

LESÕES EM VACAS MISTIÇAS GESTANTES, INFECTADAS EXPERIMENTALMENTE COM *Sarcocystis cruzi* (HASSELMANN, 1923) WENYON, 1926 (APICOMPLEXA: SARCOCYSTIDAE)*

CARLOS WILSON G. LOPES¹; WANDERLEI F. DE SÁ²; GILBERTO GARCIA BOTELHO³

ABSTRACT: - LOPES, C.W.G.; SÁ, W.F. de; BOTELHO, G.G. [Lesions in cross-breed pregnant cows, experimentally infected with *Sarcocystis cruzi* (Hasselmann, 1923) Wenyon, 1926 (Apicomplexa: Sarcocystidae)] Lesões em vacas mestiças gestantes, infectadas experimentalmente com *Sarcocystis cruzi* (Hasselmann, 1923) Wenyon, 1926 (Apicomplexa: Sarcocystidae).. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 14, n. 2, p. 79-83, 2005. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, BR-465, Km-07 Seropédica, RJ 23890-000, Brazil. E-mail: lopescwg@ufrj.br

To identify pathologic alterations, sixteen cows, in the last 3 months of gestation, all cross-breed, Holstein x Zebu, serum positive for *Sarcocystis*, were selected and divided into four groups of four animals each. The first group was considered as control and the other three groups were experimentally infected with 1×10^4 (2nd group), 5×10^4 (3rd group) and 1×10^5 (4th group) sporocysts obtained from dog's feces. The gross lesions in the cows were consisted of pale mucous membranes, paleness of the skeletal striated muscle and enlargement of lymph nodes, heart, liver, spleen and lungs. In the aborted fetus, the most prominent gross lesion were excess of fluid in peritoneal and thoracic cavities, and petechias in the surface of intercostal muscles, thymus and spleen. On histological sections, no parasitic form was found in the tissues of the fetus, placenta or uterine tissue of the exposed cows. However, meronts, young and mature cysts of *S. cruzi* were observed in striated muscle. In the aborted fetus, hemorrhage, was the main histological lesion observed in brain, cerebellum and kidneys.

KEY WORDS: Sarcocystis, Dairy cattle, abortion.

RESUMO

Para identificar alterações patológicas, foram selecionadas dezesseis vacas mestiças Holandês x Zebu, gestantes no último trimestre de gestação, soropositivas para infecção natural por *Sarcocystis*, distribuídas em quatro grupos de quatro animais cada, sendo um grupo controle (1º grupo) e três grupos que receberam esporocistos viáveis de *Sarcocystis cruzi*, a saber: 1×10^4 (2º grupo), 5×10^4 (3º grupo) 1×10^5 (4º grupo). Os achados anátomo-patológicos caracterizaram-se por mucosas pálidas, palidez da musculatura estriada

esquelética, linfadenopatia generalizada e aumento de volume de alguns órgãos como coração, fígado, baço e pulmões. Nos fetos abortados, os achados macroscópicos mais evidentes foram caracterizados pela presença de líquido de coloração avermelhada em excesso nas cavidades torácica e abdominal; também, foi assinalada a presença de petéquias na pleura parietal, músculos intercostais e superfície do timo e baço. Nas preparações histológicas, nenhuma forma do parasito foi encontrada nos tecidos fetais, placenta ou tecidos uterinos das vacas estudadas. No entanto, merontes, cistos jovens e maduros de *S. cruzi* somente foram observados nos músculos estriados, esqueléticos e cardíacos das vacas infectadas. Nos fetos abortados, hemorragia foi a principal lesão histológica observada no cérebro, cerebelo e rins.

PALAVRAS-CHAVE: *Sarcocystis*, gado leiteiro, aborto.

INTRODUÇÃO

Por um longo período, o gênero *Sarcocystis* foi considerado de pouca importância. Após a descrição de Corner et al.

* Sob os auspícios do CNPq.

