí (RJ) e alojados

na PESAGRO-RIO (Estação Experimental de Itaguaí).

### 3.2.2. CÃES

Utilizaram-se 15 cães sem raça definida, de ambos os sexos, com 2 semanas de idade, provenientes dos Municípios de Itaguaí e Rio de Janeiro, no Estado do Rio de Janeiro.

## 3.3. MANEJO DOS ANIMAIS

### 3.3.1. BOVINOS

Todos os dias, pela manhã, os bezerros recebiam ração concentrada<sup>(a)</sup>; depois eram levados a um piquete, ao lado do curral, onde permaneciam até ao final da tarde, quando então eram conduzidos de volta ao curral e colocados em baias individuais e recebiam nova porção de ração concentrada. Água era servida à vontade.

Amostras da ração foram submetidas a análise micotoxicológica, e o resultado encontra-se no apêndice, à página 182.

### 3.3.2. CÃES

Todos os caninos foram mantidos em gaiolas individuais, na Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O. Neitz, vermifugados<sup>(b)</sup> e receberam leite de vaca misturado à ração<sup>(c)</sup> até a idade de 6 meses. A partir daí só ração foi

a. Terneirina-Purina, Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

b. Thelmin-Johnson & Johnson, Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

c. Canina-Purina, Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

oferecida aos animais, além de água a vontade. Fezes dos animais foram examinadas 2 vezes por semana, nesta fase.

### 3.4. OBTENÇÃO DO MATERIAL INFECTANTE

#### 3.4.1. MÚSCULO ESTRIADO CARDÍACO DE BOVINO

Com o objetivo de serem obtidos sarcocistos e bradizoítas do gênero *Sarcocystis*, corações de bovinos, antes de administrados aos cães foram examinados por simples escarificação, ou pela digestão tríptica descrita por O'DONOGHUE & WEYRETER (1983).

#### 3.4.2. ESPOROCISTOS

Diariamente, após recolhidas, as fezes dos cães eram pesadas para verificação de volume de 24 horas e examinadas para presença e contagem de esporocistos; quando positivas, eram passadas em peneiras com diâmetros decrescentes de trama, para limpeza e obtenção de uma suspensão de esporocistos; a seguir a suspensão era distribuída por cálices de Hoffman para obtenção de sedimento rico em esporocistos; após trocas sucessivas do líquido sobrenadante, suspensões finais eram conservadas com adição de bicromato de potássio a 2.5% e deixadas em geladeira a 5°C aproximadamente.

### 3.5. INFECÇÃO EXPERIMENTAL

#### 3.5.1. CÃES

Aos 6 meses de idade, 10 caninos receberam músculo cardíaco bovino obtido nos matadouros de Santa Cruz (RJ) e Nilópolis (RJ); aos animais foram oferecidos 150 ou 500 gramas de musculatura reconhecidamente positiva para sarcocistos. Exames de fezes foram feitos diariamente, durante um período de 60 DPI, para pesquisa de esporocistos de *S. cruzi*, através do método de flutuação em açúcar, segundo HONER (1965). Alguns animais receberam uma segunda infecção, na tentativa de se obter maior número de esporocistos. Coração bovino positivo foi mantido sob congelação por 17 dias, para posterior administração a cães. Durante o experimento, 5 animais foram mantidos como controles não infectados.

### 3.5.2. BOVINOS

Esta fase da pesquisa foi realizada no período de 12/83 a 02/84, e 17 bezerros foram divididos em 5 grupos, da seguinte maneira: 4 grupos de 3 animais, sendo 1 grupo mantido como controle não infectado (grupo C), 1 inoculado com 250 mil (grupo 1), outro inoculado com 500 mil (grupo 2) e ainda outro inoculado com 1 milhão (grupo 3) de esporocistos de *S. cruzi*; um 5º grupo de 5 animais recebeu, cada um, 500 mil esporocistos de *S. cruzi* e foi sacrificado, 1 animal a cada vez, nas prováveis épocas de esquizogonia e formação de sarcocistos. A administração dos esporocistos foi feita por via oral, através de garrafadas, após a retirada do bicromato de potássio do meio de suspensão. Quando não especifica-

dos os grupos, os animais infectados foram considerados em conjunto, independente da dose, e designados tão somente como E, e os não infectados, como C.

### 3.6. ACOMPANHAMENTO CLÍNICO E COLHEITA DE AMOSTRAS PARA ANÁLISE

Adotou-se aqui a sistemática invariável da realização dos exames e colheitas de amostras entre 7:00 e 9:00 horas.

#### 3.6.1. EXAME CLÍNICO

No dia da infecção e semanalmente durante 62 DPI os bezerros foram examinados clinicamente para observação de temperatura, pulso, movimentos respiratórios, peso e alterações de estado geral, pele e pelos.

#### 3.6.2. AMOSTRAS DE SANGUE E SORO PARA ANÁLISES

Também semanalmente e durante o mesmo período assinalado anteriormente, foram colhidas amostras de sangue total para hematologia, bem como sem anticoagulante para obtenção de soro, após retração total do coágulo, para análises bioquímicas.

Todas as amostras de sangue foram obtidas através punção da jugular, seguindo orientação de MEDWAY et al. (1973).

#### 3.6.3. NECRÓPSIAS

Exames anátomo-histopatológicos de todos os animais que morreram ou foram sacrificados, foram feitos conforme orientação de BEHMER et al. (1976).

#### a) Cães

Com o intuito de recuperar esporocistos de *S. cruzi* de cães previamente infectados, quando a eliminação era mínima alguns cães foram sacrificados, necropsiados e porções do intestino delgado bem como linfonodos mesentéricos foram retiradas para digestão triptica ou fixação em formol histológico. Também foram feitos raspados de mucosa do intestino delgado, com os quais foram preparados esfregaços, que foram corados por Giemsa, e impressões do órgão também foram feitas, usando-se a mesma coloração.

#### b) Bovinos

Animais que morreram, ou foram sacrificados aos 14, 28, 48, 63 e 100 DPI foram necropsiados e amostras de musculatura estriada esquelética e cardíaca bem como de diafragma, língua, fígado, linfonodos, baço, timo, cérebro, cerebelo, rins, adrenais, pulmões, compartimentos gástricos e intestinos foram retiradas e fixadas em formol histológico; também foram feitos raspados de vasos arteriais para o preparo de esfregaços, que foram corados por Giemsa.

### 3.7. EXAMES LABORATORIAIS

#### 3.7.1. MENSURAÇÕES DO PARASITO

##### a) Esporocistos

De fezes caninas, frescas (antes de adicionar conservador) eram preparadas lâminas para tomadas das medidas dos diâmetros dos esporocistos, realizadas em microscopia Leitz(a) com ocular micrométrica(b).

##### b) Merozoítas

Esfregaços de sangue periférico corados por Wright, bem como da capa de leucócitos, obtida com macrohematócrito utilizando tubos de Wintrobe e centrifugando(c) a 3 mil rpm por 30 minutos, corados pelo mesmo método, foram utilizados para mensurações destas formas de parasito, utilizando-se os mesmos equipamentos descritos para as mensurações de esporocistos.

##### c) Sarcocistos

Preparações histológicas de musculatura estriada submetidas à coloração de H.E. foram utilizadas para mensurações da parede de sarcocistos, com os mesmos equipamentos já

a. H.M. Lux-Leitz Wetzlar, República Federal Alemã.

b. S.K.15-Wild Heerbrugg, Suíça.

c. Centrífuga-IEC, modelo CL, Mass., U.S.A.

referidos.

### 3.7.2. EXAMES HEMATOLÓGICOS

Seguindo orientação de SCHALM et al. (1975), na parte relativa a hematologia, utilizando etilenodiaminotetraacetato de sódio (d) como anticoagulante foram feitas contagens de hemácias, contagens totais de leucócitos e hemoglobi-nometria, em contador eletrônico (e), além do preparo de esfregaços do sangue periférico, para leucometria específica. O hematócrito ou volume glubular (VG) foi determinado pelo método micro, utilizando centrífuga (f) própria, na rotação de 10 mil rpm durante 10 minutos.

### 3.7.3. EXAMES BIOQUÍMICO-SÉRICOS

Com o soro, seguindo orientação de KANEKO 1980) foram determinadas as atividades dos enzimas(g) ASAT (aspartato amino transferase), ALAT (alanina amino transferase), LDH (lactato desidrogenase), a-HBDH (desidrogenase do alfa hidroxí butirato), CPK (creatinafosfoquinase) e  $\gamma$ -GT (gama glutamí transferase), fazendo-se a leitura em espectrofotôme-

d. EDTA - Reagem, Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

e. Coulter-Counter DN VET- Coulter Eletronics, Rio de Janeiro (RJ)

f. Fanen - São Paulo (SP), Brasil.

g. Enzimas-Merck, Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

tro Spectronic(h) Proteínas plasmáticas totais e fibrinogênio foram determinados conforme indicação de SCHALM et al. (1975).

#### 3.7.4. EXAMES HISTOPATOLÓGICOS

Amostras de tecidos de caninos e bovinos, fixadas em formol histológico foram emblocadas em parafina e cortes de 7 micra de espessura foram realizados, e preparadas lâminas que foram submetidas aos métodos de coloração de H & E, Giemsa, PAS e tricrômico de Masson.

h. Bauch & Lomb- Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

## RESULTADOS

### 4.1. ASPECTOS PARASITOLÓGICOS

#### 4.1.1. HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO

Dos 14 bezerros infectados com esporocistos de *Sarcocystis* de cães, em esfregaços preparados após escarificação de parede endotelial da artéria mesentérica dos animais mortos no período de 13 a 20 DPI encontraram-se formas ainda não bem definidas do parasito, que foram caracterizadas como merontes de 1<sup>a</sup> geração (Fig. 2). Nos animais mortos entre o 20<sup>o</sup> e o 27<sup>o</sup> DPI, merontes de 2<sup>o</sup> geração foram encontrados em vários órgãos, enquanto em esfregaços do sangue periférico ou preparados da capa de leucócitos, de animais mortos de 27 a 30 DPI, encontraram-se merozoítas de 3<sup>a</sup> geração, freqüentemente em células mononucleares, como se observa na Fig. 3.

Cistos alongados de aspecto fusiforme, de parede lisa, fina e medindo menos de 0.5 micra de espessura foram observados em fibra muscular estriada cardíaca e em menor freqüência na esqueletal; alguns destes sarcocistos tinham em seu interior ma-

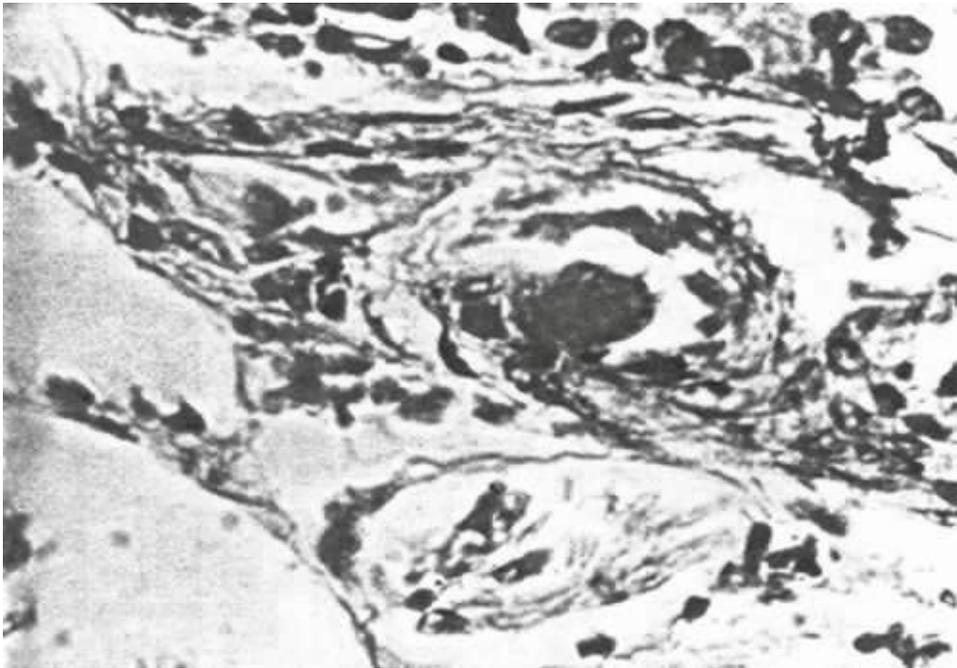


Fig.2: Meronte de 1<sup>a</sup> geração, em artéria mesentérica de bezerro infectado experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* H. E., 400 X.

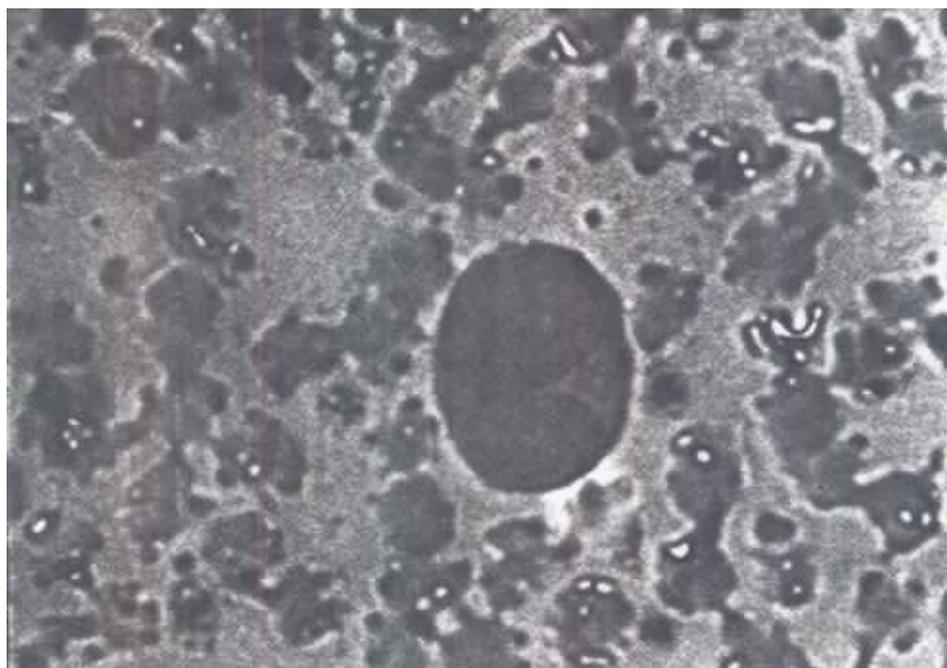


Fig. 3: Merozoíta de 3<sup>a</sup> geração dentro de célula mononuclear, em esfregaço de sangue periférico de bezerro infectado experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi*. Giemsa, 1000 X.

terial amorfo ainda não definido, enquanto em outros podiam ser observadas formas de aspecto lanceolado, em grupos, separados por finas membranas, algumas vezes de difícil evidenciação por coloração histológica de rotina.

#### 4.1.2. HOSPEDEIRO DEFINITIVO

Dos 15 cães utilizados, as fezes foram colhidas e examinadas diariamente, 30 dias antes e por 60 DPI, e 10 dos animais receberam 150 gramas, cada um, de músculo cardíaco bovino positivo para sarcocistos. Num período que variou de 11 à 17 dias, esporocistos de Conformação elipsoidal, de parede lisa, com 4 esporozoítas e um corpo residual bem desenvolvido e localizado numa das extremidades, foram observados nas fezes destes cães. Pela média das medidas dos diâmetros (polar: 12.2 a 16.4 e equatorial: 8.6 a 10.6, com média de 15.0 X 10.0 micra) de 100 esporocistos e pela caracterização do ciclo cão-bovino-cão, foram identificados como *S. cruzi* (Fig. 4).

O início da eliminação dos esporocistos nas fezes dos cães não foi uniforme, variando de 11 à 17 DPI, com picos de eliminação aos 17 e 22 DPI (Fig. 5), com período de patência de 27 dias. Por outro lado, quando cães previamente infectados receberam uma 2ª infecção (500 gramas cada um), o período prepatente foi mais curto (entre 7 e 12 dias), com período de patência de 60 dias, maior do que na 1ª infecção.

O número médio de esporocistos por grama de fezes (EPG), bem como o número médio de esporocistos eliminados por dia en-



Fig. 4: Esporocisto de *S. cruzi* em fezes de cão que recebeu coração bovino com sarcocistos. Solução saturada de açúcar, 400 X.

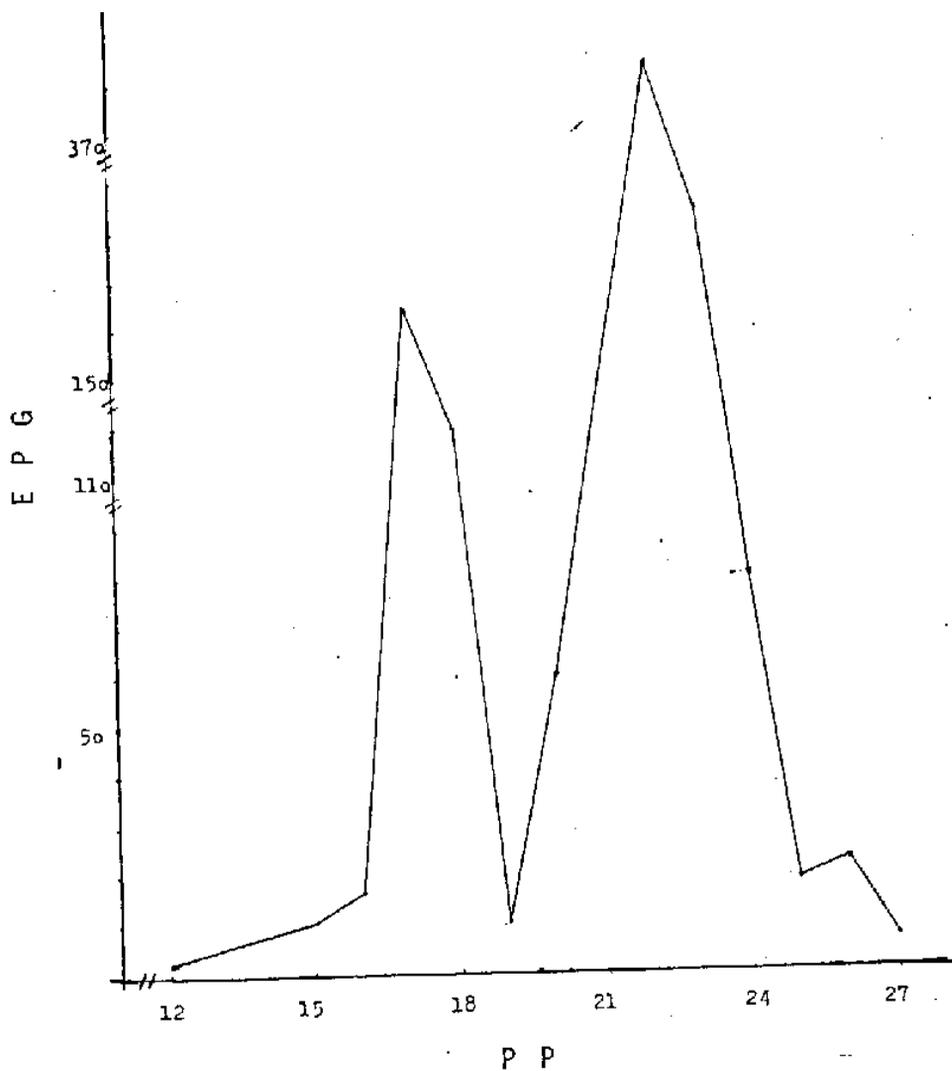


Fig. 5: Valores médios de esporocistos por grama de fezes (EPG) durante o período de patência (PP), em cães que receberam coração bovino com cistos de *S. cruzi*.

contram-se na Tab. 1, enquanto na Fig. 5 observam-se as médias de EPG durante o período de patência.

