

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS**  
**ESCOLA DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**ANÁTOMO-HISTOPATOLOGIA E PCR NA IDENTIFICAÇÃO DE  
CISTICERCOS DE BOVINOS**

Autor: Eurione Antônio Garcia da Veiga Jardim

Orientador: Professor Dr. Guido Fontgalland Coelho Linhares

**GOIÂNIA**

**2006**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**EURIONE ANTÔNIO GARCIA DA VEIGA JARDIM**

**ANÁTOMO-HISTOPATOLOGIA E PCR NA IDENTIFICAÇÃO DE  
CISTICERCOS DE BOVINOS**

Tese apresentada para a obtenção do grau de  
Doutor em Ciência Animal junto à Escola de  
Veterinária da Universidade Federal de Goiás.

**Área de Concentração:**

Sanidade Animal

**Orientador:**

Prof. Dr. Guido Fontgalland Coelho Linhares - UFG

**Comitê de Orientação:**

Prof. Dr. Luiz Augusto Batista Brito - UFG

Prof. Dr. José Luiz de Barros Araújo - UFG

**GOIÂNIA**

**2006**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(GPT/BC/UFG)

Jardim, Eurione Antônio Garcia da Veiga.  
J37a **Anátomo-histopatologia e PCR na identificação de cisticercos de bovinos / Eurione Antônio Garcia da Veiga Jardim. – Goiânia, 2006.**  
xv, 79 f. : il., color., tabs., figs., grafs.

Orientador: Guido Fontgalland Coelho Linhares.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Goiás,  
Escola de Veterinária, 2006.

Bibliografia.

1. Cisticercose (Bovino) 2. Taenia – Identificação –  
Reação em cadeia de Polimerase(PCR) 3. Taenia –  
Identificação - Histopatologia Veterinária 4. Parasitologia  
Veterinária. I. Linhares, Guido Fontgalland Coelho II.  
Universidade Federal de Goiás. Escola de Veterinária III.  
Título.

CDU: 619:576.89

## EURIONE ANTÔNIO GARCIA DA VEIGA JARDIM

Tese defendida e aprovada em 21 de dezembro de 2006, pela seguinte banca examinadora:

---

Prof. Dr. Guido Fontgalland Coelho Linhares - UFG  
(Orientador e Presidente da Banca Examinadora)

---

Prof. Dr. Elmiro Rosendo do Nascimento – UFF  
(Membro da Banca Examinadora)

---

Prof. Dr. Albenones José de Mesquita – UFG  
(Membro da Banca Examinadora)

---

Dr. José Gabriel Amoril – MAPA  
(Membro da Banca Examinadora)

---

Profa. Dra. Janaína Valadares Guimarães – UFG  
(Membro da Banca Examinadora)

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à comunidade científica como fruto solidário do esforço e da dedicação de todos os pesquisadores e seus auxiliares.

## AGRADECIMENTOS

Ao concluir esta importante etapa da minha vida quero, primeiramente, expressar minha gratidão a DEUS e ao nosso Irmão Maior JESUS e à sua plêiade de colaboradores do plano espiritual e, de modo especial, aos meus queridos pais que, apesar de falecidos, continuam tão imprescindíveis à minha vida e à minha formação como sempre foram.

Sou eternamente grato à minha esposa, aos meus filhos e aos meus irmãos, enfim a toda minha família. Foi com o esforço, a dedicação e a compreensão deles, que mais este trabalho foi realizado.

Sou grato ao meu orientador, o Prof. Guido Fontgalland Coelho Linhares, pelos seus ensinamentos e pelo seu profissionalismo.

Agradeço a todos os professores, de forma especial, quero registrar a minha gratidão ao Prof. Albenones José de Mesquita, a sua esposa Sandra Queiroz Porto de Mesquita, ao Prof. Ruy de Souza Lino Júnior e ao Prof. Jurij Sobestiansky pelo incentivo, pelo apoio incondicional e pela atenção que dignifica a amizade verdadeira.