¹ Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR-465, Km-07, Seropédica, Rio de Janeiro, RJ 23890-000. E-mail: lopescwg@ufrj.br

² Centro Nacional de Pesquisa em Gado de Leite/Embrapa, Rodovia MG 133, Juiz de Fora, MG. E-mail: wandefsa@cnpq.embrapa.br

³ Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária, IV, UFRRJ, BR-465 Km-07, Seropédica, Rio de Janeiro, RJ 23890-000. E-mail: ggbotelho@ufrj.br

(1963) de um surto de uma doença ocorrida em Dalmeny, no Canadá, os estudos sobre as espécies deste gênero foram considerados de grande importância entre os animais e o homem. Os sarcocistos em mamíferos ocorrem em várias partes do mundo, com uma prevalência acima de 90% em bovinos no México (PEZZAT, 1971), EUA (LEVINE, 1973), Austrália (MUNDAY, 1975) e Brasil (GOMES; LIMA, 1982), onde as três espécies do gênero *Sarcocystis* ocorrem em bovinos: *S. hirsuta* Moulé, 1988; *S. hominis* (Railliet e Lucet, 1891) Dubey, 1976; e *S. cruzi* (Hasselman, 1923) Wenyon, 1926 (LOPES, 2004), embora *S. cruzi* tenha sido considerada a espécie mais patogênica (DUBEY, 1982).

Quando esporocistos de *S. cruzi*, provenientes de cães, foram experimentalmente dados a bovinos, causaram lesões de caráter agudo segundo Fayer e Johnson (1975); Johnson et al. (1975); Fayer e Prasse (1981); Dubey e Fayer (1983) e, Botelho e Lopes (1988) quando associadas à presença de formas proliferativas do parasita.

Além disso, Proctor et al. (1976) fizeram referência às lesões encontradas em tecidos uterinos e em fetos abortados, podendo estas estar relacionadas à presença de merontes de *S. cruzi* (MUNDAY; BLACK, 1976) ou não (FAYER et al., 1976; PROCTOR et al., 1976).

O estudo teve como objetivo assinalar as lesões em vacas mestiças gestantes infectadas experimentalmente com esporocistos de *S. cruzi*, previamente positivas para *Sarcocystis*, pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI).

MATERIALE MÉTODOS

A duração média do período experimental foi de 15 semanas e o mesmo foi desenvolvido nas instalações do Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

Obtenção dos esporocistos: O material infectante para bovinos foi obtido das fezes de quatro cães livres de coccídios, que foram infectados com tecido muscular cardíaco de bovino, comprovadamente positivo para *Sarcocystis* através da digestão triptica e identificação da presença de bradizoítos ao exame microscópico. Cada animal recebeu entre 400 e 500g de tecido muscular cardíaco triturado, por três dias consecutivos. Exames de fezes foram feitos periodicamente, durante 60 dias após infecção (DAI), para obtenção de esporocistos de *S. cruzi*. A separação e a contagem dos esporocistos foi feita pelo método de flutuação em açúcar, segundo Figueiredo et al. (1984). Os esporocistos foram quantificados na proporção de 1×10^4 esporocistos/ml de salina tamponada pH 7,2 e conservados em dicromato de potássio a 2,5% em refrigeração, até o momento de sua utilização.

Infecção experimental: Para infecção experimental foram utilizados 16 fêmeas de bovinos, mestiças, com graus de sangue variando de 1/4 a 7/8 Holandês x Zebu, de três a quatro anos de idade. Esses bovinos foram selecionados após estarem gestantes e apresentarem resultados negativos aos exames de rotina para Brucelose, Leptospirose, Tricomonose e

Campilobacteriose, porém todos os animais foram positivos para *Sarcocystis* pela RIFI. A seguir, os bovinos foram distribuídos em quatro grupos distintos: um grupo controle (1º grupo) que recebeu apenas água destilada e três grupos infectados com esporocistos de *S. cruzi*, na proporção de 1×10^4 (2º grupo), 5×10^4 (3º grupo) e 1×10^5 (4º grupo). Os esporocistos foram dados por via oral, através de garrafada, após a retirada do dicromato de potássio e substituição por água destilada na mesma proporção, isto é, 1×10^4 esporocistos/ml.