Em 4 dos 5 cães sacrificados quando a eliminação de esporocistos passou a ser mínima, pode-se verificar, após digestão tríptica dos linfonodos mesentéricos, a presença de esporocistos com morfologia característica de *Sarcocystis*.

Os cães utilizados como controle não eliminaram esporocistos de *Sarcocystis* durante a fase experimental.

## 4.2. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

### 4.2.1. HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO

O material utilizado para infectar os cães, com o objetivo de obter esporocistos, previamente foi submetido ao raspado por escarificação da superfície da musculatura, logo após serem realizados os cortes; este raspado foi diluído em solução salina e em seguida colocado entre lâmina e lamínula para que o conteúdo fosse visto ao microscópio, e estruturas de aspecto falciforme foram facilmente observadas entre fragmentos de musculatura. Por outro lado, quando esfregaços foram preparados com parte do material escarificado e em seguida fixados pelo metanol e corados por Giemsa, estas estruturas falciformes, com núcleo visível e grânulos distribuídos pelo citoplasma (Fig. 6), foram caracterizadas como bradizoítas do gênero *Sarcocystis*. Da mesma forma foram observados, através digestão tríptica de músculo estriado cardíaco, numerosos bradizoítas,

Tabela 1: Médias de esporocistos por grama de fezes (EPG) e de esporocistos por dia (E/Dia), ao final do experimento, de cães que receberam coração bovino com cistos de *S. cruzi*.

ANIMAL Nº	EPG ( $\bar{X}$ )	E/dia ( $\bar{X}$ )
1	67	13.400
2	109	21.800
3	178	35.600
4	33	6.600
5	52	10.400

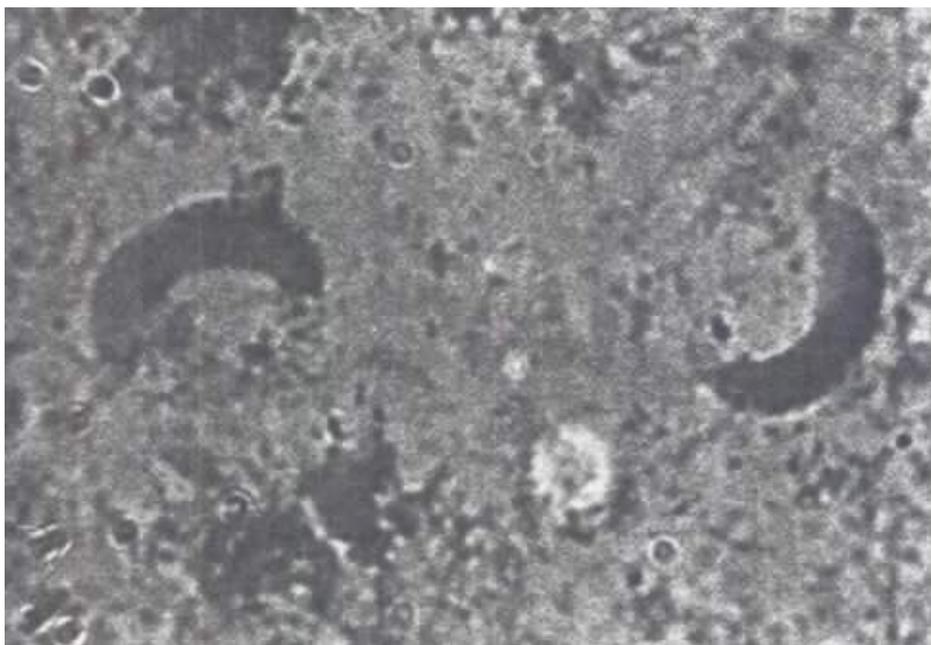


Fig. 6: Bradizoítas de *Sarcocystis* em esfregaço preparado após escarificação de fragmentos de músculo cardíaco bovino. Giemsa, 1000 X.

sendo que alguns deles tinham motilidade.

O material utilizado foi procedente dos matadouros de Santa Cruz e Nilópolis, ambos no Estado do Rio de Janeiro.

#### 4.2.2. HOSPEDEIRO DEFINITIVO

Utilizando os corações referidos anteriormente, cães foram infectados uma 1ª vez e eliminaram esporocistos nas fezes. Alguns animais foram submetidos a uma 2ª infecção e novamente eliminaram esporocistos nas fezes. Observou-se que os períodos patentes das re-infecções foram mais longos, e em consequência os animais eliminaram esporocistos por longos períodos de tempo. Durante a fase experimental tais cães eliminaram em média 18 mil esporocistos por dia, porém, na fase de maior eliminação, chegaram a eliminar 300 mil esporocistos, num volume médio fecal diário de 200 gramas.

Quando músculo cardíaco bovino positivo para sarcocistos e bradizoítas (verificados por digestão triptica) foi mantido congelado a cerca de  $-2^{\circ}\text{C}$  por 17 dias, não conseguiu infectar cães, cujas fezes foram examinadas de 2 dias antes até 60 DPI.

### 4.3. ASPECTOS CLÍNICO-LABORATORIAIS

#### 4.3.1. HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO

#### a) Acompanhamento Clínico

Os animais do grupo controle mantiveram-se clinicamente sadios durante todo o experimento, o que não se observou nos animais infectados experimentalmente, independente da dose, notando-se que a grande maioria dos animais perdeu condição progressivamente, registrando-se as alterações mais significativas no período de 20 a 27 DPI, correspondendo à fase de 2ª esquizogonia.

A temperatura retal em °C (Fig.7) no grupo 1 teve limites médios de 38.9 a 40.1, com máximo aos 28 DPI; o grupo 2 teve limites médios de 38.8 a 39.5, com máximo aos 24 DPI, enquanto o grupo 3 teve limites médios de 38.7 a 39.9, com máximo aos 27 DPI. O grupo C teve variações médias de 38.5 a 39.2, com a temperatura máxima sendo verificada no dia inicial da pesquisa.

Quanto ao pulso, por mim (Fig.8) verificou-se que no grupo 1 os limites médios foram 70 a 126, com máximo aos 28 DPI; no grupo 2 os limites médios foram 75 a 86, com máximo (que também foi o inicial) aos 10 DPI, enquanto no grupo 3 os limites médios foram 60 a 96, com máximo aos 27 DPI. O grupo C teve variações médias de 66 a 92, com máximo aos 15 DPI.

Em relação aos movimentos respiratórios, por mim (Fig. 9), observou-se que no grupo 1 os limites médios foram 31 a 59, com máximo aos 27 DPI; no grupo 2 os limites médios foram 28 a 52, com máximo aos 27 DPI, e no grupo 3 os limites médios foram 20 a 36, com máximo aos 27 DPI. O grupo C teve variações médias de 23 a 36, com máximo aos 24 DPI.

Quanto ao peso observou-se que os animais dos grupos

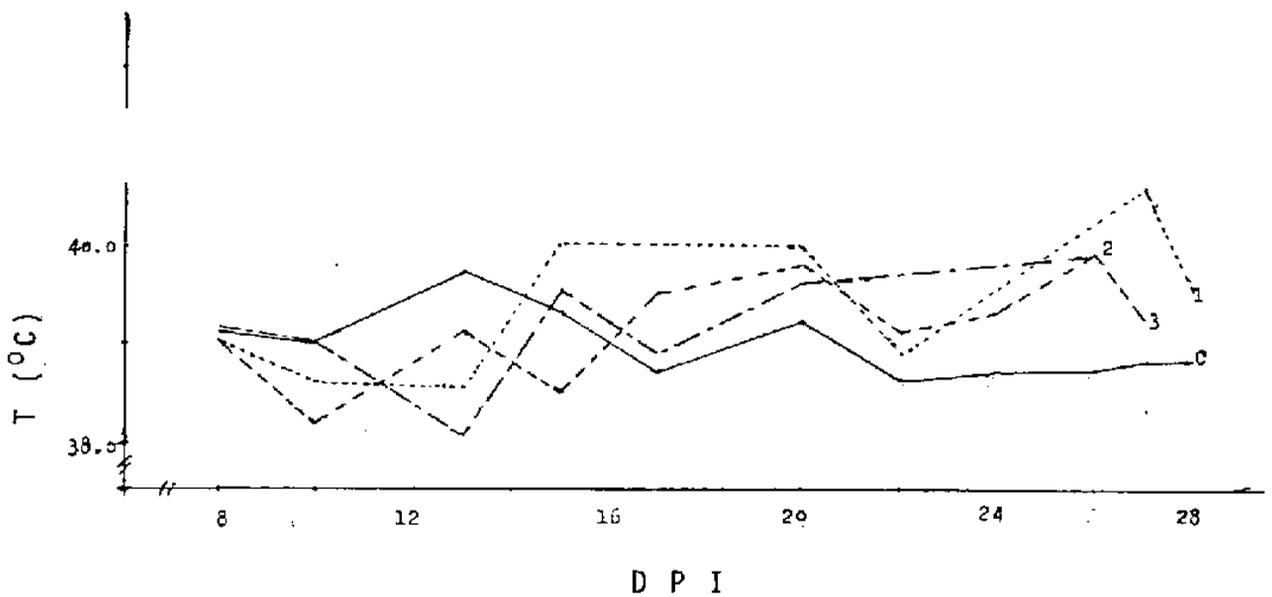


Fig. 7: Valores de temperatura (T) dos grupos de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (1:  $25 \times 10^4$ ; 2:  $5 \times 10^5$ ; 3:  $10^6$ ) e controle (C), do 8º ao 28º dia subsequente à infecção (DPI).

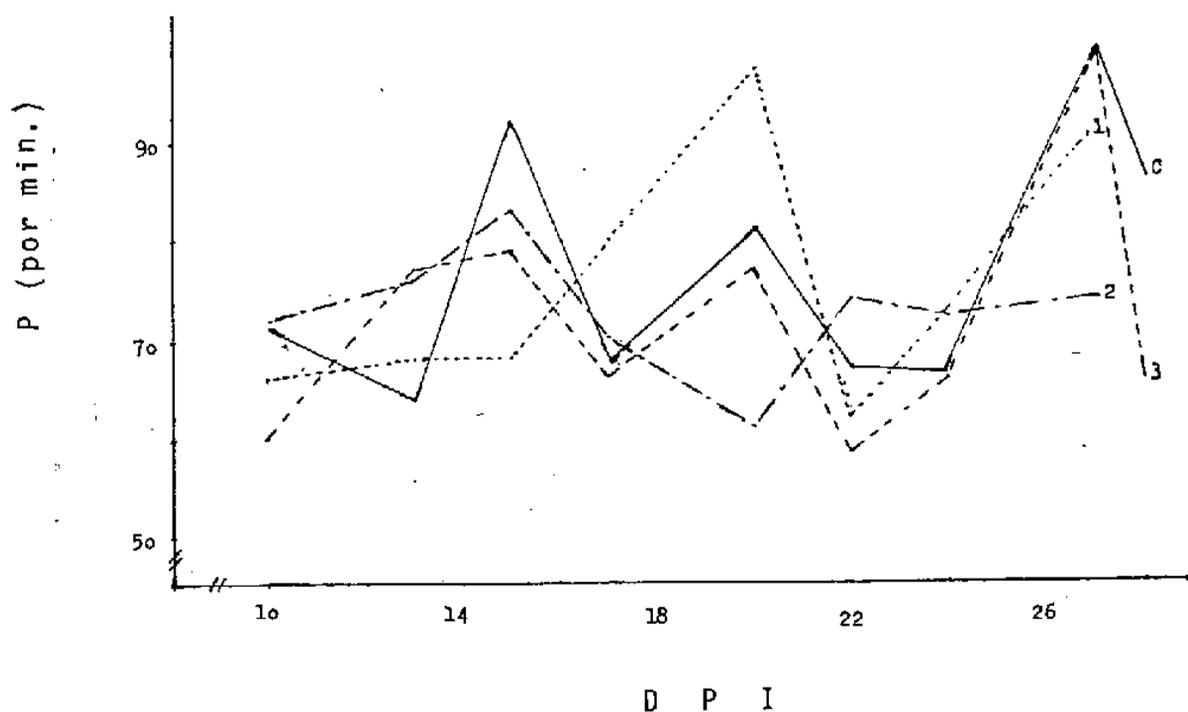


Fig. 8: Valores médios de pulso (P) dos grupos de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (1:  $25 \times 10^4$ ; 2:  $5 \times 10^5$ ; 3:  $10^6$ ) e controle (C), de 10<sup>o</sup> ao 28<sup>o</sup> dia subsequente à infecção (DPI)

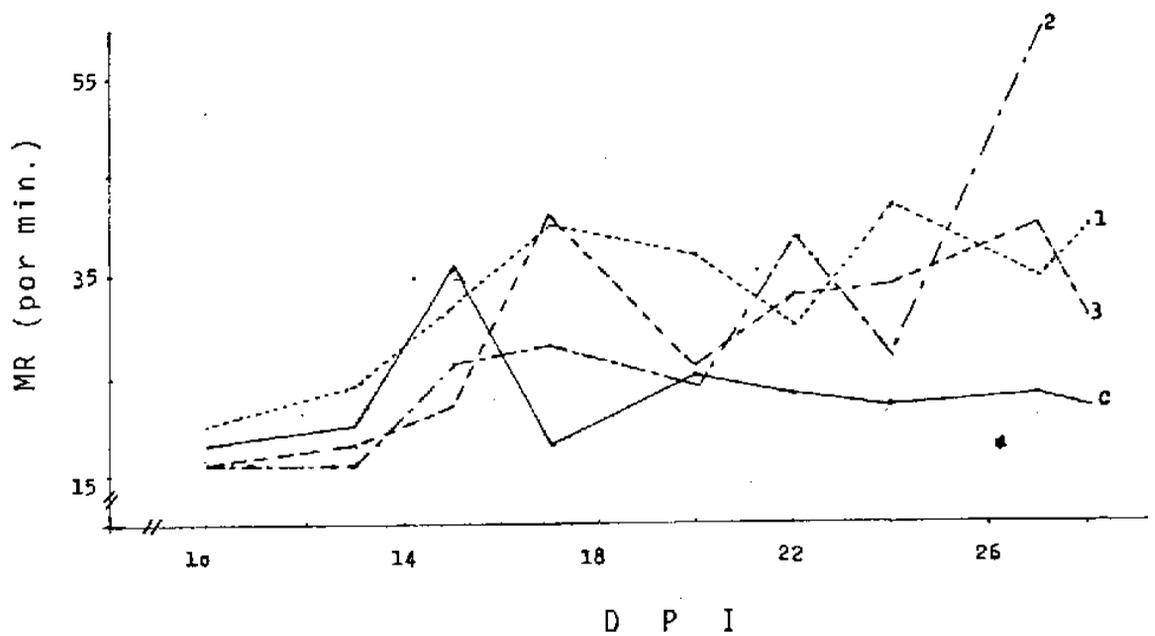


Fig. 9: Valores médios de movimentos respiratórios (MR) de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (1:  $25 \times 10^4$ ; 2:  $5 \times 10^5$ ; 3:  $10^6$ ) e controle (C), do 10º ao 28º dia subsequente à infecção (DPI).

1, 2 e 3, quando não perderam, ganharam menos peso do que os animais do grupo C (Fig. 10).

Clinicamente pode-se ainda observar, nos animais infectados, desidratação, pele ressecada, queda de pelos, lacrimajamento, corrimento nasal e ocular de coloração amarelada, porém, sem cheiro, e prostração intensa levando ao decúbito, sendo que em alguns animais, opistótono ou emprostótono fazia-se presente. Nos estados agônicos podia-se observar que os animais tinham pele fria, ao tato.

## b) Laboratório Clínico

### b.i. Hematologia Clínica

I. SÉRIE VERMELHA (Tab. 2, em apêndice) - Hemácias (Hc, Fig.11), no grupo E aumentaram os valores médios na 2<sup>a</sup> SPI, diminuíram na 4<sup>a</sup> SPI e então aumentaram progressivamente até 9<sup>a</sup> SPI. No grupo C os valores médios variaram de 2.8 (4<sup>a</sup> SPI) a 4.1 (6<sup>a</sup> SPI) durante o experimento. À exceção do que ocorreu na 2<sup>a</sup> e na 8<sup>a</sup> SPI, nas demais os grupos E e C paralelaram os resultados, apresentando o grupo E valores mais baixos de que o grupo C, praticamente por toda a fase experimental.

As alterações nos valores médios de hemoglobina (Hb, Fig. 11) do grupo E paralelaram as alterações das Hc até à 3<sup>a</sup> SPI; além deste fato, aumentou os valores até à 4<sup>a</sup> SPI e a partir daí os valores médios decresceram progressivamente até 9<sup>a</sup> SPI. No grupo C os valores médios variaram de 8.5 (8<sup>a</sup> SPI) a 9.8 (5<sup>a</sup> SPI), e durante praticamente todo o experimento par a-

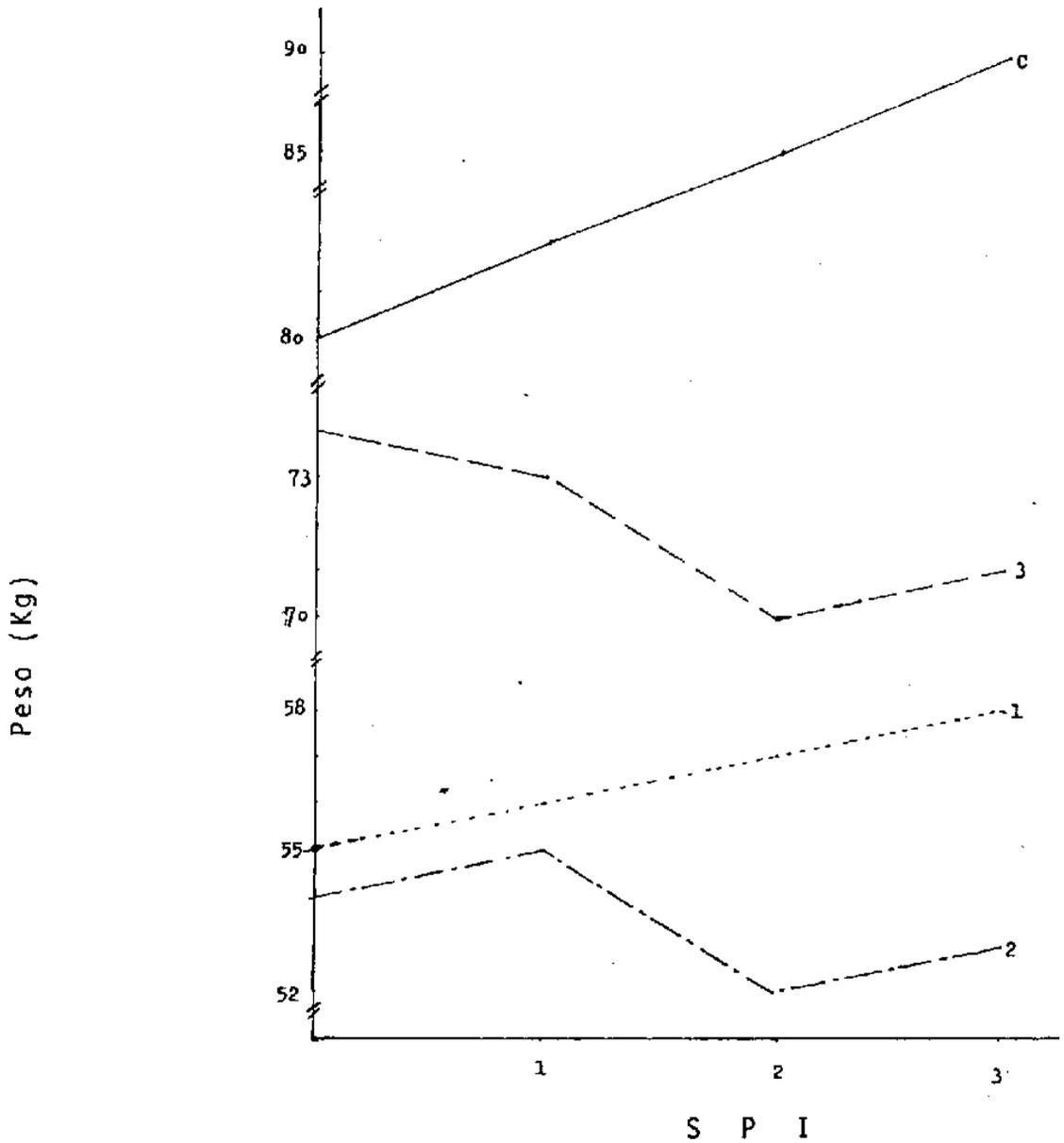


Fig. 10: Pesos médios dos grupos de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (1:  $25 \times 10^4$ ; 2:  $5 \times 10^5$ ; 3:  $10^6$ ) e controle (C), até à 3<sup>a</sup> semana subsequente à infecção (SPI).