Sou grato à Vânia Beatriz Lopes Moura, funcionária do Departamento de Patologia Geral do IPTSP, pela contribuição a este trabalho na realização dos cortes histológicos. Agradeço aos meus colegas dos laboratórios de biologia molecular e do curso, que são mais que colegas, são também meus amigos, especialmente à Úrsula Nunes Rauecker, ao Anderson Mori e à Tatiane Martins Rocha que colaboraram neste trabalho com as extrações de DNA e as reações de PCR. Sou grato também ao apoio do Leonardo França, do Adriano Queiroz de Mesquita, do Tiago Vilela Delacqua, do Rolando Alfredo Mazzoni Romero, da Sabrina Castilho Duarte, da Cíntia Silva Minafra Rezende, da Moema Pacheco Chediak, da Maria Auxiliadora Leão.

Sou grato para com todos os funcionários da Escola de Veterinária, principalmente, aos funcionários: Gerson Luis Barros (PPGCA), Antônio Souza da Silva (Laboratório de Patologia da EV) e João da Cunha Lima (DMVP).

Agradeço aos funcionários do serviço de Inspeção Federal do frigorífico Goiás Carne, especialmente aos colegas Veterinários: Maria Cristina Vieira Medeiros, Valdir Alves de Brito, José Gabriel Amoril e Oton Luiz de Freitas, pela contribuição na coleta das amostras. Sou grato aos Professores que participaram da banca de qualificação: Prof. Dr. Luiz Augusto Batista Brito, Prof. Dr. José Luiz de Barros Araújo, Dr. José Gabriel Amoril e Prof. Dr. Cristiano Sales Prado, pela significativa contribuição prestada a esta tese.

Agradeço enfim, a todas as pessoas que de forma direta ou indireta, colaboraram para efetivação deste trabalho e que não foram mencionadas aqui, peço-lhes que me perdoem pela injustiça.

## EPÍGRAFE

“Que homem pode vangloriar de possuir integralmente a verdade, quando o âmbito dos conhecimentos incessantemente se alarga e todos os dias se retificam as idéias?”

***Allan Kardec***

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>viii</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>xii</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS .....</b>	<b>xiii</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>xiv</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xv</b>
<b>CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS .....</b>	<b>1</b>
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	4
<b>CAPÍTULO 2 – ANATOMO-HISTOPATOLOGIA DE CISTICERCOS DE                   BOVINOS ABATIDOS EM MATADOURO FRIGORÍFICO .....</b>	<b>6</b>
RESUMO .....	6
ABSTRACT .....	7
2.1 INTRODUÇÃO .....	8
2.2 OBJETIVOS .....	9
2.3 MATERIAL E MÉTODOS .....	10
2.3.1 Coleta dos cisticercos e análises anátomo-patológicas .....	10
2.3.2 Critérios utilizados para a classificação anátomo-patológicas .....	10
2.3.3 Classificação macroscópica dos cisticercos .....	11
2.3.4 Preparação dos cisticercos para as análises microscópicas .....	11
2.3.5 Classificação microscópica dos cisticercos .....	12
2.3.6 Morfometria macroscópica dos cisticercos .....	13
2.3.7 Análises estatísticas .....	13
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	14
2.4.1 Quantidade e localização dos cisticercos .....	14
2.4.2 Características macroscópicas dos cisticercos .....	16
2.4.3 Características microscópicas dos cisticercos .....	19
2.4.4 Correspondência entre a classificação macroscópica e a microscópica .....	32
2.4.5 Morfometria macroscópica dos cisticercos .....	35
2.5 CONCLUSÕES .....	40
2.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	41