Necropsia: Fetos abortados e natimortos foram necropsiados imediatamente após serem encontrados, enquanto que, as vacas foram necropsiadas no final do experimento, após eutanásia (CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 2002).

Uma vaca foi eutanasiada e necropsiada previamente, isto é, na 11ª semana após a infecção (SAI), por estar agônica. O material coletado, de todos os animais, consistiu de pelo menos dois fragmentos de aproximadamente 0,5 mm, dos seguintes órgãos: músculo esquelético das regiões glútea, língua e esôfago, além de intestinos, linfonodos mesentéricos, coração, pulmão, diafragma, fígado, baço, rim, bexiga, adrenal, cérebro e cerebelo. Ainda, das vacas foram coletadas seções de vulva, vagina, cérvix, cornos uterinos, tubas uterinas, ovários, úteres e linfonodos retromamários. Além de porções da placenta, com carúnculas e placentoma, também foram coletados dos fetos conteúdo estomacal para exames bacteriológicos, sangue e porções do timo.

Um dos fragmentos de cada órgão era imediatamente fixado em formol a 10%, desidratado, diafanizado, emblocado em parafina, cortado em micrótomo com aproximadamente 5µm de espessura e corados conforme Behmer et al. (1976). O outro fragmento foi submetido à digestão triptica na tentativa de obter formas evolutivas do parasito. As lesões histológicas foram fotografadas com auxílio de um microscópio triocular Wild M-20 (Wild-Leitz).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Lesão macroscópica nas vacas: Nos animais do grupo controle não foram encontradas lesões macroscópicas aparentes. Nos animais infectados experimentalmente, independente da dose recebida, observou-se palidez da musculatura estriada com sufusões e petéquias generalizadas. Em uma das vacas, a que foi eutanasiada por estar agônica à musculatura dos glúteos tinha aspecto marmorizado e aumento dos linfonodos que ao corte tinham rarefação da camada medular em função de aumento da cortical, atrofia serosa das gorduras perirrenais e do coração, hidropericárdio, hidrotórax, ascite e palidez das mucosas de uma maneira mais acentuada do que nas outras infectadas. Observações estas, semelhantes às descritas por Fayer e Johnson (1975); Johnson et al. (1975); Fayer e Prasse (1981) e, Dubey e Fayer (1983). Outras alterações macroscópicas como: equimoses na superfície renal, das adrenais, pâncreas e cérebro; linhas róseas e avermelhadas nos músculos estriados cardíaco e esquelético; traços brancos nos músculos cardíacos e diafragma; aspecto tigróide nos

Tabela 1. Efeito da infecção por esporocistos de *Sarcocystis cruzi* em vacas mestiças gestantes, experimentalmente infectadas.

Vaca ^a nº	Dose infectante	Período Gestação (semanas)	Efeitos na gestação	Época de ocorrência (semanas)	
				Período pós-infecção	Período de gestação
1	1 x 10 ⁴	25	Natimorto	13	38
2	1 x 10 ⁴	25	Aborto	7	32
3	1 x 10 ⁴	24	Parto normal	13	37
4	1 x 10 ⁴	24	Parto normal (bezerro morre após dois dias)	14	38
5	5 x 10 ⁻⁴	25	Parto normal	12	37
6	5 x 10 ⁻⁴	25	Parto induzido (vaca agônica, eutanasiada)	11	36
7	5 x 10 ⁻⁴	24	Aborto	8	32
8	5 x 10 ⁻⁴	24	Natimorto	12	36
9	5 x 10 ⁻⁴	25	Parto normal (bezerro fraco)	12	37
10	1 x 10 ⁵	24	Parto normal	12	36
11	1 x 10 ⁵	25	Aborto	7	32
12	1 x 10 ⁵	26	Aborto	4	30
13	Controle	24	Parto normal	13	37
14	Controle	24	Parto normal	13	37
15	Controle	24	Parto normal	14	38
16	Controle	24	Parto normal	13	37

^a Vacas naturalmente infectadas para *Sarcocystis* determinada pela RIFI

músculos subcutâneos e esqueléticos, também descritas por Johnson et al. (1975) e, Dubey e Fayer (1983). Proctor et al., (1976), em estudos com vacas que abortaram, observaram petéquias no miocárdio, endométrio e córtex renal.