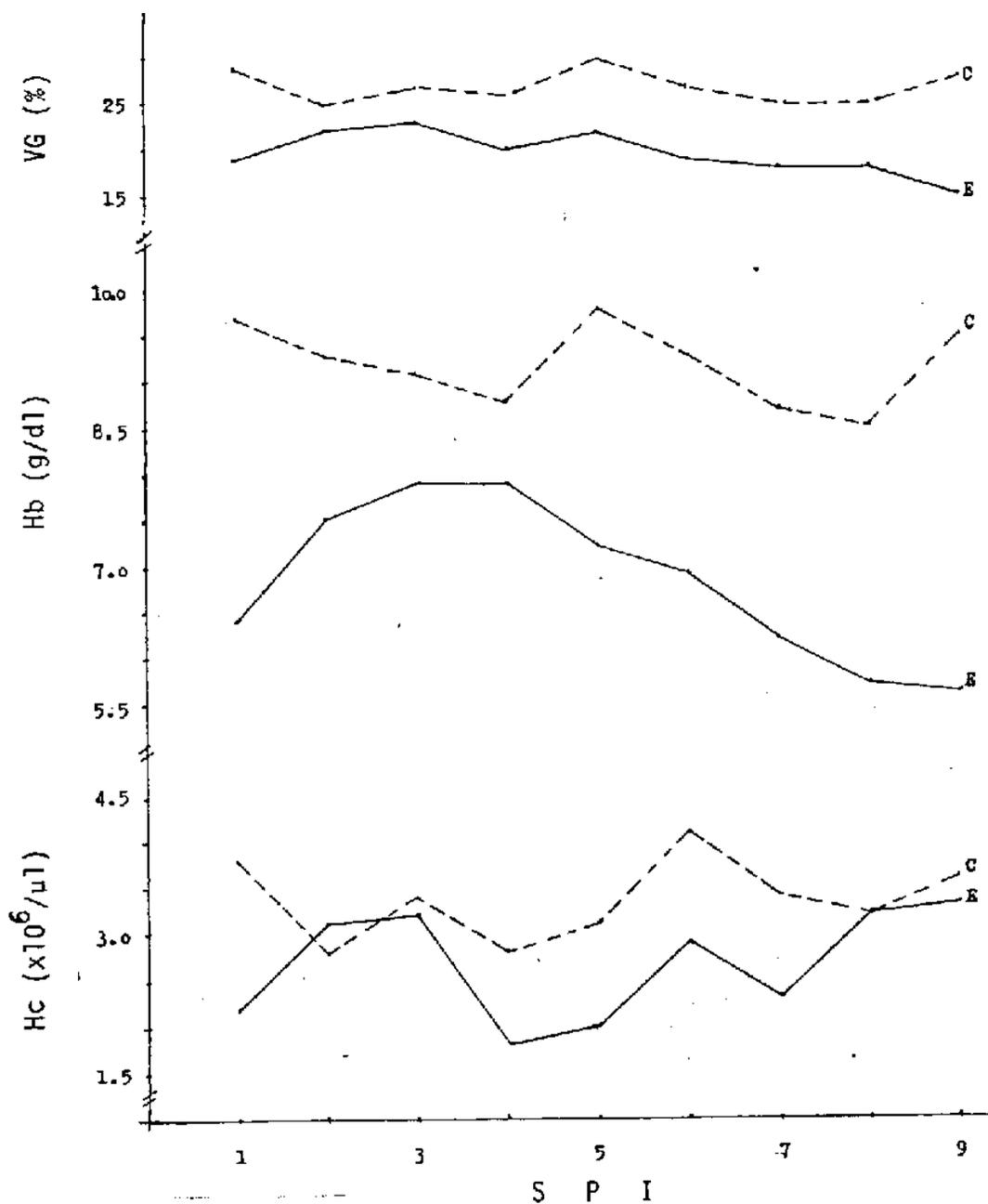


Fig. 11: Valores médios de hemácias (Hc), hemoglobina (Hb) e hematócrito (VG) de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), da 1<sup>a</sup> à 9<sup>a</sup> semana subsequente à infecção (SPI).

lelaram os valores de Hc.

As alterações nos valores médios do volume globular (VG, Fig. 11) praticamente paralelaram as alterações de Hb, tanto no grupo E como no grupo C.

Assim, da 1<sup>a</sup> à 3<sup>a</sup> SPI, no grupo E as alterações nos valores médios de Hc foram acompanhadas pelas alterações em Hb e VG; por outro lado, a partir da 7<sup>a</sup> SPI e até à 9<sup>a</sup> SPI, os valores médios de Hb e VG diminuíram progressivamente. No grupo C, à exceção da 6<sup>a</sup> SPI, quando as Hc aumentaram e Hb e VG diminuíram, nas demais os valores médios praticamente paralelaram, observando-se ainda que os valores médios de Hc, Hb e VG (à exceção do que ocorreu na 2<sup>a</sup> SPI, para Hc) do grupo C estiveram, em praticamente todo o experimento, mais elevados do que no grupo E.

exceção do que ocorreu da 3<sup>a</sup> para a 4<sup>a</sup> SPI no grupo C, e da 6<sup>a</sup> para a 7<sup>a</sup> SPI no grupo E, as alterações nos valores médios do volume globular médio (VGM, Fig. 12) tiveram comportamento exatamente oposto àquêle das Hc em ambos os grupos, ou seja, aumentando ou diminuindo quando Hc diminuía ou aumentavam.

As alterações nos valores médios de hemoglobina globular média (HGM, Fig. 12) praticamente acompanharam as do VGM, em ambos os grupos.

Os valores médios da concentração hemoglobínica globular média (CHGM, Fig. 12) praticamente não variaram até à 3<sup>a</sup> SPI, e as alterações praticamente paralelaram as das Hc, da 4<sup>a</sup> à 9<sup>a</sup> SPI. em ambos os grupos.

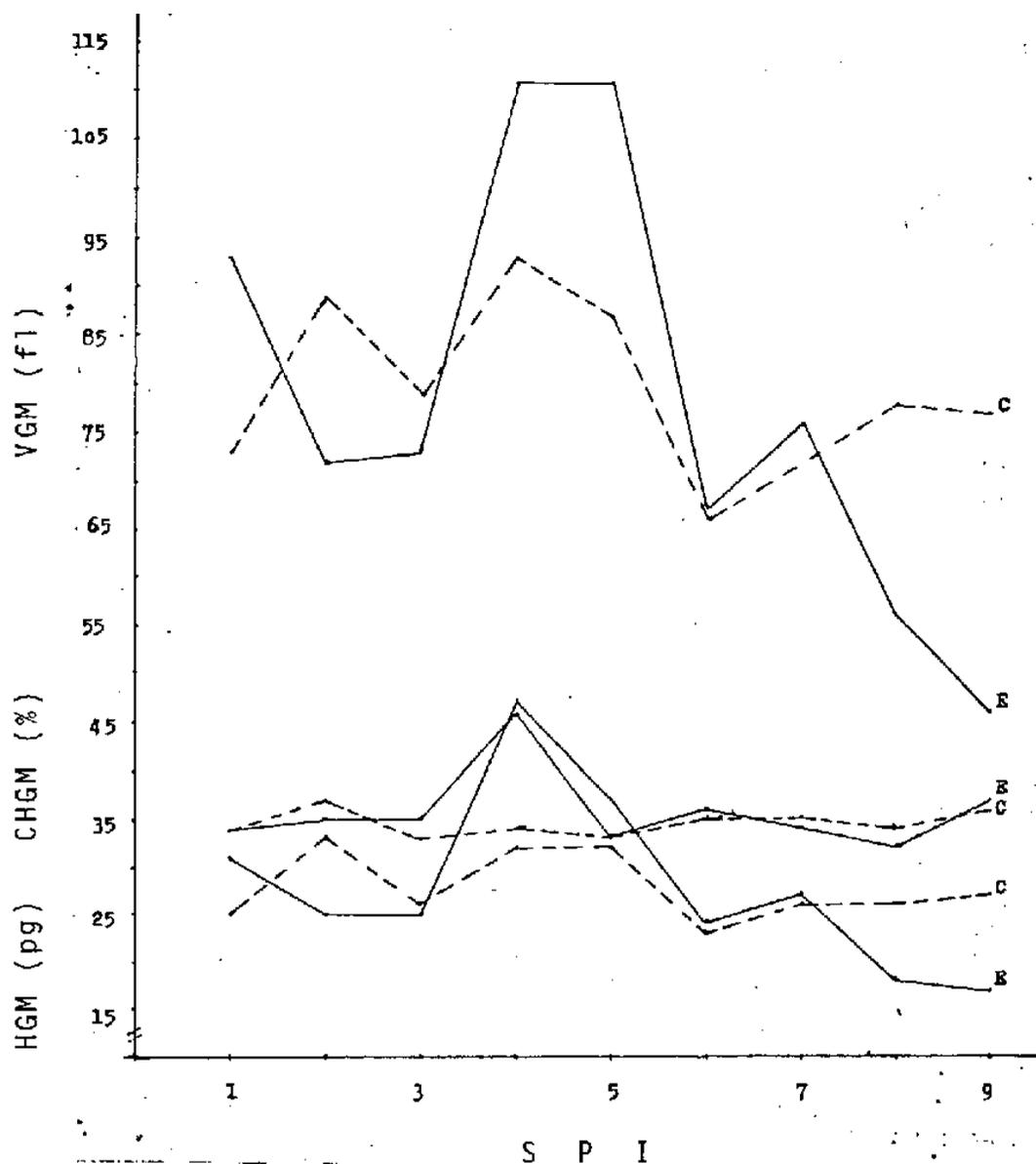


Fig. 12: Valores médios de hemoglobina globular média (HGM), concentração hemoglobínica globular média (CHGM) e volume globular médio (VGM) de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), da 1<sup>a</sup> à 9<sup>a</sup> semana subsequente à infecção (SPI).

II. SÉRIE BRANCA (Tab. 3, em apêndice) - No grupo E os valores médios da leucometria global (LG) tiveram aumentos progressivos da 1<sup>a</sup> (7.7) à 6<sup>a</sup> (17.0) SPI; os valores diminuíram na 7<sup>a</sup> (15.0) e 8<sup>a</sup> (7.5) SPI, voltando a aumentar na 9<sup>a</sup> (11.7) SPI.

No grupo C os valores médios variaram de 7.3 (6<sup>a</sup> SPI) a 11.2 (9<sup>a</sup> SPI), com valor de 7.8 na 1<sup>a</sup> SPI.

Praticamente só na 8<sup>a</sup> SPI o grupo C teve LG mais elevada do que o grupo E (Fig. 13).

Os valores médios absolutos de linfócitos (Fig.14) em ambos os grupos acompanharam as variações da LG, observando-se nos valores médios do grupo E, uma variação de 5.473 (na 1<sup>a</sup> SPI) a 14.185 (na 6<sup>a</sup> SPI). Em %, os maiores valores médios ocorreram na 8<sup>a</sup> (89) e na 9<sup>a</sup> (87) SPI, correspondendo, nestes mesmos períodos, às menores relações neutrófilo/linfócito (N/L), que foram de 0.06 e 0.09, respectivamente. No grupo C a variação foi de 5.824 (6<sup>a</sup> SPI) a 9.102 (9<sup>a</sup> SPI), e em %, a variação foi de 79 (3<sup>a</sup> SPI) e 88.1 (7 SPI), correspondendo, respectivamente, à maior (0.17) e à menor (0.11) relação N/L (Fig. 14).

exceção da 1<sup>a</sup> e 8<sup>a</sup> SPI, nas demais a LG e os valores absolutos de linfócitos do grupo E foram maiores do que no grupo C.

Os valores médios absolutos de neutrófilos (Fig. 14) do grupo E, na 3<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup> e 9<sup>a</sup> SPI foram inferiores àquêles do grupo C; além disto, no grupo E os valores mínimos ocorreram na 8<sup>a</sup> SPI (453) e os máximos na 7<sup>a</sup> SPI (3.414), e no grupo C, os valores mínimos também foram verificados na 8<sup>a</sup> SPI (834), entretanto, os

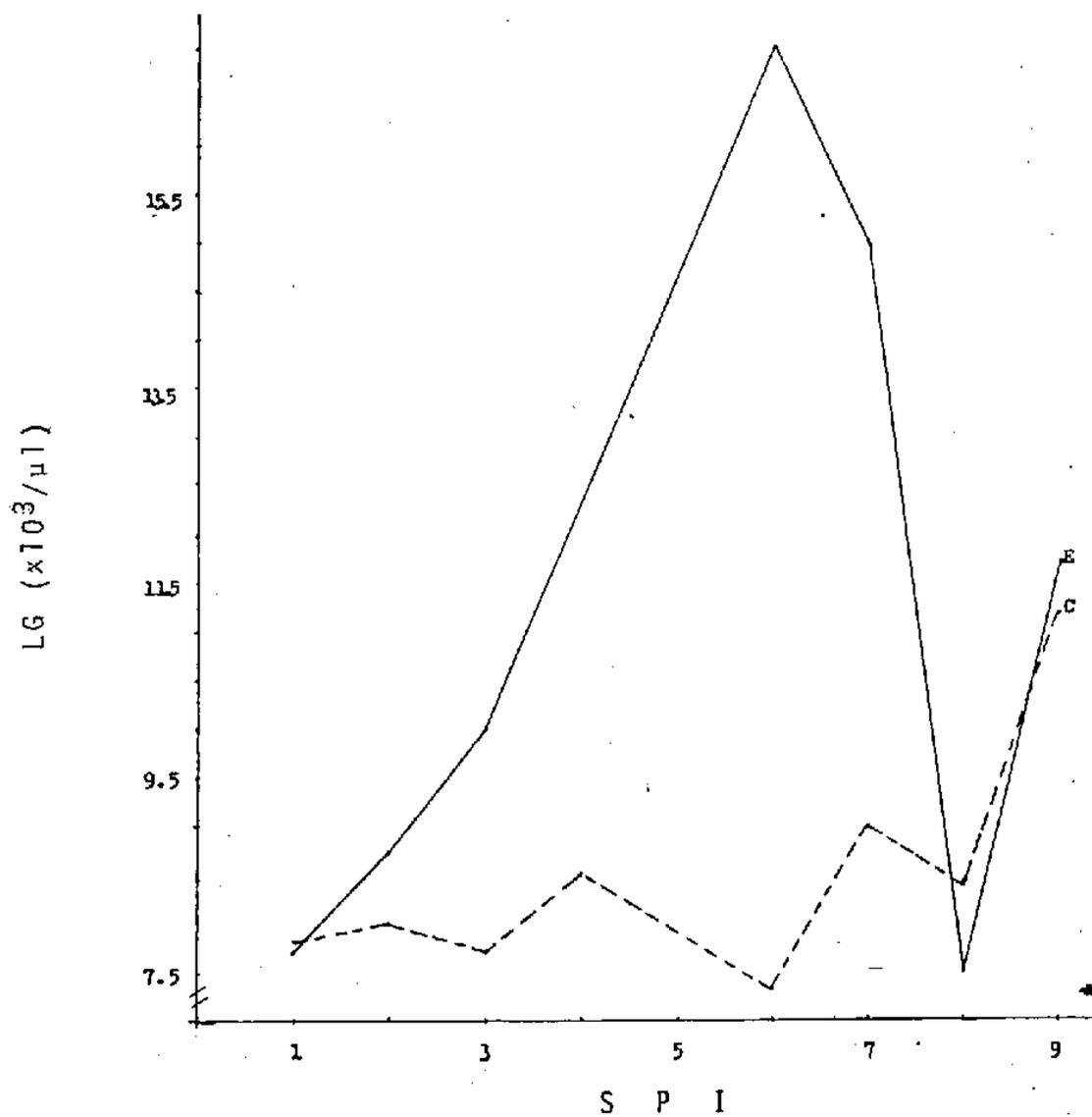


Fig. 13: Valores médios da leucometria global (LG) de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), da 1<sup>a</sup> à 9<sup>a</sup> semana subsequente à infecção (SPI).

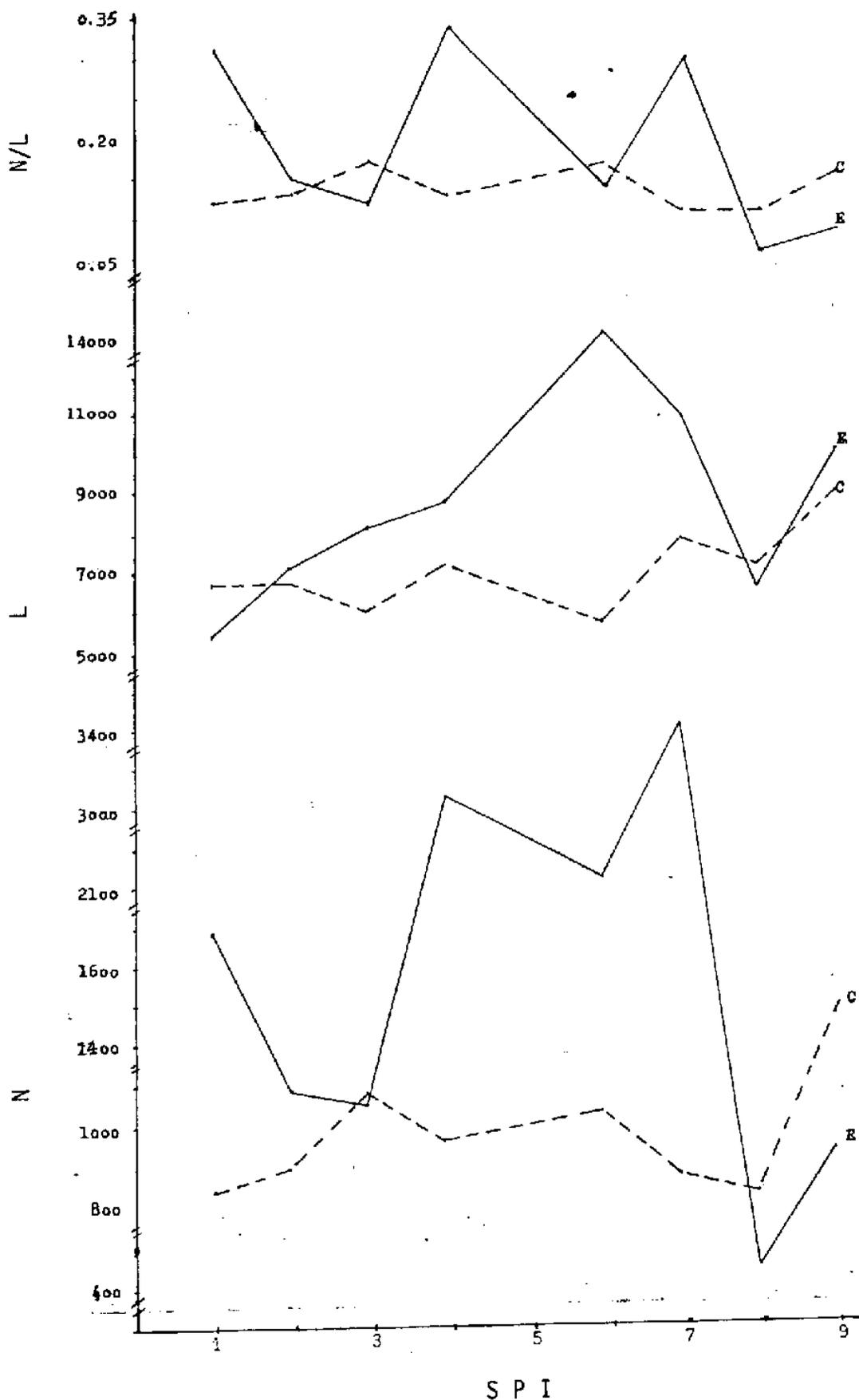


Fig. 14: Valores médios (por microlitro) de neutrófilos (N) e linfócitos (L), e relação N/L de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), da 1<sup>a</sup> à 9<sup>a</sup> semana subsequente à infecção (SPI).

máximos ocorreram na 9<sup>a</sup> SPI (1.483).