<b>CAPÍTULO 3 – IDENTIFICAÇÃO POR PCR DE CISTICERCOS DE BOVINOS ABATIDOS EM MATADOURO FRIGORÍFICO .....</b>	<b>47</b>
RESUMO .....	47
ABSTRACT .....	48
3.1 INTRODUÇÃO .....	49
3.2 OBJETIVOS .....	52
3.3 MATERIAL E MÉTODOS .....	52
3.3.1 Local de coleta e das análises laboratoriais .....	52
3.3.2 Critérios utilizados para a classificação anátomo-patológica .....	52
3.3.3 Classificação macroscópica dos cisticercos .....	53
3.3.4 Classificação microscópica dos cisticercos .....	54
3.3.5 Critérios adotados durante a coleta e análises das amostras. ....	55
3.3.6 Extração do DNA .....	56
3.3.7 Protocolos de PCR .....	56
3.3.8 Controles positivos e negativos .....	57
3.3.9 Análises estatísticas .....	57
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	58
3.4.1 Identidade molecular de cisticercos classificados macroscopicamente .....	58
3.4.2 Identidade molecular de cisticercos classificados à microscopia .....	60
3.4.3 Localização dos cisticercos e identificação molecular .....	62
3.4.4 Especificidade e sensibilidade das reações de PCR .....	66
3.5 CONCLUSÕES .....	72
3.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	73
<b>CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>78</b>

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 2

- FIGURA 1** Quantidade de cisticercos detectados nos bovinos inspecionados ..... **15**
- FIGURA 2.** Cisticerco classificado à macroscopia na etapa EV, visualiza-se a membrana e o líquido vesicular transparentes (seta), contendo o metacestódeo de cor esbranquiçada localizado na extremidade inferior da vesícula (cabeça de seta) ..... **16**
- FIGURA 3.** Cisticerco classificado à macroscopia na etapa EVC, visualiza-se a opacidade do líquido vesicular (seta) e a coloração amarelada do metacestódeo localizado na extremidade inferior da vesícula cisticercótica (cabeça de seta) ..... **16**
- FIGURA 4.** Cisticerco classificado à macroscopia na etapa EGN, visualiza-se a lesão cisticercótica circundada por tecido de coloração esbranquiçada (setas) e com o espaço interno quase que totalmente preenchido por substância de aspecto caseoso (cabeça de seta) ..... **17**
- FIGURA 5.** Cisticerco classificado à macroscopia na etapa ENC, visualiza-se a lesão cisticercótica circundada por tecido de coloração esbranquiçada (setas) e com o espaço interno totalmente preenchido por estruturas compactas e disformes (cabeça de seta) ..... **17**
- FIGURA 6.** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa EV, observa-se a membrana cuticular do cisticerco com suas microtríqueas (setas) (40x HE) ..... **19**
- FIGURA 7.** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa EVC, observa-se a intensa concentração de células do infiltrado inflamatório adjacente à lesão cisticercótica, no tecido do hospedeiro (setas) (5x HE). ..... **20**

- FIGURA 8** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa EGN, observa-se as alterações morfológicas evidenciadas no escólex do metacestódeo (setas), atingindo inclusive a região correspondente ao rostelo e às ventosas (cabeça de seta) (5x HE) ..... **20**
- FIGURA 9.** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa ENC, observa-se a calcificação de todo o cisticerco (cabeças de seta) e a intensa reação inflamatória em todo o tecido circunvizinho, pertencente ao hospedeiro, com presença de leucócitos mononucleares e eosinófilos (40x HE) ..... **21**
- FIGURA 10.** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa EV, observa-se a densa camada de fibrose organizada de modo a circundar a lesão cisticercótica, e em volta da mesma, leucócitos mononucleares, principalmente, macrófagos, linfócitos e eosinófilos (cabeças de setas) (40x Giemsa) ..... **21**
- FIGURA 11.** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa EVC, observa-se o tecido de granulação na adjacência da lesão cisticercótica (setas), caracterizado pela intensa angiogênese (cabeças de seta) (10x HE) .... **22**
- FIGURA 12.** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa EGN, observa-se a pequena quantidade de radicais glicídicos depositados principalmente na membrana cuticular (cabeças de seta) (40x PAS) ..... **22**
- FIGURA 13.** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa ENC, observa-se a presença de beta-fibrilose (de cor verde brilhante vista sob luz polarizada) depositada ao redor da lesão cisticercótica (5x Vermelho Congo) ..... **23**
- FIGURA 14.** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa EGN, observa-se na imagem da lâmina várias células do infiltrado inflamatório alteradas pela necrobiose (40x HE) ..... **23**
- FIGURA 15** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa EGN, observa-se a deposição de cristais de cálcio (de cor escura), circundando a borda interna da lesão cisticercótica (10x von Kossa) ..... **24**