A descrição da presença de líquido serosanguinolento em excesso nas cavidades torácica e abdominal de fetos abortados neste trabalho tem sido uma observação quase freqüente, tanto nas infecções experimentais (PROCTOR et al., 1976) como nas naturais (HONG et al., 1982; McCausland et al., 1984). Essas alterações, associadas ao encontro de sinais de debilidade observados nos fetos abortados (Tabela 1), podem ser uma consequência das manifestações clínicas verificadas nas vacas que tiveram inapetência e perda de peso (SÁ; LOPES, 1988). A presença de petéquias observadas na pleura parietal, músculos intercostais, face torácica do diafragma e superfície do timo e do baço em fetos abortados no presente experimento foram semelhantes aos achados descritos em vacas naturalmente infectadas por Corner et al. (1963) e em bezerros experimentalmente infectados por Johnson et al. (1975) e Botelho (1985).

Lesões microscópicas nas vacas: Na sarcocistose bovina, geralmente se verifica a presença de merontes no endotélio vascular de alguns órgãos na fase aguda e a presença de cistos na musculatura estriada, na forma crônica. Infiltrado perivascular de células mononucleares e alterações circulatórias como necrose, edema e hemorragia geralmente estavam associadas a forma aguda da infecção.

A presença de merontes de *S. cruzi* tem sido reportada nas células endoteliais de vários órgãos, entre 20 e 33 DPI (JOHNSON et al., 1975) que são destruídas para liberação dos merozoítas. Essa destruição de células endoteliais pode ter sido responsável pelas principais lesões observada no presente estudo, inclusive associada a um acentuado quadro hemorrágico (Figura 1). Focos de necrose na placenta foram

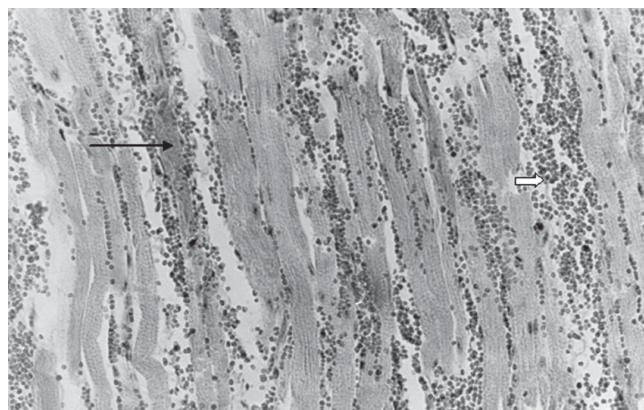


Fig. 1 - Degeneração das fibras musculares com perda das estriações (→) e hemorragia generalizada (⇨) na região glútea em uma vaca mestiça gestante, infectada experimentalmente com esporocistos de *Sarcocystis cruzi*. H.E., 200x

também anteriormente observados por Dubey e Bergeron (1982) em vacas que abortaram em consequência da infecção natural.

Nas vacas controles e infectadas neste trabalho, ainda foram encontrados cistos de *S. cruzi* nos músculos estriados esquelético e cardíaco, confirmando resultados da RIFI, o que caracteriza que as lesões encontradas estiveram sempre associadas às formas proliferativas localizadas na íntima das arteríolas e dos capilares (Figura 2) o que caracteriza na forma aguda da doença como um problema circulatório, diferindo das colônias, cistos ou ambos de *Neospora caninum* (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2004) e de *Toxoplasma gondii* (CANADA et al., 2002), por terem localização tecidual.