Os monócitos (Fig, 15), da 1<sup>a</sup> à 7<sup>a</sup> SPI estiveram mais elevados no grupo E do que no grupo C. A variação nos valores médios absolutos do grupo E foi de 151 (8<sup>a</sup> SPI) a 548 (5<sup>a</sup> SPI), enquanto os valores relativos foram próximos em ambos os grupos, em praticamente todo o experimento, excetuando-se apenas os resultados da 1<sup>a</sup> (E= 5.4; C= 3.2) e 6<sup>a</sup> (E= 3.0; C=1.0) SPI.

Quanto aos eosinófilos (Fig. 15), à exceção da 6<sup>a</sup> e 9<sup>a</sup> SPI, nas demais o grupo E teve valores médios mais elevados do que o grupo C, encontrando-se no grupo E a variação de 50 (ou 0.6%) na 2<sup>a</sup> SPI a 409 (ou 4%) na 3<sup>a</sup> SPI; no grupo C a variação foi de zero na 1<sup>a</sup> SPI a 352 (ou 4.8%) na 6<sup>a</sup> SPI.

### b.i.i. Bioquímica Clínica

Enzimas séricas de interesse diagnóstico e utilizadas em Medicina Veterinária foram analisadas e os resultados encontram-se nas Tab. 2 a 7.

Pode-se observar que, para  $\gamma$ -GT a ALAT (Tabs. 2 e 3), até à morte ou ao final do experimento, nenhum animal ultrapassou o limite máximo de referência, enquanto as enzimas musculares ASAT e CPK (Tabs. 4 e 5) do grupo E tiveram aumentos, particularmente entre o 27° e o 48° DPI; LDH (Tab. 6) do mesmo grupo teve aumento entre 13 e 41 DPI. Finalmente, a LDH 1, testada pela atividade da  $\alpha$ -HBDH (Tab. 7), constituiu, em % da LDH total, 73, 67, 58 a 60, respectivamente, entre o 41° e o 62° DPI. No grupo C, no mesmo período os valores foram 68, 64, 71 e 66%.

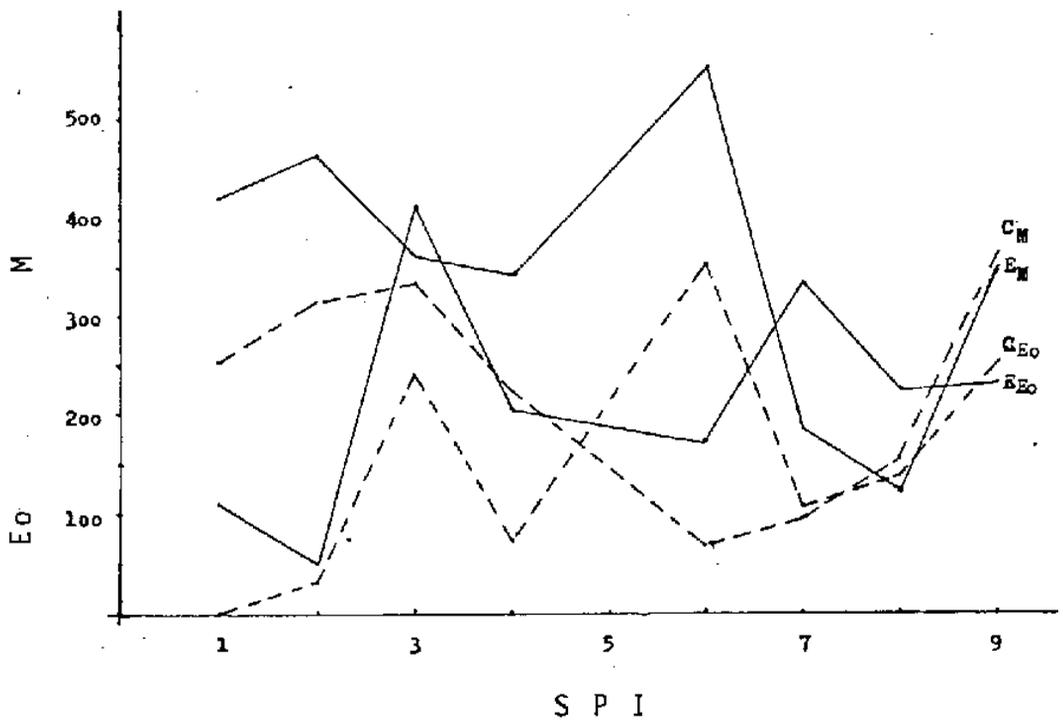


Fig. 15: Valores médios (por microlitro) de eosinófilos (Eo) e monócitos (M) de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), da 1ª à 9ª semana subsequente à infecção (SPI).

Tabela 2: Valores médios (UI/l) de  $\gamma$ -GT sérica de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), durante o experimento<sup>a</sup>.

GRUPOS	$\gamma$ - G T						
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>
E	12	7	13	13	12	11	10
C	19	13	13	11	11	14	15

a. 1<sup>a</sup>: antes da infecção; 2<sup>a</sup>: 13 DPI<sup>b</sup>; 3<sup>a</sup>: 27 DPI;  
4<sup>a</sup>: 41 DPI; 5<sup>a</sup>: 48 DPI; 6<sup>a</sup>: 55 DPI; 7<sup>a</sup>: 62 DPI.

b. Dias pós-infecção.

Tabela 3: Valores médios (UI/l) de ALAT sérica de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), durante o experimento<sup>a</sup>.

GRUPOS	A L A T						
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>
E	13	15	14	15	17	12	12
C	11	13	14	13	16	17	15

a. 1<sup>a</sup>: antes da infecção; 2<sup>a</sup>: 13 DPI<sup>b</sup>; 3<sup>a</sup>: 27 DPI;  
4<sup>a</sup>: 41 DPI; 5<sup>a</sup>: 48 DPI; 6<sup>a</sup>: 55 DPI; 7<sup>a</sup>: 62 DPI.

b. Dias pós-infecção.

Tabela 4: Valores médios (UI/I) de ASAT sérica de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), durante o experimento<sup>a</sup>.

GRUPOS	A S A T						
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>
E	43	45	112	77	76	45	47
C	38	42	45	45	53	40	41

a: 1<sup>a</sup>: antes da infecção; 2<sup>a</sup>: 13 DPI<sup>b</sup>; 3<sup>a</sup>: 27 DPI;  
4<sup>a</sup>: 41 DPI; 5<sup>a</sup>: 48 DPI; 6<sup>a</sup>: 55 DPI; 7<sup>a</sup>: 62 DPI.

b. Dias pós-infecção.

Tabela 5: Valores médios (UI/l) de CPK sérica de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), durante o experimento<sup>a</sup>.

GRUPOS	C P K						
	1 <sub>a</sub>	2 <sub>a</sub>	3 <sub>a</sub>	4 <sub>a</sub>	5 <sub>a</sub>	6 <sub>a</sub>	7 <sub>a</sub>
E	32	37	106	46	85	10	28
C	25	28	44	13	16	17	18

a. 1<sup>a</sup>: antes da infecção; 2<sup>a</sup>: 13 DPI<sup>b</sup>; 3<sup>a</sup>: 27 DPI;  
4<sup>a</sup>: 41 DPI; 5<sup>a</sup>: 48 DPI; 6<sup>a</sup>: 55 DPI; 7<sup>a</sup>: 62 DPI:

b. Dias pós-infecção.

Tabela 6: Valores médios (UI/l) da LDH sérica de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), durante o experimento<sup>a</sup>.

GRUPOS	L D H						
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>
E	983	1081	931	1096	1007	950	884
C	911	894	1142	1022	1106	1046	1002

a. 1<sup>a</sup>: antes da infecção; 2<sup>a</sup>: 13 DPI<sup>b</sup>; 3<sup>a</sup>: 27 DPI; 4<sup>a</sup>: 41 DPI; 5<sup>a</sup>: 48 DPI; 6<sup>a</sup>: 55 DPI; 7<sup>a</sup>: 62 DPI.

b. Dias pós-infecção.

Tabela 7: Valores médios (UI/l) de  $\alpha$ -HBDH sérica de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), da 4<sup>a</sup> à 7<sup>a</sup> colheita subsequente à infecção<sup>a</sup>

GRUPOS	$\alpha$ - H B D H			
	4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>
E	804 (73) <sup>c</sup>	673 (67)	548 (58)	535 (60)
C	696 (68)	707 (64)	746 (71)	660 (66)

a. 4<sup>a</sup>: 41 DPI<sup>b</sup>; 5<sup>a</sup>: 48 DPI; 6<sup>a</sup>: 55 DPI; 7<sup>a</sup>: 62 DPI.

b. Dias pós-infecção

c. Valores entre parêntesis correspondem a % de  $\alpha$  - HBDH (LDH<sub>1</sub>) em relação a LDH total.

No início do experimento o grupo E tinha valores médios de proteínas plasmáticas (P) mais elevados e de fibrinogênio (F) mais baixos do que o grupo C; a partir da 1ª SPI verificou-se que no grupo E os valores médios de P diminuíram e os de F aumentaram progressivamente até à 8ª SPI, enquanto que no grupo C houve um aumento progressivo nas P e uma tendência à variação em F durante a pesquisa, como se observa na Fig. 16.

#### 4.3.2. HOSPEDEIRO DEFINITIVO

Não se observou qualquer alteração clínica nos cães infectados experimentalmente com *Sarcocystis*.

#### 4.4. ASPECTOS PATOLÓGICOS

##### 4.4.1. HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO

###### a) Patogenia

A doença caracterizou-se por progressiva perda de condição, anorexia, anemia, fraqueza, fezes diarréica ou semi-diarréicas, desidratação, hipertermia, linfadenopatia, prostração, decúbito e morte na maioria dos casos. Observou-se que mais de 62% dos animais infectados morreram até o 30º DPI; destes 50% morreram entre o 13º e o 27º DPI.

###### b) Anatomia Patológica (Figs. 17 e 18)

Nos animais mortos aos 13/14 DPI pode-se observar: emaciação; palidez de mucosas e da musculatura estriada esquelética em geral; líquido de coloração amarelada, em quantidade aumentada, na cavidade peritoneal; linfáticos mesentéricos con-

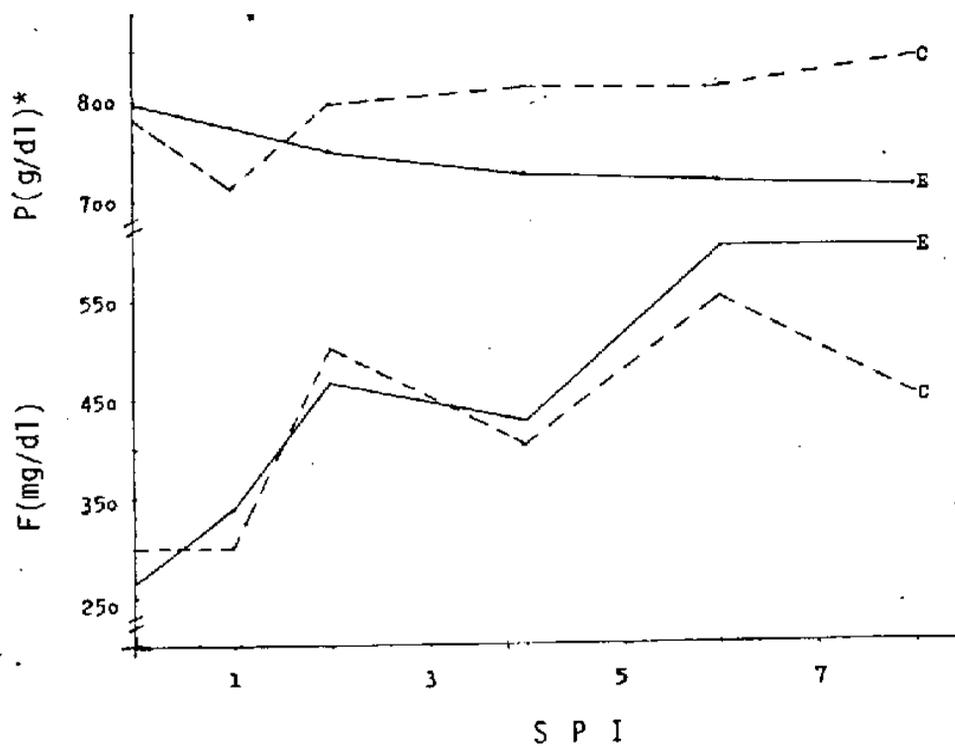


Fig. 16: Valores médios de fibrinogênio (E) e proteína total plasmática (P) de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), da 1<sup>a</sup> à 8<sup>a</sup> semana subsequente à infecção (SPI).

\* Os valores estão multiplicados por 100.



Fig. 17: Aspecto anátomo-patológico da cavidade e órgãos abdominais, de bezerro infectado experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* e morto na 2ª semana subsequente à infecção

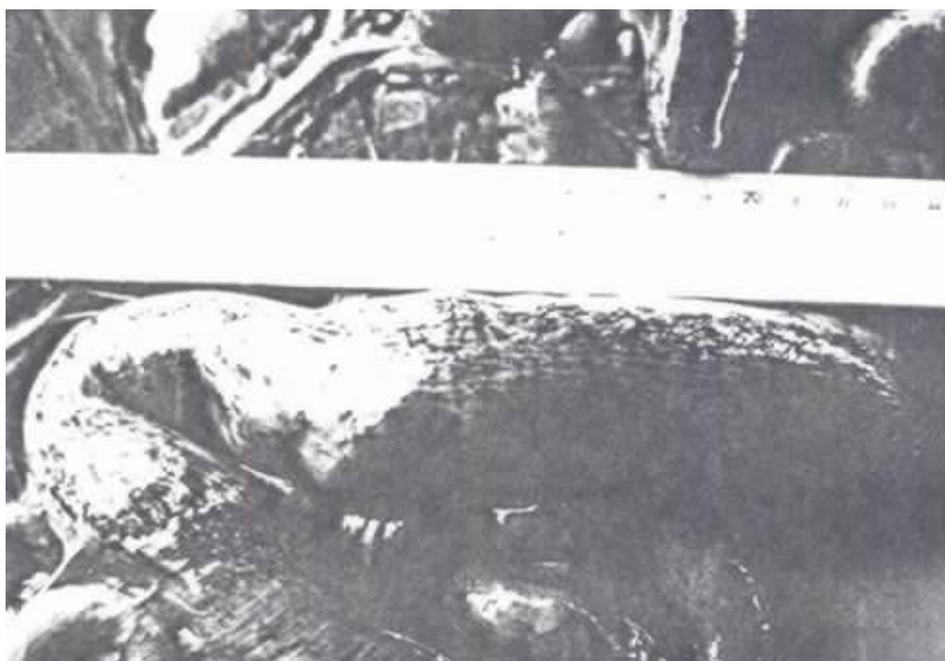


Fig. 18: Aspecto anátomo-patológico da cavidade e órgãos abdominais, de bezerro infectado experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* e morto na 4<sup>a</sup> semana subsequente à infecção

gestos e edematosos, e alguns, ao corte, tinham coloração vermelha; fígado e baço com bordos ligeiramente arredondados.

À necrópsia dos animais mortos entre 24 e 28 DPI observou-se: emaciação; palidez de mucosas; ao corte, os vasos deixavam fluir sangue ralo, aquoso e de difícil coagulação; entre as massas musculares havia material de aspecto gelatinoso e coloração esbranquiçada; presença de líquido de coloração amarelada, em quantidade aumentada, nas cavidades peritoneal, torácica e pericárdica; linfadenopatia generalizada; pequenos pontos avermelhados disseminados em todos os órgãos inclusive no cérebro e cerebelo; hemorragias petequiais bem como sufusões na serosa de muitos órgãos a gordura foi de aspecto gelatinoso, principalmente do sulco coronariano e peri-renal.

Aos 48 DPI, à necrópsia dos animais mortos encontrou-se: emaciação; palidez de mucosas; linfadenopatia generalizada; musculatura estriada esquelética de aspecto tigróide; líquido de coloração amarelada, em quantidade aumentada, na cavidade peritoneal; gordura de aspecto gelatinoso e de coloração amarela pálida; serosa, particularmente dos órgãos digestórios, com hemorragias petequiais e processos de regeneração de hemorragias anteriores.

Em necrópsias realizadas aos 63 DPI observou-se apenas palidez de mucosas e musculatura estriada esquelética pálida e com estrias de coloração branca.

Aos 100 DPI, à necrópsia, os únicos achados observados foram palidez de mucosas e generalizada atrofia serosa da gordura.

### c) Histopatologia (Figs. 19 a 23)

As alterações microscópicas observadas variaram de órgão para órgão como também de bezerro para bezerro, quando infectados experimentalmente com esporocistos de *Sarcocystis*. As lesões mais expressivas foram observadas do 24° ao 48° DPI, caracterizando-se como de aspecto difuso.

No cérebro e cerebelo as lesões caracterizaram-se por congestão, micro-hemorragias e edema perivascular, sendo que em alguns animais, discreto infiltrado de células mononucleares foi observado em torno das áreas congestionadas. No pulmão, somente infiltrado de aspecto seroso nos alvéolos e congestão dos capilares peri-alveolares foram observados. Entretanto, no fígado pode-se observar discreta congestão de pequenas vênulas, com infiltrado perivascular constituído por células mononucleares, e nos rins, as alterações foram marcantes: no córtex observou-se generalizada congestão vascular, que em alguns animais foi acompanhada de infiltrado perivascular por células mononucleares; áreas de necrose faziam-se presentes, bem como atrofia de glomérulos, com grande quantidade de material amorfo de caráter protéico depositado na face interna da cápsula de Bowman; na medular as alterações mais marcantes foram hiperemia de vasos do plexo renal, com presença de cilindros protéicos e hemáticos localizados nos tubos coletores. Na musculatura estriada esquelética, principalmente em áreas onde se observou o aspecto tigróide à vista desarmada, caracterizou-se a degeneração hialina, sendo que em alguns bezerros foi mais acentuada e

substituída por necrose, com perda parcial de fibras musculares. Não foram observados achados significativos em outros órgãos, com exceção de formas do parasito no endotélio capilar nas supra-renais e artérias mesentericas, e cistos de *Sarcocystis* nas fibras musculares estriadas esquelética e cardíaca.

#### 4.4.2. HOSPEDEIRO DEFINITIVO

Nenhum animal infectado experimentalmente com *Sarcocystis* apresentou qualquer alteração clínica ou anátomo-histopatológica.



Fig. 19: Sistema nervoso central: congestão, micro-hemorragias e edema perivascular, em bezerro infectado experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* e morto na 4<sup>a</sup> semana subsequente à infecção. H.E., 400X.