- FIGURA 16** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa ENC, observa-se espessa camada de fibrose (de cor avermelhada visto sob luz polarizada), disposta entre as fibras musculares no tecido do hospedeiro (vértice inferior à esquerda) e a lesão cisticercótica (vértice superior à direita) (10x Picro Sírius) ..... **24**
- FIGURA 17** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa ENC, observa-se a presença de eosinófilos distribuídos entre as demais células do infiltrado inflamatório, inclusive em processo de degranulação (cabeça de seta) (100x Giemsa) ..... **25**
- FIGURA 18** Correspondência relativa entre a classificação dos cisticercos através da análise das características macroscópicas e a classificação através da análise das características microscópicas ..... **33**
- FIGURA 19** Medianas da área (A) em mm<sup>2</sup> e do diâmetro (D) em mm de cisticercos classificados à macroscopia nas quatro etapas do PIP-HB ..... **36**

### CAPÍTULO 3

- FIGURA 1 – A** = Lesão cisticercótica dividida ao meio;  
**B** = Materiais e recipientes utilizados no processamento das amostras . **55**
- FIGURA 2** Percentuais de resultados positivos e negativos na amplificação de fragmentos gênicos do DNA de *Cysticercus bovis* através da PCR a partir de amostras de DNA extraído de cisticercos isolados de bovinos ... **58**
- FIGURA 3** Percentuais de resultados positivos e negativos na amplificação de fragmentos gênicos do DNA de *Cysticercus bovis* através da PCR a partir de amostras de DNA extraído de cisticercos encontrados em bovinos e classificados, de acordo com as características macroscópicas, em etapas relativas ao processo de interação parasito-hospedeiro ..... **59**
- FIGURA 4** Percentuais de resultados positivos e negativos na amplificação de fragmentos gênicos do DNA de *Cysticercus bovis* através da PCR a partir de amostras de DNA extraído de cisticercos encontrados em bovinos e classificados, pelas características microscópicas, em etapas relativas ao processo de interação parasito-hospedeiro ..... **61**

- FIGURA 5** Distribuição percentual de localização anatômica dos cisticercos isolados de bovinos abatidos sob inspeção federal ..... **63**
- FIGURA 6** Percentuais de resultados positivos e negativos na amplificação de fragmentos gênicos do DNA de *Cysticercus bovis* através da PCR a partir de amostras de DNA extraído de cisticercos encontrados nos músculos mastigatórios e nos corações de carcaças bovinas ..... **64**
- FIGURA 7** Percentuais de resultados positivos e negativos na amplificação de fragmentos gênicos do DNA de *Cysticercus bovis* através da PCR a partir de amostras de DNA extraído de cisticercos encontrados nos músculos mastigatórios e nos corações de bovinos e classificados, à microscopia, em etapas relativas ao processo de interação parasito-hospedeiro ..... **65**
- FIGURA 8** – Eletroforeses em gel de agarose a 2% referentes às reações de PCR específicas para amplificação de fragmentos gênicos de 328 pb do gene LSU RNAr de *Cysticercus bovis* realizadas a partir das amostras de DNA extraídas de cisticercos classificados nas etapas:
- EV** - A<sup>1</sup> = marcador 100pb, A<sup>2</sup>, A<sup>3</sup>, A<sup>4</sup> e A<sup>6</sup> = amostras positivas, A<sup>5</sup> = amostra negativa, A<sup>7</sup> = controle positivo, A<sup>8</sup> = controle negativo;
- EVC** - B<sup>1</sup> = marcador 100pb, B<sup>2</sup>, B<sup>3</sup> e B<sup>4</sup> = amostras positivas, B<sup>5</sup> = amostra negativa, B<sup>6</sup> = controle positivo, B<sup>7</sup> = controle negativo;
- EGN** - C<sup>1</sup> = marcador 100pb, C<sup>2</sup> e C<sup>3</sup> = amostras positivas, C<sup>4</sup> e C<sup>5</sup> = amostras negativas, C<sup>6</sup> = controle positivo, C<sup>7</sup> = controle negativo;
- ENC** - D<sup>1</sup> = marcador 100pb, D<sup>3</sup> e D<sup>5</sup> = amostras positivas, D<sup>2</sup> e D<sup>4</sup> = amostras negativas, D<sup>6</sup> = controle positivo, D<sup>7</sup> = controle negativo ..... **67**