Observações microscópicas nos fetos: Apesar de serem descritas formas proliferativas de *Sarcocystis* em órgãos fetais

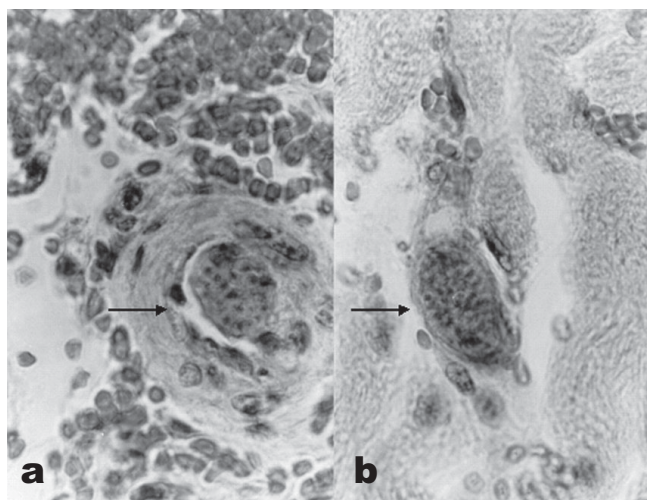


Fig. 2 - Presença de merontes (→) em arteríolas (a) e em capilares (b) na região glútea de uma vaca gestante, infectada experimentalmente com esporocistos de *Sarcocystis cruzi*, H.E., 1000x.