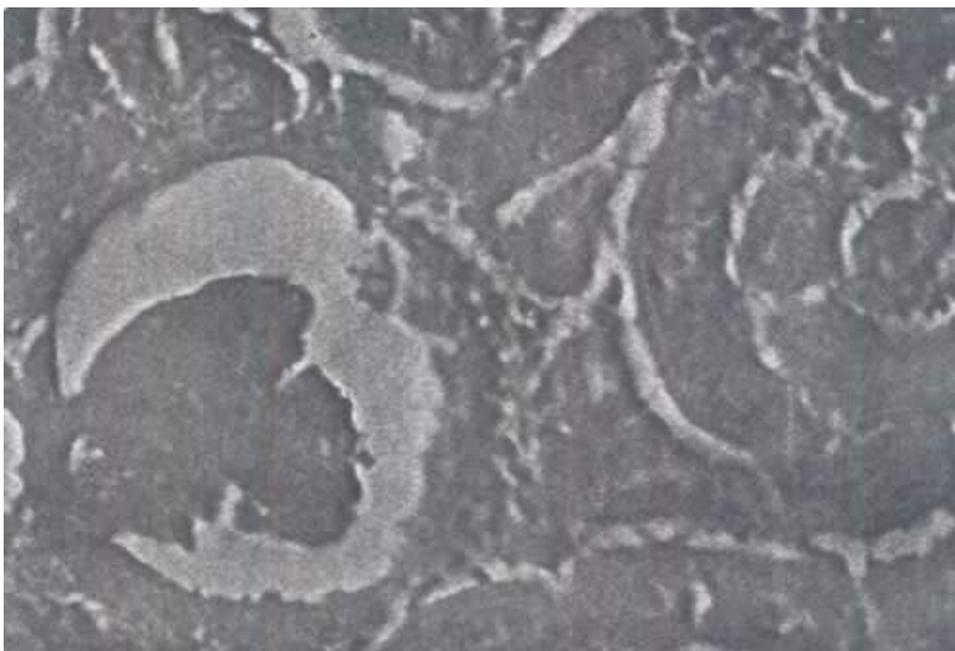


Fig. 20: Rim: Atrofia de glomérulo e depósito de material amorfo de caráter protéico na face interna da cápsula de Bowman, de bezerro infectado experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* e morto na 4<sup>a</sup> semana subsequente à infecção. H.E., 400X.

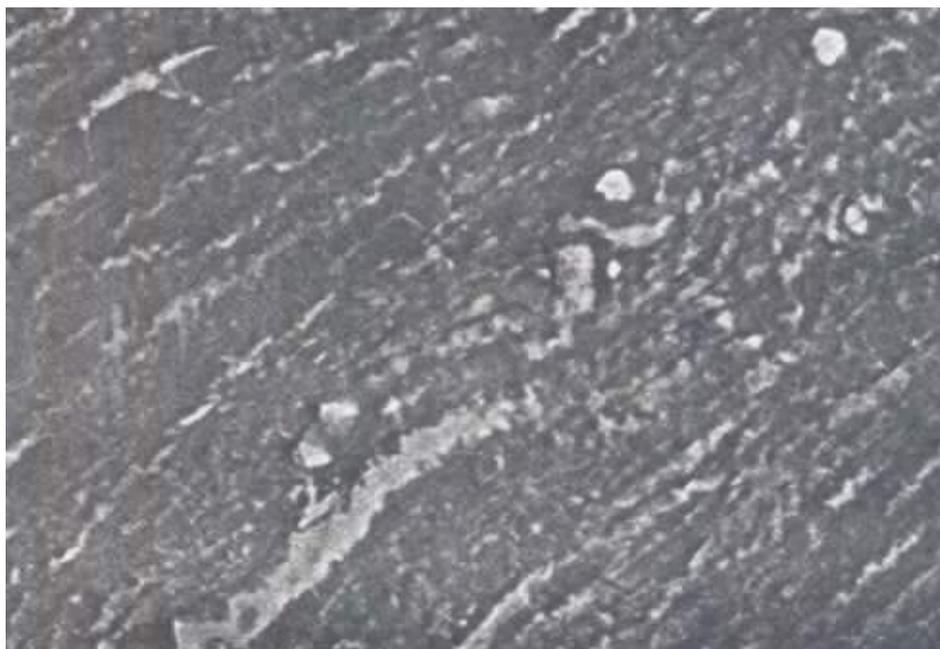


Fig. 21: Rim: Região medular com cilindros protéicos intratubulares, em bezerro infectado experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* e morto na 4<sup>a</sup> semana subsequente à infecção. H.E., 200X.



Fig. 22: Músculo estriado esquelético: degeneração hialina, necrose e perda parcial de fibras musculares, em bezerro infectado experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* e morto na 5<sup>a</sup> semana subsequente à infecção. H.E., 400X.

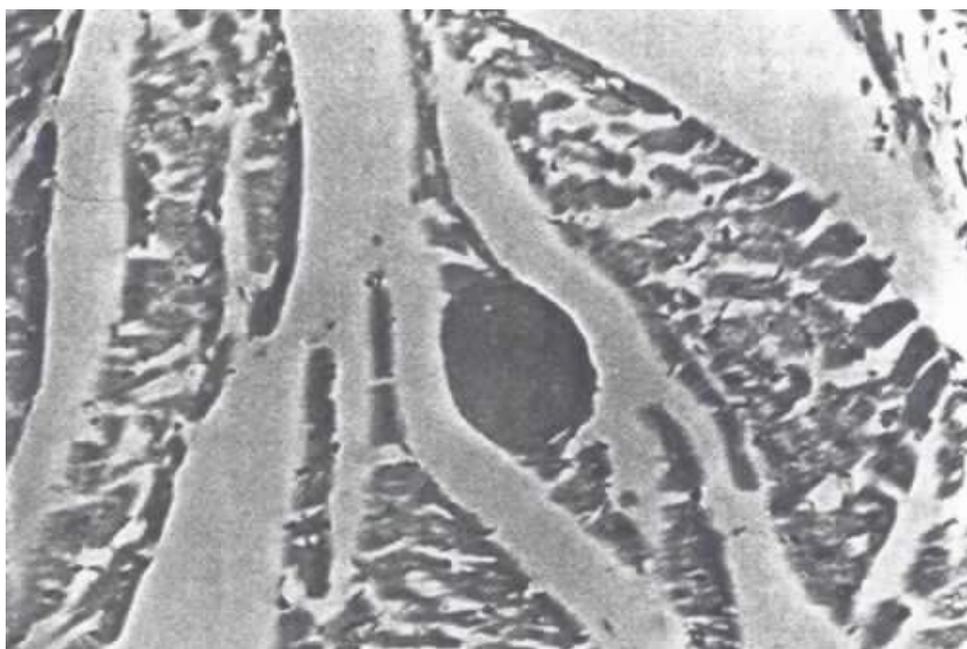


Fig. 23: Cisto de *S. cruzi* em músculo cardíaco de bezerro infectado experimentalmente com esporocistos de fezes de cães. H. E., 400X.

## DISCUSSÃO

### 5.1. ASPECTOS PARASITOLÓGICOS

#### 5.1.1. HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO

Animais inoculados com esporocistos de fezes de cães tiveram alterações do estado geral a partir da 2<sup>a</sup> SPI (demonstrando-se terem sido utilizados esporocistos viáveis), alguns animais morrendo nesta mesma época. Esta transmissão de esporocistos aos animais considerados hospedeiros intermediários é essencial no ciclo vital de *Sarcocystis*, conforme foi salientado por LEVINE (1982), afirmando ainda este autor que estas formas são necessárias para iniciar reprodução assexual nos tecidos deste hospedeiro, dando grande número de parasitos.

A 1<sup>a</sup> descrição de merontes de *Sarcocystis* em animais experimentais foi feita por FAYER & JOHNSON (1973), em necrópsias realizadas 26 a 33 DPI de animais que receberam grande número de esporocistos de *S. cruzi*, enquanto no presen-

te experimento a presença de merontes foi verificada do 13° ao 27° DPI. Mas, em trabalhos posteriores, os mesmos autores (1974) encontraram merontes do 20° ao 40° DPI, e DUBEY (1982a) fez relato da presença destas formas até 46 DPI, assinalando ainda (1982b) que a 1ª geração de merontes ocorreu 7 a 25 DPI, a 2ª entre 20 e 33 DPI e a 3ª entre 27 e 29 DPI, onde a presença de merozoítas (livres ou em leucócitos) fazia-se presente, aos 27, 28 e 29 DPI, e que também foi verificado na presente pesquisa.

Segundo DUBEY & FAYER (1983) o encistamento ocorre em torno de 5 a 7 SPI, sendo os cistos, nesta ocasião, jovens e contendo apenas parasitos globulares (metrócitos) que dão os zoítas em forma de banana que caracterizam os cistos maduros, primeiro encontrados em torno de 11 SPI, e para HEYDORN et al. (1975), onde a formação de sarcocistos começou aos 33 DPI e foi completada aos 75 DPI. Na presente pesquisa, em necrópsias realizadas aos 62 e 100 DPI foram encontrados, respectivamente, cistos jovens e maduros. Quanto às características dimensionais da parede, GESTRICH et al. (1975), TADROS & LAARMAN (1976), BOCH et al. (1978), e no Brasil, GOMES & LIMA (1982), observaram que o sarcocisto de *S. cruzi* foi de parede lisa e com menos de 0.5 micra de espessura, o que também foi confirmado na presente pesquisa.

### 5.1.2. HOSPEDEIRO DEFINITIVO

Cães que receberam carne bovina infectada com *Sarcocystis* eliminaram nas fezes esporocistos elipsoidais, com 4 esporozoítas, com corpo residual em uma das extremidades e com diâmetros polar e equatorial semelhantes aos achados por HEYDORN & ROMMEL (1972, FAYER & LEEK 1973), MAHRT (1973) e FAYER, (1974).

HEYDORN & ROMMEL (1972) observaram período prepatente de 9 a 10 dias e infecção patente por 57 a 71 dias, considerando que um período patente tão longo pode ter sido um resultado da produção de uma infecção muito pesada, por alimentar cães com carne infectada, por vários dias consecutivos, ou ainda, diferenças podem ter resultado de diferenças específicas ou de linhagem do material infeccioso obtido de bovino, e JOHNSON et al. (1975) também observaram re-infecções com períodos patentes mais longos e acreditaram ser o fato devido a um maior número de parasitos na 2ª infecção, Por outro lado, OGASSAWARA et al. (1978) observaram que tanto a administração única como a múltipla revelaram que, independente da forma de administração bem como da conservação dos cistos, o período prepatente foi de 10 dias. Na presente pesquisa, em relação aos autores citados anteriormente, observou-se na 1ª infecção um período prepatente mais longo e um período patente mais curto, acreditando-se ter sido o fato devido à pequena quantidade de material infectante administrado aos cães

(150 gramas uma única vez). Ainda, neste experimento foi observado, na 2ª infecção, períodos prepatentes mais curtos e períodos patentes mais longos do que na 1ª infecção, entretanto, muito mais próximos àquêles referidos anteriormente por outros autores, acreditando-se, neste caso, que o fato tenha ocorrido porque foram dados, apesar de uma única vez, 500 gramas a cada cão.

Embora não se tenha uma explicação definitiva para persistência na eliminação de esporocistos, dados experimentais sugerem haver diferenças de linhagem e dose infectante de *Sarcocystis* (FAYER, 1974), e TADROS & LAARMAN (1976) afirmam que a localização profunda dos oocistos no tecido intestinal, faz com que ocorra um deslizamento gradual dos mesmos para o lumen intestinal, resultando, conseqüentemente, num período de patência relativamente longo.

GOMES & LIMA (1982) administraram coração bovino contendo *S. cruzi* a 3 cães e observaram, entre outros fatos, que o maior número de esporocistos foi verificado entre 15 e 30 DPI (no presente experimento, entre 15 e 28 DPI), que os picos foram atingidos no 24º e 25º DPI (no presente experimento, aos 17 e 22 DPI), que o número médio de esporocistos eliminados no pico foi de 1.025.000 (no presente experimento foi de 32.000 no 1º e 76.000 no 2º pico) e ainda, que 1 cão que recebeu infecção única eliminou esporocistos em 25 dias durante 61 dias de período de patência, enquanto 2 outros que re-

ceberam infecção durante vários dias consecutivos, eliminaram esporocistos em 29 e 35 dias, durante um período de patência de 76 e 90 dias, respectivamente (no presente experimento os períodos de patência foram de 27 dias na 1ª e 60 dias na 2ª infecção). As discrepâncias ocorreram, provavelmente, em decorrência da diferença de metodologia empregada na infecção dos cães.

## 5.2. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

### 5.2.1. HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO

O fato de ter sido encontrado na presente pesquisa, positividade para cistos e bradizoítas de *Sarcocystis* em todos os corações bovinos obtidos e examinados, apresenta considerável importância epidemiológica, pois é grande a facilidade que têm os carnívoros, particularmente os silvestres, de ingerirem carne infectada de carcaças de animais mortos, em especial nas criações extensivas, eliminando posteriormente os esporocistos que vão contaminar o meio, possibilitando a infecção do rebanho bovino, mantendo assim o ciclo em natureza. Este achado quanto à alta freqüência de positividade das amostras também tem sido relatado por muitos autores em várias partes do mundo (KALLAB, 1966; GARRO et al., 1971; LEVINE, 1973; KRUIJF et al., 1974; MUNDAY et al., 1975; BOCH et al., 1978; FASSI-FEHRI et al., 1978), e no Brasil, em Minas Gerais por GOMES & LIMA (1982). Mas o problema se reves-

te da mesma importância quantos aos carnívoros domésticos, pois é comum o hábito de alimentar esses animais com carnes e vísceras cruas ou mal passadas, levando às mesmas consequências já referidas.

### 5.2.2. HOSPEDEIRO DEFINITIVO

Congelamento de coração bovino infectado, na presente pesquisa, durante 17 dias, impediu a infecção de cães aos quais os corações foram administrados. Fato semelhante foi reportado por FAYER (1976), observando que carne bovina congelada por 7 dias perdeu a infectividade; o mesmo ocorreu quando carne bovina foi mantida a  $-20^{\circ}\text{C}$  por 3 dias, conforme observações de GESTRICH & HEYDORN (1974) e FAYER (1975).

Neste experimento observou-se também que cada cão foi capaz de eliminar em média 18 mil esporocistos por dia e que nas fases de maior eliminação e número chegou, nalguns casos, a 300 mil, num volume médio fecal diário de 200 gramas. Sem referir-se à eliminação diária e ao volume fecal, FAYER (1980) observou que nos dias de pico a eliminação média alcançava 145 mil a 408 mil esporocistos por animal.

## 5.3. ASPECTOS CLÍNICOS

### 5.3.1. HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO

Sinais clínicos generalizados observados na presen-

te pesquisa foram semelhantes aos relatados por outros autores (FAYER & JOHNSON, 1973/1974; FAYER, 1974a; FAYER & LUNDE, 1977; JOHNSON et al., 1975; MUNDAY et al., 1975; FRELIER et al., 1977; GILES et al., 1980; FAYER & PRASSE, 1981; GOMES & LIMA, 1982; DUBEY & FAYER, 1983). Estes sinais foram mais pronunciados no período de 20 a 27 DPI, tendo FAYER (1975) feito a mesma referência para o período de 21 a 28 DPI. Porém, GOMES & LIMA (1982) não observaram alterações nos índices normais de frequência cardíaca, frequência respiratória e movimentos de rumem em bezerros infectados com 200 mil ou 500 mil esporocistos de *S. cruzi*, mas na presente pesquisa, temperatura, pulso e movimentos respiratórios tiveram médias mais elevadas no grupo E do que no grupo C.

### 5.3.2. HOSPEDEIRO DEFINITIVO

Não se observou qualquer alteração clínica nos cães infectados nesta pesquisa, e DUBEY & FAYER (1983) observaram que cães aos quais carne bovina pesadamente infectada foi administrada, eliminaram grande número de esporocistos, porém, não ficaram doente, ainda que houvesse vômito e inapetência por 1 ou 2 dias, mas se estes sinais foram relacionados à infecção com *Sarcocystis* ou à dieta, não foi estabelecido.

## 5.4. ASPECTOS PATOLÓGICOS

### 5.4.1. HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO

#### a) Patogenia

A doença em bezerros inoculados com 250 mil a 1 milhão de esporocistos de *S. cruzi*, na presente pesquisa, caracterizou-se por progressiva perda de condição, anorexia, anemia, fraqueza, fezes diarréicas ou semidiarréicas, desidratação, hipertermia, linfadenopatia, prostração, decúbito e morte na maioria dos casos, ocorrendo as principais alterações no período de 20 a 27 DPI.

Embora tenha sido considerado não patogênico (JUBB & KENNEDY, 1970) muitos autores observaram as mesmas características (em condições naturais ou experimentais) descritas nesta pesquisa, até mesmo quanto às lesões mais proeminentes, descritas ocorreram entre 26 e 33 DPI (CORNER et al., 1963; JOHNSON, 1974; GESTRICH et al., 1975; JOHNSON et al., 1975; MAHRT & FAYER, 1975; DUBEY, 1976; FAYER et al., 1976b; MEADS, 1976; FRELIER et al., 1977; SCHMITZ & WOLF, 1977; GILES et al., 1980).

#### b) Anatomia Patológica

Relato de que sarcosporídeos parasitando bovino, não causavam fenômenos clínicos nem determinavam lesões ma-

croscópicas, foi feito por dos SANTOS (1979), entretanto, na presente pesquisa pode-se observar severas alterações, mais pronunciadas em necrópsias realizadas de 24 a 48 DPI, o que está de acordo com as informações de FAYER et al. (1973). Achados proeminentes de linfadenopatia, palidez das mucosas, emaciação e ascite, descritos por FAYER & JOHNSON (1975b), JOHNSON et al. (1975), MAHRT & FAYER (1975), BLOOD et al. (1979) e FAYER & PRASSE (1981), também foram observações da presente pesquisa.

JOHNSON et al. (1975), na sarcosporidiose induzida em bezerros, apontam que atrofia serosa da gordura foi generalizada, sendo a gordura escassa, gelatinosa, edematosa e marcada por petéquias e pequenos aglomerados brancos, além de excessivo líquido amarelo nas cavidades pericárdica, peritoneal e pleural, e nos bezerros moribundos que foram eutanasiados, o sangue foi notavelmente aquoso, observando-se ainda hemorragias petequiais no coração, pericárdio, serosa do trato gastrintestinal, mesentério, mediastino e bexiga, bem como, nos casos de resposta mais pronunciada à infecção, hemorragias equimóticas e pequenos pontos vermelhos nos rins, adrenais, pâncreas, mucosa do intestino delgado e cérebro, linfonodos aumentados, e musculatura estriada esquelética e cardíaca com matizes róseo e vermelho. Observações semelhantes a estas foram feitas na presente pesquisa, e também foram citadas por FRELIER et al. (1979), LEVINE & IVENS (1981) e DUBEY & FAYER (1983).

### c) Histopatologia

Na sarcosporidiose induzida em bezerros, JOHNSON et al. (1975) apontam que estágios de desenvolvimento não foram observados em animais examinados aos 3 e 19 DPI, entretanto, na presente pesquisa, merontes foram encontrados em exames realizados do 13° ao 27° DPI, o que está em acordo com os relatos de DUBEY (1982<sup>b</sup>).

Descrições de infiltrado celular mononuclear em pulmões, fígado e rins, feitas na presente pesquisa em exames realizados de 20 a 28 DPI, também foram feitas por JOHNSON et al. (1975) em exames realizados de 26 a 54 DPI, bem como por CORNER et al. (1963) e SCHMITZ & WOLF (1977) em casos naturais e experimentais.

Observações da presente pesquisa quanto a hemorragias e infiltrado celular mononuclear no sistema nervoso central, e de alguns casos sem resposta tissular aparente, também foram referidas por JOHNSON et al. (1975), apontando ainda estes autores que variações ocorreram de órgão a órgão e entre bezerros, o que também foi verificado na pesquisa ora descrita.

Lesões renais descritas aqui também foram relatadas por FAYER et al. (1976).

GESTRICH et al. (1975) encontraram, na musculatura de bezerros que receberam 2 milhões de esporocistos de *S. cruzi*

e foram examinados aos 98 DPI, cistos com parede de espessura menor que 0.5 micra, o que também foi visto na presente pesquisa, em exames realizados aos 100 DPI.

#### 5.4.2. HOSPEDEIRO DEFINITIVO

##### a) Patogenia

Pesquisas realizadas por vários autores demonstraram haver pouca ou nenhuma reação celular ao *S. cruzi*, sugerindo baixo nível de resistência a re-infecções em cães (HEYDORN & ROMMEL, 1972; FAYER, 1974<sup>b</sup>), bem como a não patogenicidade do parasito para carnívoros (LEVINE & IVENS, 1981), e no presente experimento, também não se observou qualquer alteração que pudesse ser atribuída ao *S. cruzi*.

##### b) Anatomia Patológica

Não foi observada qualquer alteração digna de nota, o que também foi citado por FAYER (1974<sup>b</sup>) e SHIMURA et al. (1981).

##### c) Histopatologia

FAYER (1974<sup>b</sup>) relata que lesões microscópicas não são encontradas, e que em secções coradas do intestino delgado, pouca ou nenhuma reação celular é vista, o que também foi confirmado por este experimento.

## 5.5. ASPECTOS DIAGNÓSTICOS

### 5.5.1. HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO

#### a) Clínico

Apesar da sarcocistose bovina ocorrer em quase todo o mundo, o diagnóstico clínico não é freqüente, conforme pode ser visto nas anotações de FRELIER et al. (1977), LEVINE (1977) e BLOOD et al. (1979); entretanto, sob condições experimentais, sinais clínicos generalizados como anemia, anorexia e perda de peso foram relatados por muitos autores (FAYER & JOHNSON, 1973/1974; FAYER et al., 1973; JOHNSON et al., 1975; MUNDAY et al., 1975; FRELIER et al., 1977; GILES et al;., 1980; FAYER & PRASSE, 1981; GOMES & LIMA, 1982), acrescentando-se que, segundo DUBEY & FAYER (1983), um diagnóstico presuntivo de sarcocistose bovina aguda é feito com base nos sinais clínicos de anemia, anorexia, febre, aumento de linfonodos, excessiva salivação e perda de pelos, sinais estes que também foram observados na presente pesquisa.

#### b) Laboratorial

##### bi. Hematologia Clínica

Como os linfócitos são geralmente mais do que 2 vezes mais numerosos do que os neutrófilos no sangue periférico, na saúde, nos bovinos, as respostas à doença, observadas

na contagem total e diferencial dos leucócitos, são tais que a contagem global não reflete a severidade da doença, particularmente no estágio inicial agudo, conforme ensinamentos de SCHALM et al. (1975), e que pode ser observado, neste experimento, ao se avaliar os quadros clínico-patológicos e os leucogramas das primeiras 3 SPI.

MAHRT & FAYER (1975) observaram anemia oligocitêmica entre a 3ª e a 4ª SPI, e no presente experimento, foi também na 4ª SPI que se observaram os valores médios mais baixos de eritrócitos do grupo E. Ainda aqueles autores comentam que níveis de VG, Hb e Hc do grupo E foram mais baixos do que o grupo C, de 27 a 30 DPI, enquanto na presente pesquisa observou-se que em praticamente todo o experimento os valores médios daqueles parâmetros, no grupo E, foram mais baixos do que no grupo C.

O relato de anemia macrocítica com resposta, após avaliação hematológica e biópsia de medula óssea, feito por FRELIER et al. (1977) num surto de sarcocistose em novilhas leiteiras, é coincidente com os achados da presente pesquisa, da 4ª à 7ª SPI, quando foi observada considerável macrocitose e policromatofilia.

Inoculando *S. cruzi* em bezerros de 3 a 6 meses de idade e pesando em média 80kg, FAYER & LYNCH (1979) observaram redução no número de leucócitos, particularmente durante a 5ª SPI (nesta pesquisa ocorreu na 8ª SPI), contudo, os leu-

cócitos já estavam baixos no começo do experimento (o que também ocorreu na presente pesquisa) e assim o efeito pode ter sido, pelo menos em parte, ao menor número de leucócitos nos animais. Valores de Hb também estavam reduzidos, particularmente durante a 6<sup>a</sup> SPI (na presente pesquisa particularmente da 7<sup>a</sup> à 9<sup>a</sup> SPI), e por estes resultados, aqueles autores indicam que *S. cruzi* tem vários efeitos específicos sobre bezerros, mais do que aqueles induzidos por estado nutricional, incluindo evidência metabólica de má função renal, catabolismo muscular, indução precoce de gliconeogênese e redução da contagem de Hc, de leucócitos e teores de Hb.

MARQUES Jr et al. (1983) observaram diminuição progressiva dos valores de Hc, Hb e VG a partir da 2<sup>a</sup> SPI, atingindo valores de 50% do normal entre a 6<sup>a</sup> e a 8<sup>a</sup> SPI (o que também foi observado por FAYER & JOHNSON, 1975<sup>b</sup>; MAHRT & FAYER, 1975 e FAYER & PRASSE, 1981), e na presente pesquisa, quanto aos parâmetros assinalados, as Hc tiveram valores inconstantes, enquanto Hb e VG diminuíram a partir da 4<sup>a</sup> SPI, atingindo cerca de 50% dos valores de referência entre a 7<sup>a</sup> e a 9<sup>a</sup> SPI; revelaram ainda os autores que os índices hematólogicos absolutos indicaram anemia normocítica normocrômica, semelhante à encontrada em infecção experimental realizada pelos autores anteriormente citados e em casos de infecção natural diagnosticados por GILES et al. (1980) e COLLERY & WEAVERS (1981), mas diferente da observada por FRELIER et al (1977)-macroscítica; na presente pesquisa e anemia foi do ti-

po macrocítica, neste aspecto igual à referida por FRELIER et al. (1977).

Relatam FAYER (1975), FAYER & PRASSE (1981) e MARGUES Jr et al. (1983) que, apesar da variação na LG e nas contagens diferenciais nos exames semanais, observou-se que os valores encontrados estiveram sempre dentro dos limites normais; na presente pesquisa também houve variação na LG e nas contagens diferenciais, entretanto, na 4<sup>a</sup>, 6<sup>a</sup> e 7<sup>a</sup> SPI observaram-se aumentos consideráveis na LG, em decorrência principalmente dos aumentos dos linfócitos, mas também nos neutrófilos.

#### bii. Bioquímica Clínica

Níveis de P e F apresentaram variações durante a pesquisa, entretanto, sem atingir valores fora dos normais referidos por SCHALM et al. (1975), que são para P - 7.0 a 8.5 g/dl e para F - 300 a 700 mg/dl. O mesmo foi verificado por MAHRT & FAYER (1975) em bezerros experimentalmente infectados com 220 mil esporocistos de *S. cruzi*, enquanto LEEK & FAYER (1980) observaram que os níveis das proteínas séricas reduziram-se significativamente durante o período agudo da doença e então aumentaram rapidamente e alcançaram níveis significativamente altos aos 56 e 63 DPI, o que difere da presente pesquisa neste ponto, pois aos 56 DPI verificaram-se as menores médias de P. Ainda, PRASSE & FAYER (1981) observa-

ram diminuição nas proteínas séricas apenas entre a 3ª e a 4ª SPI, e MARQUES Jr et al. (1983) entre a 3ª e a 7ª SPI, enquanto na presente pesquisa a diminuição foi progressiva da 1ª à 8ª SPI, independente dos progressivos aumentos nos valores de F.

Aumentos nas atividades de LDH e ASAT foram relatados por FRELIER et al. (1977) num surto de sarcocistose em novilhas leiteiras, e FRELIER et al. (1979) infectando bezerros com 200 mil a 1 milhão de esporocistos de *S. cruzi*, observaram aumentos nas atividades de enzimas associadas com dano de fibra muscular (CPK, ASAT e LDH), afirmando MAHRT & FAYER (1975) que estes aumentos coincidem com lesões de miopatia degenerativa. Na presente pesquisa CPK e ASAT tiveram aumentos, particularmente de 27 a 48 DPI, enquanto aumentos de LDH ocorreram de 13 a 41 DPI.

### c) Anátomo-Histopatológico

A infecção por *Sarcocystis* é determinada quase que exclusivamente pelo achado de cistos intramusculares em seções histológicas, ou seu conteúdo em preparações de digestão de musculatura (FAYER & JOHNSON, 1974), sendo o diagnóstico da sarcocistose aguda ainda mais difícil, já que as manifestações clínicas só recentemente têm sido reportadas (JOHNSON et al., 1975; MAHRT & FAYER, 1975; DUBEY & FAYER, 1983), e o curto estágio parasítico (meronte) responsável por

doença aguda pode ser impossível de ser encontrado em secções histológicas (FAYER et al., 1976). Na presente pesquisa, o achado de cistos microscópicos intramusculares foi realizado de forma rápida pela técnica de simples escarificação de amostras de musculatura cardíaca.

A técnica da digestão péptica descrita por JACOBS & MELTON (1957) mostrou ser, no bovino, um método preciso e seguro para a pesquisa de sarcosporídeos, e GOMES & LIMA (1982) com o objetivo de fazer a diferenciação das espécies de *Sarcocystis* presentes em amostras de tecidos bovinos, fizeram mensurações nas paredes, encontrando cistos medindo 0.5, 4.8 e 5.8 micra, enquanto GESTRICH et al. (1975) utilizando técnica semelhante identificaram 3 espécies da *Sarcocystis*, concluindo que os cistos cujas paredes mediam menos de 0.5 micra deveriam ser identificados como pertencentes à espécie *S. bovicanis* (*S. cruzi*), e aqueles de paredes espessas, possuindo em média 4.7 e 5.8 micra, deveriam ser identificados como pertencentes às espécies *S. bovifelis* (*S. hirsuta*) e *S. bovi hominis* (*S. hominis*), respectivamente. Na presente pesquisa utilizou-se a técnica da digestão tríptica, que além dos bons resultados para identificação de formas parasíticas tem a vantagem de ser bem mais rápida do que a técnica da digestão péptica.

### 5. 5. 2. HOSPEDEIRO DEFINITIVO

Os aspectos morfométricos dos esporocistos eliminados nas fezes dos cães experimentalmente infectados na presente pesquisa, são coincidentes com aquelas observados por vários autores (HEYDORN & ROMMEL, 1972; FAYER & LEEK, 1973; MAHRT & FAYER, 1973; FAYER, 1974; OGASSAWARA et al., 1977; SHIMURA et al., 1981; GOMES & LIMA, 1982) e são indicativos da espécie *S. cruzi*.

### 5. 6. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Apesar dos animais passarem parte do dia em piquetes, não foi reconhecida nos mesmos qualquer planta tóxica, além disto, segundo TOKARNIA et al. (1967), intoxicação por samambaia (*Pteridium aquilinum*) ocorre somente no inverno (de abril a agosto), portanto, fora do período em que a presente pesquisa foi realizada, e também pelo fato de que a intoxicação se caracteriza, entre outros achados, por diátese hemorrágica, erosões e úlceras nas narinas e mucosas do aparelho digestivo, hemorragias das aberturas naturais e diarreia fétida com coágulos de sangue, achados estes que não foram observados na presente pesquisa; da mesma forma, os sinais e achados mais comuns da intoxicação por coerana (*Cestrum laevigatum*), conforme DOBEREINER et al. (1969), a causa mais comum de intoxicação por planta no Rio de Janeiro, não foram vistos nesta pesquisa.

ROBERTS (1970) afirma que hemoglobínúria, icterícia generalizada e hemorragia subepitelial, subserosal e submucosal são achados muito comuns na leptospirose, mas, à exceção da hemorragia subserosal, nenhum deles foi verificado no presente experimento.

RISTIC (1961/1970) relata que na anaplasiose as lesões proeminentes incluem mucosas ictéricas, baço aumentado, vesícula biliar obstruída, hemosiderose e eritrofagocitose, sendo que com a presente pesquisa, a única coincidência foi em relação ao aumento do baço, apesar do parasito (*Anaplasma marginale*) ter sido encontrado em esfregaços de sangue periférico de alguns animais, inclusive controles.

Quanto à babesiose, RISTIC (1970) relata que há anemia progressiva, hemoglobinemia, hemoglobínúria, baço sempre aumentado, degeneração hepática, obstrução de dutos biliares e resultante icterícia, e que a forma aguda é facilmente reconhecida clinicamente e pode ser diagnosticada pela presença do parasito intra-eritrocitariamente em esfregaços de sangue periférico, o que não foi observado nesta pesquisa, bem como não foram observadas outras alterações citadas.

Coccidioses provocadas principalmente por *Eimeria bovis* e *E. zurni* devem ser citadas, e conforme BAILEY (1970), diarréia mucosanguinolenta é o sinal mais característico, entretanto, na presente pesquisa, além de não se verificar esta alteração, formas parasíticas não foram encontradas no

exame do trato intestinal.

Aproveitando as informações de DUBEY & FAYER (1983), pode-se comentar ainda que esquizontes de *Sarcocystis* necessitam ser diferenciados de taquizoítas e cistos tissulares de *Toxoplasma*, observando-se que esquizontes de *Sarcocystis* ocorrem nos ou próximos aos vasos sanguíneos e estão em contato direto com o citoplasma da célula hospedeira, enquanto *Toxoplasma* cresce em virtualmente todas as células e está separado do citoplasma da célula hospedeira por um vacúolo, acrescentando-se que, conforme TADROS & LAARMAN (1976), ao contrário de *Sarcocystis*, o interior dos cistos de *Toxoplasma* não é dividido em compartimentos.

Ligeira semelhança com algumas alterações do quadro clínico observa-se na ehrlichiose, entretanto, a figura do parasito em desenvolvimento, em células mononucleares do sangue, conforme descrição de MASSARD (1984), é a de grânulos cocóides, arredondados ou ovais agrupados em colônias (móru-las) que tem coloração ligeiramente diferente do núcleo da célula, em tonalidade azul púrpura, lilás ou vermelha, diferente dos merozoítas de *Sarcocystis*, que só raramente são encontrados de forma arredondada e apresentam coloração muito próxima a do núcleo da célula mononuclear hospedeira. Aponta ainda a referida autora que, em relação ao quadro hematológico, os neutrófilos geralmente apresentam-se dentro dos limites considerados normais, ou as vezes um pouco abaixo quan-

do ocorria linfocitose e monocitose mais acentuadas, o que difere sobremaneira do que ocorreu na infecção por *Sarcocystis* na presente pesquisa, pois as fases em que houve maiores números de neutrófilos foram coincidentes com os aumentos de linfócitos, e os monócitos permaneceram baixos durante todo o experimento.

## CONCLUSÕES

Diante dos estudos, análises e resultados obtidos, pode-se concluir que:

A. Quanto ao hospedeiro intermediário:

- Esfregaços preparados com material de simples escarificação de cortes de músculo cardíaco de bovino, pode ser um meio fácil e rápido para revelar a presença de cistos e cistozoítas;

- Exames de corações obtidos nos matadouros de Santa Cruz e Nilópolis, ambos no Estado do Rio de Janeiro, foram positivos para cistos e bradizoítas de *Sarcocystis*;

Nos animais infectados experimentalmente com *S. cruzi*, os sinais clínicos foram mais proeminentes no período de 20 a 27 DPI independente do inóculo administrado, observando-se que mais de 62% dos animais morreram, dos quais 50% entre o 13° e o 27° DPI;

- Merontes ou merozoítas de *S. cruzi* foram observados em células mononucleares, em esfregaços de sangue periférico

ou mesmo da capa de leucócitos, preparados do 24° ao 27° DPI;

- Valores médios da série vermelha do hemograma do grupo infectado foram inferiores àquêles do grupo controle em praticamente todo o experimento, ocorrendo os valores mais baixos no período correspondente à 4ª SPI, sendo a anemia caracterizada como macrocítica com resposta;

As fases em que ocorreram as mais elevadas LG foram caracterizadas, na leucometria específica, por aumentos de linfócitos e neutrófilos;

- Enquanto os níveis de P diminuíram, os de F aumentaram progressivamente da 1ª à 8ª SPI, contudo, sem sair da normalidade;

- Aumento das atividades dos enzimas CPK e ASAT foram observados entre 27 a 48 DPI, enquanto os de LDH ocorreram de 13 a 41 DPI;

- Achados anátomo-patológicos proeminentes caracterizaram-se por linfadenopatia, palidez de mucosas, emaciação, atrofia serosa da gordura, excessivo volume líquido nas cavidades pericárdica, pleural e peritoneal, sangue aquoso (sem haver hemoglobinemia), hemorragias petequiais e sufusões nas serosas de muitos órgãos, e musculatura estriada cardíaca e esquelética com aspecto tigróide;

- Histopatologicamente pode-se observar: estágios de desenvolvimento (merontes) de *S. cruzi* bem como infiltrado celular mononuclear em vários órgãos examinados de 13 a 28 DPI; durante o mesmo período, áreas sugerindo hemorragia e edema peri-

vascular foram observadas no córtex cerebral; ainda, necrose com hemorragia, atrofia de glomérulos e deposição de material de caráter protéico foram observados no córtex renal, enquanto na medular observou-se o aparecimento de cilindros hialinos e hemáticos. Quanto à musculatura estriada, na cardíaca observaram-se sarcocistos de *S. cruzi*, sem reação inflamatória, enquanto na esquelética observou-se degeneração hialina e necrose, com perda parcial de fibras. Os referidos cistos foram observados após digestão triptica da musculatura cardíaca de animais mortos aos 100 DPI, sendo a técnica rápida e segura no reconhecimento de formas do parasito.

B. Quanto ao hospedeiro definitivo:

- Coração bovino positivo para cistos de *S. cruzi*, mantido congelado por 17 dias, não infectou cães;

- Na 1ª infecção dos cães, o período prepatente variou de 11 a 17 dias, com picos de eliminação aos 17 e 22 DPI, e o período de patência foi de 27 dias; na 2ª infecção o período prepatente foi mais curto (7 a 12 dias) e o período patente foi mais longo (60 dias);

- Os cães eliminaram em média cerca de 18 mil esporocistos por dia, chegando a 300 mil nos dias de máxima eliminação;

- As dimensões médias dos esporocistos foram 15.0x10.0 micra, permitindo concluir, baseando-se nos dados biomorfométricos, tratar-se de *S. cruzi*;

- Nenhuma alteração clínica foi observada nos cães infec-

tados, não sendo também observada qualquer alteração anátomo-histopatológica;

Esporocistos de *S. cruzi* foram encontrados em linfonodos mesentéricos de cães infectados com *S. cruzi*, após digestão triptica do órgão.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGNESE, M.O. 1951. Sarcosporidiose cardíaca como uma das causas da doença de Adam-Stokes. V Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, S. Paulo. Anais, São Paulo, p. 363-369.
- ARYEETAY, M.E. & PIEKARSKI, G. 1976. Serologische *Sarcocystis*-Studien am Menschen und Ratten. Z. Parasitenkd., 50:109-124.
- BAILEY, W.S. 1970. Coccidiosis. In: Bovine Medicine & Surgery (W.J. GIBBONS; E.J. CATCOTT & J.F. SMITHCORS, eds.), p. 686-710. American Veterinary Publications, Illinois.
- BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C. de & FREITAS NETO, A.G.de. 1976. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. Edart, São Paulo. 256 p.
- BIGALKE, R.D. 1960. Preliminary observations on the mechanical transmission of cyst organisms of *Besnoitia besnoiti* from a chronically infected bull to rabbits by *Glossina brevipalpis*. J.S. Afr. Vet. Med. Ass., 31:37-44.