em infecções naturais (MUNDAY; BLACK, 1976; HONG et al., 1982; McCAUSLAND et al., 1984), os dados obtidos neste trabalho foram semelhantes aos encontrados por Fayer et al. (1976) e Proctor et al. (1976) que não observaram formas proliferativas de *Sarcocystis* em infecções experimentais, apesar das lesões encontradas nos fetos serem semelhantes as já citadas em infecções naturais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C. de; FREITAS NETO, A.G. de. *Manual de técnicas para histologia normal e patológica*. São Paulo: EDART, 1976. 256p.
- BOTELHO, G.G. *Doença de Dalmeny: aspectos parasitológicos, epidemiológicos e patológicos*. 1985. 182p. Tese (Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária-Parasitologia Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, 1985.
- BOTELHO, G.G.; LOPES, C.W.G Aspectos parasitológicos do *Sarcocystis cruzi* (Hassellmann, 1926) Wenyon, 1926 (Apicomplexa: Sarcocystidae) em infecções experimentais em cães e bezerros. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, v. 11, n. 1-2, p. 1-10, 1988.
- CANADA, N.; MEIRELES, C.S.; ROCHA, A.; COSTA J.M.; ERICKSON, M.W., DUBEY, J.P. Isolation of viable *Toxoplasma gondii* from naturally infected aborted bovine fetuses. *Journal of Parasitology*, v. 88, n. 6, p. 1247-1248, 2002.
- CORNER, A.H.; MITCHELL, D.; MEADS, E.B. Dalmeny disease. An infection of cattle presumed to be caused by an unidentified protozoan. *Canadian Veterinary Journal*, v. 4, n. 2, p. 252-264, 1963.
- CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. Resolução nº 714, de 20 de junho de 2002. Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências. Disponível em: <<http://www.crmvrj.com.br/new/index.html>> Acesso em: 23 jul 2003.
- DUBEY, J.P. A review of *Sarcocystis* of domestic animals and of other coccidia of cats and dogs. *Journal American Veterinary Medical Association*, v. 169, n. 10, p. 1061-1078, 1976.
- DUBEY, J.P. Development of ox-coyote cycle of *Sarcocystis cruzi*. *Journal of Protozoology*, v. 29, n. 4, p. 591-601, 1982.
- DUBEY, J.P.; BERGERON, J.A. *Sarcocystis* as a cause of placentitis and abortion in cows. *Veterinary Pathology*, v.19, n. 3, p. 315-318, 1982.
- DUBEY, J.P.; FAYER, R. Sarcocystosis. *British Veterinary Journal*, v. 139, n. 5, p. 371-377, 1983.
- FAYER, R.; JOHNSON, A.J. Effect of amprolium on acute sarcocystosis in experimentally infected calves. *Journal of Parasitology*, v. 61, n. 5, p. 932-936, 1975.
- FAYER, R.; PRASSE, R.W. Hematology of experimental acute *Sarcocystis bovicanis* infection in calves. I. Cellular and serologic changes. *Veterinary Pathology*, v. 18, n. 3, p. 351-357, 1981.
- FAYER, R.; JOHNSON, A.J.; LUNDE, M.N. Abortion and other signs of disease in cows experimentally infected with *Sarcocystis fusiformis* from dogs. *Journal Infectious Diseases*, v.134, n. 6, p. 624-628, 1976.
- FIGUEIREDO, P.C. de; SERRA FREIRE, N.M. da; GRISI, L. Eimérias de bovinos leiteiros no Estado do Rio de Janeiro: técnicas de diagnóstico e espécies identificadas. *Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro*, v. 24, n.1, p. 3-10, 1984.
- GOMES, A.G.; LIMA, J.D. *Sarcocystis* Lankester, 1882 em bovinos de Minas Gerais; ocorrência e métodos de diagnósticos. *Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais*, v. 34, n. 1, p. 83-93, 1982.
- HONG, G.B.; GILES, R.C.; NEWMAN, L.E.; FAYER R. Sarcocystosis in an aborted bovine fetus. *Journal American Veterinary Medical Association*, v. 181, n. 6, p. 585-588, 1982.
- JOHNSON, A.J.; HILDEBRANDT, P.K.; FAYER, R. Experimentally induced *Sarcocystis* infection in calves: Pathology. *American Journal of Veterinary Research*, v. 36, n. 7, p.995-999, 1975.
- LEVINE, N.D. *Protozoan parasites of domestic animals and of man*. Minneapolis: Burgess, 1973. 406 p.
- LOCATELLI-DITTRICH, R.; THOMAZ-SOCCOL, V.; RICHARTZ, R.R.T.B.; GASINO-JOINEAU, M.E.; VANDER VINNE, R.; PINCKNEY, R.D. Isolamento de *Neospora caninum* de feto bovino de rebanho leiteiro no Paraná. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 13, n. 3, p. 103-109, 2004.
- LOPES, C.W.G. O gênero *Sarcocystis* (Lankester, 1882) (Apicomplexa: Sarcocystidae), uma questão a ser reavaliada no Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 13, supl. 1, p. 14-16, 2004.
- McCAUSLAND, I.P.; BADMAN, R.T.; HIDES, S.; SLEE, K.J. Multiple apparent *Sarcocystis* abortion in four bovine herds. *Cornell Veterinarian*, v. 74, n. 2, p. 146-154, 1984.

- MUNDAY, B.L. The prevalence of sarcosporidiosis in australian meat animals. *Australian Veterinary Journal*, v. 51, n. 10, p. 478-480, 1975.
- MUNDAY, B.L.; BLACK, H. Suspected *Sarcocystis* infections of the bovine placenta and foetus. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, v. 51, n. 1, p. 129-132, 1976.
- PEZZAT, M.M. Frecuencia de *Sarcocystis* spp en corazones de bovinos. *Veterinaria*, México, v. 11, p. 6-11, 1971.
- PROCTOR, S.J.; BARNETT, D.; STALHEIM, O.H.V.; FAYER, R. Pathology of *Sarcocystis fusiformis* in cattle. *Proceedings of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians*, 19th Annals, v. 11, p. 329-336, 1976.
- SÁ, W.F. de; LOPES, C.W.G. Sarcocistose bovina: aborto e outras alterações clínicas em vacas mestiças leiteiras infetadas experimentalmente com *Sarcocystis cruzi* (Hasselmann, 1926) Wenyon, 1926 (Apicomplexa: Sarcocystidae). *Arquivos Fluminenses de Medicina Veterinária*, v. 3, n. 3, p. 75-80, 1988.

Recebido em 25 de abril de 2005.

Aceito para publicação em 08 de junho de 2005.