- BIGALKE, R.D. 1967. The artificial transmission of *Besnoitia besnoiti* from chronically infected bull to susceptible cattle and rabbits. *Onderst. J. Vet. Res.*, 34:303-316.
- BLAZER, K.; KORTLY, A. & IPPEN, R. 1976. Sarkosporidiosa Myocardu sparkate zvere. *Vet. Med.*, (Praha), 49:75-80.
- BLEWASKA, S. 1981. Versuche zur Steigerung der Befallsextenstat und intensitat der *Sarcocystis muris*-lnfektion. Inaug. Diss., Hannover Tierarztl. Hochschule. 56p.
- BLOOD, D.C.; HENDERSON, J.A. & RADOSTITS, O.M. 1979. *Veterinary Medicine*. 5. ed., Lea & Febiger, Philadelphia. 1135 p.
- BOCH, J.; LAUPHEIMER, K. E. & ERBER, M. 1978. Drei Sarkosporidienarten bei Schlachtrindern in Suddeutschland. *Berl. Muench. Tierarztl. Wochenschr.*, 91(21):426-431.
- BOTELHO, G.G. 1977. Proteína total e frações do soro sanguíneo de bovinos submetidos ao cloridrato de xilazina. *Arq. Esc.Vet. UFMG*, 29(1):43-47.
- BOTELHO, G.G. & LOPES, C.W,G. 1983. Esporocistos de *Sarcocystis cruzi* (HASSELMANN,1926) (Apicomplexa,Sarcocystidae) nos linfonodos mesentéricos de cães. *Arq. UFRRJ*, no prelo.
- BURGISSER, H. 1975. Compte-rendu sur les maladies des animaux sauvages. *Schweizer Archiv fur Tierheilkunde*, 117:397-400.
- CERNÁ, Z. 1981. Further studies on the life cycle of sarcosporidians in the intermediate host. *Progress in Protozoology. Abstracts. VI Int. Cong. Protozool.*, Warszawa, Polônia, p. 49.

- CERNÁ, Z. 1983. Multiplication of merozoites of *Sarcocystis dispersa* Cerná, Kolárová et Sulc, 1978 and *Sarcocystis cerne* Levine, 1977 in the blood stream of the intermediate host. *Folia Parasitologica*, (Praha), 30:5-8.
- COLLERY, P. & WEAVERS, E. 1981. An outbreak of sarcocystosis in calves in Ireland. *Ir. Vet. J.*, Dublin, 35:159-162.
- CORNER, A.H.; MITCHELL, D. & MEADS, E.B. 1963. Dalmeny disease. An infection of cattle presumed to be caused by an unidentified protozoan. *Can. Vet. J.*, 4:252-264.
- COSTA VAL, V.P.; PESSOA, J.M. & FERREIRA NETO, J.M. 1971. Variações no hemograma de bezerros durante os primeiros estágios de vida após o nascimento. *Arq. Esc. Vet. UFMG*, 23:291-296.
- DESSER, S.S. 1978. Extraintestinal development of eimeriid coccidia in pigs and chamois. *J. Parasitol.*, 64:933-935.
- DOBEREINER, J.; TOKARNIA, C.H. & CANELLA, C.F.C. 1969. Intoxicação por *Cestrum laevigatum* Schlecht, a causa de mortandades em bovinos no Estado do Rio de Janeiro. *Pesq. Agropec. Bras.*, 4:165-193.
- dos SANTOS, J.A. 1979. *Patologia Especial dos Animais Domésticos*. 2. ed., Interamericana, Rio de Janeiro. 576 p.
- DUBEY, J.P. 1976. A review of *Sarcocystis* of domestic animals and of other coccidia of cats and dogs. *J. Am. Med. Assoc.*, Schaumburg, 169(10):1061-1078.

- DUBEY, J.P. 1980. Coyote as final host for *Sarcosytis* especies of goat, sheep, cattle, elk, bison and moose in Montana. Am. J. Vet. Res., 41: 1227-1229.
- DUBEY, J.P. 1982a. Quantitative parasitemia in calves fed *Sarcocystis cruzi* sporocysts from coyotes. Am. J. Vet. Res., 43: 1085-1086.
- DUBEY, J.P. 1982b. Development of ox-coyote cycle of *Sarcocystis cruzi*. J. protozool., 29: 591-601.
- DUBEY, J.P. & FAYER, R. 1983. Sarcosystosis. Br. Vet. J., 139: 371-377.
- DUBEY, J.P. & FRENKEL, J.K. 1972. Extraintestinal stages of *Isospora felis* and *I. rivolta* (Protozoa: Eimeriidae) in cats. J. Protozool., 19: 89-92.
- FASSI-FEHRI, N.; CABARET, J.; AMAQDOUF, A. & DARDAR, F. 1978. La sarcosporidiose des ruminantes au Maroc: étude epidemiologique par deux techniques histologiques. Ann. Rech. Vet., Paris, 9(3): 409-417.
- FAYER, R. 1974a. *Canis latrans* and *C. familiaris*: Hosts of *Sarcocystis fusiformis*. Proc. Third Internatl. Congr. Parasitol., 61: 114-115.
- FAYER, R. 1974b. Development of *Sarcocystis fusiformis* in the small intestine of the dog. J. Parasitol., 60: 660-665.
- FAYER, R. 1975. Effects of refrigeration, cooking and freezing on *Sarcocystis* in beef from retail food stores. Proc. Helminthal. Soc. Wash., 42: 138-140.

- FAYER, R. 1976. Economic losses to *Sarcocystis*. Natl. Wool Grow, 66:22-24.
- FAYER, R. 1977. The first sexual generation in the life cycle of *Sarcocystis bovicanis*. Proc. Helminthol. Soc. Wash., 44:206-209.
- FAYER, R. 1979. Multiplication of *Sarcocystis bovicanis* in the bovine blood-stream. J. Parasitol., 65(6):980-982.
- FAYER, R. 1980. Epidemiology of protozoan infections: the coccidia. Vet. Parasitol., 6:75-103.
- FAYER, R. & JOHNSON, A.J. 1973. Development of *Sarcocystis fusiformis* in calves infected with sporocysts from dogs. J. Parasitol., 59:1135-1137.
- FAYER, R. & JOHNSON, A.J. 1974. *Sarcocystis fusiformis*: Development of cysts in calves infected with sporocysts from dogs. Proc. Helminthol. Soc. Wash., 41:105-108.
- FAYER, R. & JOHNSON, A.J. 1975. Effect of amprolium on acute sarcocystosis in experimentally infected calves. J. Parasitol., Lawrence, 61(5):932-936.
- FAYER, R. & LEEK, R.G. 1973. Excystation of *Sarcocystis fusiformis* sporocysts from dogs. Proc. Helminthol. Soc. Wash., 40:294-296.
- FAYER, R. & LEEK, R.G. 1979. *Sarcocystis* transmitted by blood transfusion. J. Parasitol., 65(6):890-893.

- FAYER, R. & LUNDE, M.N. 1977. Changes in serum and plasma proteins and in IgG and IgM antibodies in calves experimentally infected with *Sarcocystis* from dogs. J. Parasitol., 63(3):438-442.
- FAYER, R. & LYNCH, G.P. 1979. Pathophysiological changes in urine and blood from calves experimentally infected with *Sarcocystis cruzi*. J. Parasitol., 79:325-336.
- FAYER, R. & PRASSE, R.W. 1981. Hematology of experimental acute *Sarcocystis bovicanis* infection in calves. I. Cellular and serologic changes. Vet. Pathol., Washington, 18: 351-357.
- FAYER, R.; JOHNSON, A.J. & HILDEBRANDT, P.K. 1976a. Oral infection of mammals with *Sarcocystis fusiformis* bradyzoites from cattle and sporocysts from dogs and coyotes. J. Parasitol., 62(1):10-14.
- FAYER, R.; JOHNSON, A.J. & LUNDE, M. 1976b. Abortion and other signs of disease in cows experimentally infected with *Sarcocystis fusiformis* from dogs. J. Infec. Dis., 134(6):624-628.
- FAYER, R.; LYNCH, G.P. & LEEK, R.G. 1983. Effects of sarcocystosis on milk production of dairy cows. J. Dairy Sci., 66:904-908.
- FAYER, R.; MAHRT, J.L. & JOHNSON, A.J. 1973. The life cycle and pathogenic effects of *Sarcocystis fusiformis* in expe-

- rimentally infected calves. J. Protozool., 20: 509.
- FERREIRA, A.W.; CALDINI, A.L.M.; HOSHINO-SHIMIZU, S. & CAMARGO, M.E. 1979. Immunoenzymatic assay for the detection of *Schistosoma mansoni* antigens in serum of mice harbouring bisexual or unisexual light worm infections. J. Helminthol., 53: 189-194.
- FRELIER, P.; MAYHEW, I.G. & POLLOK, R. 1979. Bovine sarcocystosis: Pathologic features of naturally occurring infection with *Sarcocystis cruzi*. Am. J. Vet. Res., 49 (5): 651-657.
- FRELIER, P.; MAYHEW, I.G.; FAYER, R. & LUNDE, M.N. 1977. Sarcocystosis: A clinical outbreak in dairy calves. Science, 195: 1341-1342.
- FRENKEL, J.K. 1973. Toxoplasmosis: parasite life cycle, pathology and immunology. In: The Coccidia (D. M. Hammond & P.L. Long, eds.), p. 343-410. University Park Press, Baltimore.
- FRENKEL, J.K. & DUBEY, J.P. 1974. *Hammondia hammondi* gen. nov., sp. nov., from domestic cats, a new coccidian related to *Toxoplasma* and *Sarcocystis*. Z. Parasitenkd., 46: 3-12.
- GALLO, C. & BALBO, S.M. 1976. Anaplasmosis i anemia infectiva del bovino. M. Rev. Zootec. Vet., 3: 329-345.
- GARRO, M. C.P.; OSÓRIO, M.R.; GARCIA, V.G. & CASTRO, J.G. 1971. Contribution al estudio de la sarcosporiosis. Su frecuencia en el ganado vacuno de la provincia de Granada. Rev. Iber. Parasitol., Granada, 31 (3/4): 315-318.

- GESTRICH, R. & HEYDORN, A.-O. 1974. Untersuchungen zur Überlebensdauer von Sarkosporidienzysten in Fleisch von Schlactieren. Berl. Muench. Tierarztl. Wochenschr., 87:475-476.
- GESTRICH, R.; HEYDORN, A.-O. & BAYSU, N. 1975. Beitrage zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. VI Untersuchungen zur Antendifferenzierung bei *Sarcocystis fusiformis* und *Sarcocystis tenella*. Berl. Muench. Tierarztl. Wochenschr., 88:191-197.
- GILES, R.S.; TRAMONTIN, R.; KADEL, W.L.; WHITAKER, K.; MIKSCH, D.; BRYANT, D.W. & FAYER, R. 1980. Sarcocystosis in cattle in Kentucky. J. Am. Vet. Med. Assoc., Schaumburg, 176(6): 543-548.
- GOMES, A.G. & LIMA, J.D. 1982. *Sarcocystis* Lankester, 1882 em bovinos de Minas Gerais; ocorrência e métodos de diagnóstico. Arq. Esc. Vet. UFMG, 34(1):83-92.
- HEYDORN, A.-O. 1977a. Beitrage zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. IX Entwicklungszyklus von *Sarcocystis Suihominis* n. spec. Berl. Muench. Tierarztl. Wochenschr., 90:218-224.
- HEYDORN, A.-O. 1977b. Sarkosporidieninfiziertes Fleisch als mögliche Krankheitsursache für den Menschen. Archiv. für Lebensmittelhygiene, 28:27-31.

- HEYDORN, A.-O. & GESTRICH, R. 1976. Beitrage zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. VII Entwicklungsstadien von *Sarcocystis ovicanis* im Schaf. Berl. Muench. Tierarztl. Wochenschr., 89:1-5.
- HEYDORN, A.-O. & ROMMEL, M, 1972. Beitrage zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. II. Hund und Katze als Uebertrager der Sarkosporidien des Rindes. Berl. Muench. Tierarztl. Wochenschr., 85:121-123.
- HEYDORN, A.-O.; GESTRICH, R.; MEHLHORN, H. & ROMMEL, M. 1975. Proposal for a new nomenclature of the Sarcosporidia. Z. Parasitenkd., 48:73-82.
- HONER, M.R. 1965. The interpretation of faecal egg-counts. I. Daily variation in *Fasciola hepatica* egg-counts in cattle. Z. Parasitenkd., 26:143-155.
- HORTON-SMITH, C. 1947. Coccidiosis: some factors influencing its epidemiology. Vet. Rec., 56:645-646.
- HORTON-SMITH, C. 1949. The acquisition of resistance to coccidiosis by chickens during treatment with sulphonamides. Vet. Rec., 61:237-238.
- HORTON-SMITH, C. 1963. Immunity to avian coccidiosis. Brit. Vet. J., 119:99-109.
- JACOBS, L. & MELTON, M.L. 1957. A procedure for testing meat samples for *Toxoplasma*, with preliminary results of a survey of pork and beef samples. J. Parasitol., Lawrence, 43(5):38-39.

- JEFFREY, H.C. 1974. Sarcosporidiosis in man. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 68:17-20.
- JOHNSON, A.J.; HILDEBRANDT, P.K. & FAYER, R. 1975. Experimentally induced *Sarcocystis* infection in calves: Pathology. *Am. J. Vet. Res.*, 36(7):995-999.
- JUBB, K.V.F. & KENNEDY, P.C. 1970. Pathology of domestic animals. 2. ed., Academic Press, New York. 480p.
- KALLAB, K. 1966. Uber das Verkommen von Sarkosporidien. *Wien. Tierarztl. Monatsschr., Hron*, 53(1):34-39.
- KANEKO, J.J. 1980. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 3. ed., Academic Press, New York. 832 p.
- KARR, J. L. Jr. & WONG, N.M. 1975. A survey of *Sarcocystis* in nonhuman primates. *Lab. An. Sci.*, 25:641-645.
- KRUIJF, J.M.; VAN LOGTESTIJON, J.G.; FRANKEN, P. & HERDER, K. A.M. 1974. Sarcosporidiosis in cattle and swine. *Tijdschr. Diergeneeskd., Utrecht*, 99(6):303-308.
- KUTTY, M.K. & DISSANAIKE, A.S. 1975. A case of human *Sarcocystis* infection in West Malaysia. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 60:503-504.
- KUTTY, M.K.; DAS, A.M. & DISSANAIKE, A.S. 1975. *Sarcocystis* infection in an orang asli: the second human case from Malaysia. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public. Health*, 6: 400-401.

- LAARMAN, J.J. 1964. Isosporiasis in man. *Trop. Geogr. Med.*, 16:268-269.
- LAARMAN, J.J. & MAS BAKAL, P. 1971. The age-distribution of carriers of *Isospora hominis*, with some remarks on the occurrence of antibodies to *Toxoplasma* in these carriers. *Comptes rendus du 1er. Multicolloque européen de Parasitologie, Rennes*, p. 276-278.
- LEEK, R.G. & FAYER, R. 1976. Studies on ovine abortions and intra-uterine transmission following experimental infection with *Sarcocystis* from dogs. IV Congr. Latino-americano de Parasitologia, San José, Costa Rica, Dec., p. 8-11.
- LEEK, R.G. & FAYER, R. 1978. Infectivity of *Sarcocystis* in beef and beef products from a retail food store. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.*, 45:135-136.
- LEEK, R.G. & FAYER, R. 1980. Amprolium for prophylaxis of ovine *Sarcocystis*. *J. Parasitol.*, 66(1):100-106.
- LEEK, R.G.; FAYER, R. & JOHNSON, A.J. 1977. Sheep experimentally infected with *Sarcocystis* from dogs. I. Disease in young lambs. *J. Parasitol.*, 63(4):642-650.
- LEVINE, N.D. 1973. Protozoan parasites of domestic animals and of man. Burgess, Minneapolis. 406 p.
- LEVINE, N.D. 1977. Nomenclature of *Sarcocystis* in the ox and sheep and of fecal coccidia of the dog and cat. *J. Parasitol.*, 63:36-51.

- LEVINE, N.D. 1982. Taxonomy and life cycles of coccidia. In: Long, P.L. ed., University Park Press, Baltimore, p. 1-33.
- LEVINE, N.D. & IVENS, V. 1981. The coccidian parasites (Protozoa, Apicomplexa) of carnivores. University of Illinois Press, Urbana. 204 p.
- LIMA, J.D. 1979. Development of *Eimeria* species in mesenteric lymph nodes of goats. J. Parasitol., 65(6):976-978.
- LOTZE, J.C.; SHALKOP, W.T.; LEEK, R.G. & BEHIM, R. 1964. Coccidial schizonts in mesenteric lymph nodes of sheep and goats. J. Parasitol., 50:205-208.
- LOZANO, A.F. 1975. Patogenesis de la babesiosis ocasionada por la *Babesia bigemina*. Rev. Inst. Colombiano Agrop., 10 (4):557-558.
- LUNDE, M.N. & FAYER, R. 1977. Serologic tests for antibody to *Sarcocystis* in cattle. J. Parasitol., 63:222-225.
- MAHRT, J.L. 1973. *Sarcocystis* in dogs and its probable transmission from cattle. J. Parasitol., 59:588-589.
- MAHRT, J.L. & FAYER, R. 1975. Hematologic and serologic changes in calves experimentally infected with *Sarcocystis fusiformis*. J. Parasitol., 61:967-969.
- MANDOUR, A.N. 1965. Life history of *Sarcocystis*. Prog. Protozool., 2:189-190.

- MARKUS, M.B. 1978. *Sarcocystis* and sarcocystosis in domestic animals. Academic Press, New York, p. 159-193.
- MARKUS, M.B.; KILLICK-KENDRICK, R. & GARNHAM, P.C.C. 1974. The coccidial nature and life-cycle of *Sarcocystis*. J. Trop. Med. Hyg., 77:248-259.
- MARQUES Jr., A.P.; MARTINS, N.E.; LIMA, J.D. & GOMES, A. G. 1983. Aspectos hematológicos na sarcocistose bovina. Arq. Bras. Med. Vet. Zoot., 35(2):141-149.
- MASSARD, C. de A. 1984. *Ehrlichia bovis* (Donatien & Lestoquard, 1936): Diagnóstico, Cultivo "in vitro" e aspectos epidemiológicos em bovinos no Brasil. Tese Doutorado, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro. 113 p.
- McCONNELL, E.E.; BASSON, P. E.; THOMAS, S.E. & DE VOS, V. 1972. Oocysts of *Isospora papionis* in the skeletal muscle of Chacma baboon. Onderst. J. Vet. Res., 39:113-116.
- MEADS, E.B. 1976. Dalmeny disease, another outbreak probably sarcocystosis. Can. Vet. J., 17(10):271.
- MEDWAY, W.; PRIER, J.E. & WILKINSON, J.S. 1973. Patologia Clínica Veterinária. U.T.E.H.A., México; 532p.
- MEHLHORN, H. & HEYDORN, A.-O. 1977. Lichtund elektronen mikroskopische Untersuchungen an *Sarcocystis sui hominis*. Zentralblatt fur Bakteriologic Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene, I. Abteilung, Originale, Reihe A, 239:124-139.

- MEHLHORN, H.; HEYDORN, A.-O. & GESTRICH, R. 1975. Light and electron microscope studies on cysts of *Sarcocystis fusiformis* in the muscles of calves infected experimentally with oocysts and sporocysts of the large form of *Isospora bigemina* from dogs. 1. The development of cysts and cyst wall. Z. Bacteriol. Parasitenk. Infektionskr. Hyg. Erste Abt. Orig. Reihe A Med. Mikrobiol. Parasitol., 232:392-409.
- MOLLERBERG, L.; EKMAN, L. & JACOBSSON, S. 1975. Ferrocinetic studies in normal and iron deficiency anemic calves. Acta Vet. Scand., 16:205-207.
- MUNDAY, B.L. & BLACK, H. 1976. Suspected *Sarcocystis* infections of the bovine placenta and foetus. Z. Parasitenkd., 51:129-132.
- MUNDAY, B.L. & RICKARD, M.D. 1974. Is *Sarcocystis tenella* two species? Austr. Vet. J., 50:558-559.
- MUNDAY, B.L.; BARKER, I.K. & RICKARD, M.D. 1975. The development cycle of a specie of *Sarcocystis* occurring in dogs and sheep with observations on pathogenicity in the intermediate host. Z. Parasitenkd., 46:111-123.
- NASCIMENTO, M.D. & PINHEIRO, J.G. 1981. Proteínas totais, albumina, globulinas e relação A/G em soro sanguíneo de bezerros de pré-ano. Rev. Bras. Med. Vet., 4(4):21.

- NEDJARI, I.; JUNGSMANN, R. & HIEPE, T. 1976. Immunodiagnostischer Nachweis eines experimentellen *Sarcocystis bovicanis*-Infektion beim Rind mit der indirekten Fluoreszenz - Antikörper Reaktion. Monatshefte für Veterinärmedizin, 31:946-947.
- O'BEIRNE, A. J. & COPPER, H. R. 1979. Heterogeneous enzyme immunoassay. J. Histochem. Cytochem., 27:1148-1162.
- O'DONOGHUE, P.J. 1978. Factors influencing the epidemiology of the ovine sarcosporidiosis and the development of *Sarcocystis tenella* in specific-pathogen-free (SPF) sheep. PhD Thesis, Univ. Adelaide. 261 p.
- O'DONOGHUE, P.J. 1981. Specific antibodies in sheep as indicators of infection by *Sarcocystis* spp. 9th. Int. Cong. World Assoc. Adv. Vet. Parasitol. (WAAVP), Budapest, p.55.
- O'DONOGHUE, P.J. & WEYRETER, H. 1982. Antigen characterization, antibody classification and immune complex formation in *Sarcocystis* infections. Z. Bakteriolog. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg., Abt. I. Orig. Reihe A, 277:104-105.
- O'DONOGHUE, P.J. & WEYRETER, H. 1983. Detection of *Sarcocystis* antigens in the sera of experimentally-infected pigs and mice by an immunoenzymatic assay. Vet. Parasitol., 12:13-29.
- OGASSAWARA, S. & BENASSI, S. 1980. Infecção experimental de gatos com coração de bovino parasitado por *sarcocystis* sp. Arq. Inst. Biol., São Paulo, 47(1/2):27-32.

- OGASSAWARA, S.; BENASSI, S.; LARSSON, C.E. & HAGIWARA, M.K. 1980. *Sarcocystis* sp.: ocorrência de esporocistos em gatos na Cidade de São Paulo. Arq. Inst. Biol., São Paulo, 47(1/2): 23-26.
- OGASSAWARA, S.; LARSSON, C.E.; LARSSON, M.H.M.A.; HAGIWARA, M.K. & GOUVEIA, G. 1977. Ocorrência de esporocistos de *Sarcocystis* sp. em cães na Cidade de São Paulo. Rev. Microbiol., 8(1):21-23.
- OGASSAWARA, S.; NILITIN, T.; LARSSON, C.E.; LARSSON, M.H.M.A.; BARBUTO, O.J.M. & HAGIWARA, M.K. 1978. Infecção experimental de cães com coração de bovino parasitado por *Sarcocystis* sp. Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 15(1): 51-58.
- OMUSE, J.K. 1978. A comparative haematological picture of field cases of East Coast Fever, anaplasmosis and babesiosis in bovines around Kabete. Proc. Inst. Comp., Edimburgh, p. 181-187.
- PACHECO, N,D.; SHEFFIELD, H.G.& FAYER, R. 1978. Fine structure of immature cysts of *Sarcocystis cruzi*. J. Parasitol., 64(2):320-325.
- PEREIRA JUNIOR & BITENCOURT, D. 1981. Utilização do método Kato-katz para o diagnóstico de *Isospora*: Resultados preliminares. In: Congr. Bras. de Parasitol., 4., Belo Horizonte. Anais, Belo Horizonte, p. 30.

- PIEKARSKI, G. & WITTE, H.M. 1971. Experimentelle und histologische Studien zur *Toxoplasma* - Infektion der Hauskatze. Z. Parasitenkd., 36:95-121.
- PINHEIRO, J.G. 1985. Estudos comparativos através determinações hematológicas e bioquímicas na tristeza parasitária bovina. Tese Mestrado Patologia Clínica, Univ. Fed. Rural do RJ. 71 p.
- PORTER, R.L. & GREVE, J.H. 1976. Anaplasmosis in cattle. Iowa State Univ. Vet., 38(3):109-113.
- PRASSE, R.W. & FAYER, R. 1981. Hematology of experimental acute *Sarcocystis bovicanis* infection in calves. II. Serum biochemistry and hemostasis studies. Vet. Pathol., Washington, 18:358-367.
- REHMAN, A. & ROYCHOUDHURY, G.K. 1981. Hematological observations during experimental studies on babesiosis in cattle. Ind. Vet. J., 58(5):355-358.
- REITER, I.; WEILAND, G.; ROSCHER, B.; MEYER, J. & FRAHM, K. 1981. Versuche zum serologischen Nachweis der Sarkosporidiose an experimentell mit Sarkosporidien infizierten Rindern und Schafen. Berl. Muench. Tierarztl. Wochenschr., 94:425-430.
- RIBEIRO, A.G.P. & NASCIMENTO, M.D. 1981. Atividade de gama glutamil transferase sérica em bezerros. Rev. Bras. Med. Vet., 4(4):21.

- RISTIC, M. 1970a. Anaplasmosis. In: Bovine Medicine & Surgery (W. J. Gibbons; E. J. Catcott & J. F. Smithcors, eds.), p. 182-207. American Veterinary Publications, Illinois.
- RISTIC, M. 1970b. Babesiosis. In: Bovine Medicine & Surgery (W. J. Gibbons; E. J. Catcott & J. F. Smithcors, eds.), p. 208-230. American Veterinary Publications, Illinois.
- ROBERTS, C. S. 1970. Leptospirosis. In: Bovine Medicine & Surgery (W. J. Gibbons; E. J. Catcott & J. F. Smithcors, eds.), p. 182-207. American Veterinary Publications, Illinois.
- ROMMEL, M. & GEISEL, O. 1975. Untersuchungen über die Verbreitung und den Lebenszyklus einer Sarkosporidienart des Pferdes (*Sarcocystis equicanis* n. spec.). Berl. Muench. Tierarztl. Wochenschr., 88:468-471.
- ROMMEL, M.; HEYDORN, A.-O. & GRUBER, F. 1972. Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. I. Die Sporozoyte von *S. tenella* in den Fazes der Katze. Berl. Muench. Tierarztl. Wochenschr., 85:101-105.
- ROMMEL, M.; HEYDORN, A.-O.; FISCHLE, B. & GESTRICH, R. 1974. Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. V. Weitere Endwirste der Sarkosporidien von Rind, Schaf Und Schwein und die Bedeutung des Zwischenwirtes für die Verbreitung dieser Parasitose. Berl. Muench. Tierarztl. Wochenschr., 85:392-396.

- ROMMEL, M.; KAMPITZ, H.E. & GEISEL, O. 1977. Beitrage zum Lebenszyklus der Frenkelien. III. Die sexuelle Entwicklung von *F. clethrionomyobuteonis* im Mausebussard. Z. Parasitenkd., 51:139-144.
- ROSE, M.E. 1967. The influence of age of host on infection with *Eimeria tenella*. J. Parasitol., 53:924-929.
- ROSE, M.E. 1973. Immunity. In: "The Coccidia" (D. M. Hammond & P.L. Long, eds.), p. 295-341. University Park Press, London.
- RUIZ, A. & FRENKEL, J.K. 1976. Recognition of cyclic transmission of *Sarcocystis muris* by cats. J. Infect. Dis., 133:409-418.
- SCHALM, O.W.; JAIN, N.C. & CARROL, E.S. 1975. Veterinary Hematology. 3. ed., Lea & Febiger, Philadelphia. 807 p.
- SCHMITZ, J.A. & WOLF, W.W. 1977. Spontaneous fatal sarcocystosis in a calf. Vet. Pathol., 14:527-531.
- SHEFFIELD, H.G.; FRENKEL, J.K. & RUIZ, A. 1977. Ultrastructure of the cyst of *Sarcocystis muris*. J. Parasitol., 63(4): 629-641.
- SHELTON, G.C.; KINTNER, L.D. & MACKINTSH, D.O. 1968. A coccidia-like organism associated with subcutaneous granulomata in a dog. J. Am. Vet. Med. Assoc., 152:263-267.
- SHIMURA, K.; ITO, S. & TSUNODA, K. 1981. Sporocysts of *Sarcocystis cruzi* in mesenteric lymph nodes of dogs. Natl. Inst.

- Anim. Health Q (Jpn.) 21:186-187.
- SMITH, H.A.; JONES, T.C. & HUNT, R.D. 1972. Veterinary Pathology. 4. ed., Lea & Febiger, Philadelphia. 1.521 p.
- SUTEU, E & COMAN, S. 1973. Nouvelles observations sur le cycle biologique de *Sarcocystis fusiformis*. Bull. Soc. Sci. Vet. Med. Comp., Lyon, 75:363-367.
- TADROS, W. & LAARMAN, J.J. 1976. *Sarcocystis* and related coccidian parasites: a brief general review, together with a discussion on some biological aspects of their life-cycle and a new proposal for their classification. Acta Leiden., 44:1-107.
- TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J. & CANELLA, C.F.C. 1967. Ocorrência da intoxicação aguda pela "Samambaia" (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn em bovinos no Brasil. Pesq. Agropec. Bras., 2:329-336.
- VANKNAPEN, F. & PANGABEAN, S.O. 1977. Detection of circulating antigen during acute infections with *Toxoplasma gondii* by enzyme-linked immunosorbent assay. J. Clin. Microbiol., 6:545-547.
- VERSHININ, I.I. 1974. O tsikle razvitiya *Sarcocystis hirsuta*. Veterinariya, 2:77-80.
- VILES, J.M. & POWELL, E.C. 1976. The ultrastructure of the cyst wall of a murine *Sarcocystis*. Z. Parasitenkd., 49: 127-132.

ZAMAN, V. & COLLEY, F.C. 1975. Light and electron microscopic observations of the life-cycle of *Sarcocystis orientalis* sp. n. in the rat (*Rattus norvegicus*) and the Malaysian Reticulated Python (*Python reticulatus*). Z. Parasitenkd., 47:169-185.

ZEVE, V.H.; PRICE, D.L. & HERMAN, C.M. 1966. Electron microscope study of *Sarcocystis* sp. Exp. Parasitol., 18(3): 338-346.

ZIELASKO, B.; PETRICH, J.; TRAUTWEIN, G. & ROMMEL, M. 1981. Untersuchungen über pathologisch-anatomische Veränderungen und die Entwicklung der Immunität bei der *Sarcocystis suicanis*-Infektion. Berl. Muench. Tierarztl. Wochenschr., 94:223-228.

## APÊNDICE

Tab. 1: Valores de referência do hemograma de bezerros, segundo a literatura

PARÂMETRO	a	b	c
Hc ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )	$9.5 \pm 1.0$	$7.32 \pm 1.30$	$6.793 \pm 1.653$
Hb (g/d)	$11.2 \pm 1.5$	$10.70 \pm 2.30$	$10.65 \pm 2.18$
VG (%)	$35.9 \pm 3.8$	$34.00 \pm 7.00$	$33.00 \pm 6.00$
VGM (fl)	$37.8 \pm 3.2$	$46.00 \pm 5.30$	$48.96 \pm 10.35$
HGM (pg)	$11.8 \pm 1.6$	d	$15.82 \pm 2.25$
CHGM (%)	$31.2 \pm 2.8$	$32.00 - 2.40$	$32.37 \pm 2.44$
LG ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	$10.730 \pm 3.047$	-	$9.375 \pm 3.894$
Bt.	$24 \pm 56$	-	-
S	$2872 \pm 1331$	-	$3417 \pm 2237$
L	$6861 \pm 2179$	-	$5339 \pm 2276$
M / $\mu\text{l}$	$794 \pm 270$	-	$684 \pm 400$
Bas	$54 \pm 76$	-	-
E	$106 \pm 342$	-	-
N/L	$0.41 \pm 1.0$	-	-

a. Schalm et.al. (1975) - bezerros de 3 a 16 semanas

b. Mollerberg (1975) - bezerros com  $28 \pm 10$  dias

c. Pinheiro (1985) - bezerros com 60 a 80 dias

d. Não determinado pelo autor

Tab. 2: Valores médios da série vermelha do hemograma de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), da 1ª à 9ª semana subsequente à infecção (SPI)

SPI/GRUPO	Hc ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )	Hb (g/dl)	VG (%)	VGM (fl)	HGM (pg)	CHGM (g/dl)	
1a	E	2.2	6.4	19	93	31	34
	C	3.8	9.7	29	73	25	34
2a	E	3.1	7.5	22	72	25	35
	C	2.8	9.3	25	89	33	37
3a	E	3.2	7.9	23	73	25	35
	C	3.4	9.1	27	79	26	33
4a	E	1.8	7.9	20	111	47	46
	C	2.8	8.8	26	93	32	34
5a	E	2.0	7.2	22	111	37	33
	C	3.1	9.8	30	97	32	33
6a	E	2.9	6.9	19	67	24	36
	C	4.1	9.3	27	66	23	35
7a	E	2.3	6.2	18	76	27	34
	C	3.4	8.7	25	72	26	35
8a	E	3.2	5.7	18	56	18	32
	C	3.2	8.3	25	78	26	34
9a	E	3.3	5.6	15	46	17	37
	C	3.6	9.5	28	77	27	36

Tab. 3: Valores médios do leucograma de bezerros infectados experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi* (E) e controle (C), da 1ª à 9ª semana subsequente à infecção (SPI)<sup>a</sup>

SPI/GRUPO		LG (X10 <sup>3</sup> /μl)	L		M		E		Nt		N/L	Bt		Seg	
			b	c	b	c	b	c	b	c		b	c	b	c
1a	E	7.7	71.1 (5473)	5.4 (419)	1.4 (111)	22.1 (1697)	0.31	2.1 (164)	19.9 (1533)						
	C	7.8	86.0 (6706)	3.2 (253)	0.0 (0)	10.8 (841)	0.12	0.4 (29)	9.2 (717)						
2a	E	8.7	82.0 (7132)	5.0 (460)	0.6 (50)	12.4 (1088)	0.15	0.3 (25)	12.2 (1063)						
	C	8.0	84.4 (6750)	4.0 (314)	0.4 (30)	11.2 (896)	0.13	2.1 (167)	9.5 (763)						
3a	E	10.0	81.5 (8150)	3.6 (361)	4.0 (409)	10.5 (1052)	0.12	2.1 (212)	8.4 (840)						
	C	7.7	79.0 (6054)	4.0 (334)	3.0 (241)	14.0 (1084)	0.17	3.3 (334)	7.5 (750)						
4a	E	12.5	71.0 (8802)	3.0 (347)	1.7 (204)	24.3 (3028)	0.34	3.0 (369)	21.4 (2659)						
	C	8.5	85.1 (7235)	2.7 (227)	0.9 (76)	11.3 (963)	0.13	2.5 (312)	5.3 (651)						
6a	E	17.0	84.0 (14185)	3.0 (548)	1.0 (170)	12.0 (2125)	0.14	1.7 (296)	10.8 (1829)						
	C	7.3	80.0 (5824)	1.0 (69)	4.8 (352)	14.2 (1038)	0.17	0.6 (107)	5.5 (931)						
7a	E	15.0	74.0 (11052)	1.0 (186)	2.2 (335)	22.8 (3414)	0.30	5.5 (826)	17.3 (2588)						
	C	9.0	88.1 (7920)	1.0 (96)	1.2 (107)	9.7 (877)	0.11	4.2 (374)	5.6 (503)						
8a	E	7.5	89.0 (6700)	2.0 (121)	3.0 (226)	6.0 (453)	0.06	2.0 (151)	4.0 (302)						
	C	8.4	86.6 (7274)	1.8 (155)	1.7 (147)	9.9 (834)	0.11	3.3 (280)	6.6 (554)						
9a	E	11.7	87.0 (10193)	3.0 (352)	2.0 (234)	8.0 (937)	0.09	2.0 (234)	6.0 (703)						
	C	11.2	81.3 (9102)	3.3 (364)	2.2 (251)	13.2 (1483)	0.16	3.2 (353)	10.0 (1130)						

- a. Na 5ª SPI não foi realizado leucograma  
b. Valores relativos (%)  
c. Valores absolutos (por μl)

Tab. 4: Valores de referência (UI/l) de alguns enzimas séricos, conforme Kaneko 1980)

ENZIMA	UI/l
CPK	4.8 - 12.2 (7.4 ± 2.4)
LDH	692 - 1.445 (1.061 ± 222)
ASAT	78 - 132 (105 ± 38)
ALAT	14 - 38 (27 ± 14)
γ - GT	15 - 24 (16)

QUADRO 1: Aspectos biomorfológicos das espécies de *Sarcocystis* nos animais domésticos.

Hosped. interm.	<i>Sarcocystis</i> sp.	Hospedeiros finais	Doença clínica	Aborto	Características do cisto		Esporocisto <sup>1</sup>	Estágios de desenv. conhecidos <sup>2</sup>
					tam.	parede		
Bovino ( <i>B. taurus</i> ),	<i>S. cruzi</i>	cão, coiote, lobo, raposa, mão pelada.	sim	sim	m	F	16 X 11	sim
Zebuino ( <i>B. indicus</i> ) e	<i>S. hirsuta</i>	gato.	não	D	m	G	12 X 8	sim
Bisão ( <i>Bison bison</i> )	<i>S. hominis</i>	homem, Rhesus e babuíno.	D	D	m	G	15 X 9	não
Bubalino ( <i>Bubalis bubalis</i> )	<i>S. levinei</i>	cão.	D	D	m	F	15 X 10	não
	<i>S. fusiformis</i>	gato.	D	D	M	G	13 X 8	não
Ovino ( <i>Ovis aries</i> )	<i>S. tenella</i>	cão, coiote, raposa.	sim	sim	m	G	15 X 10	sim
	<i>S. gigantea</i>	gato.	D	D	M	F	12 X 8	não
	<i>S. medusifformis</i>	gato.	D	D	M	F	12 X 8	não
	<i>Sarcocystis</i> sp.	cão.	sim	D	m	F	15 X 10	não
Caprino ( <i>Capra hircus</i> )	<i>S. capracanis</i>	cão, coiote, raposa.	sim	sim	m	G	15 X 10	sim
	<i>Sarcocystis</i> sp.	cão.	sim	D	m	F	15 X 10	sim
Suino ( <i>Sus scrofa</i> )	<i>S. miescheriana</i>	cão, raposa, lobo.	sim	sim	m	G	13 X 10	sim
	<i>S. suihominis</i>	homem, chipanzê, Rhesus.	sim	D	m	G	15 X 11	sim
Equino ( <i>Equus caballus</i> )	<i>S. fayeri</i>	cão.	sim	D	M	G	12 X 8	sim
	<i>S. equicanis</i>	cão.	D	D	m	F	15 X 10	não

1 Tamanho aproximado (micra);

2 No hospedeiro intermediário; D. Desconhecido; m. microscópico; M. Macroscópico; F, fina; G. Grossa. 6