## LISTA DE TABELAS - CAPÍTULO 2

<b>TABELA 1</b> – Frequência relativa de alterações patológicas em cisticercos classificados nas quatro etapas do PIP-HB .....	<b>27</b>
--	-----------

<b>TABELA 2</b> - Frequência mediana de Intensidade das alterações patológicas em cisticercos classificados nas quatro etapas do PIP-HB .....	<b>28</b>
---	-----------

## LISTA DE TABELA - CAPÍTULO 3

<b>TABELA 1</b> - Resultados dos testes de PCR para cisticercos classificados pela caracterização macroscópica e microscópica .....	<b>61</b>
---	-----------

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>LSU RNAr</b>	Subunidade Ribossômica Maior .....	<b>xv</b>
<b>EV</b>	Etapa Vesicular .....	<b>xv</b>
<b>EVC</b>	Etapa Vesicular Coloidal .....	<b>xv</b>
<b>EGN</b>	Etapa Granular Nodular .....	<b>xv</b>
<b>ENC</b>	Etapa Nodular Calcificada .....	<b>xv</b>
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucléico .....	<b>xv</b>
<b>PCR</b>	Reação em Cadeia da Polimerase .....	<b>xv</b>
<b>a.C.</b>	Antes de Cristo .....	<b>1</b>
<b>SIF</b>	Serviço de Inspeção Federal .....	<b>2</b>
<b>DIF</b>	Departamento de Inspeção Final .....	<b>10</b>
<b>IPTSP</b>	Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública .....	<b>10</b>
<b>UFG</b>	Universidade Federal de Goiás .....	<b>10</b>
<b>PIP-HB</b>	Processo de Interação Parasito-Hospedeiro Bovino .....	<b>11</b>
<b>PIP-H</b>	Processo de Interação Parasito-Hospedeiro .....	<b>11</b>
<b>HE</b>	Hematoxilina e Eosina .....	<b>12</b>
<b>PAS</b>	Ácido Periódico de Schiff .....	<b>12</b>
<b>CPA</b>	Centro de Pesquisa em Alimentos .....	<b>52</b>
<b>v</b>	volt .....	<b>56</b>
<b>fg</b>	Fentograma .....	<b>66</b>
<b>pb</b>	Pares de bases .....	<b>66</b>

## ANÁTOMO-HISTOPATOLOGIA E PCR NA IDENTIFICAÇÃO DE CISTICERCOS DE BOVINOS.

### RESUMO

A cisticercose bovina é considerada como o principal elo epidemiológico da teníase humana provocada pela *Taenia saginata* e ocasiona grande prejuízo em toda a cadeia produtiva da carne bovina. Dentro deste contexto, destaca-se a necessidade de ampliar o conhecimento científico sobre o processo de interação parasito-hospedeiro bovino. Objetivou-se com o presente trabalho, analisar as alterações anátomo-histopatológicas de cisticercos através da observação das características macroscópicas e microscópicas de modo a classificá-los em etapas relativas ao processo de interação parasito-hospedeiro bovino e verificar a identidade molecular espécie-específica dos cisticercos classificados em cada uma das etapas, através da aplicação da reação em cadeia da polimerase (PCR). Os cisticercos foram coletados durante o exame *post-mortem* realizado em bovinos abatidos em matadouro frigorífico do Estado de Goiás sob inspeção federal e foram classificados em quatro etapas relativas ao processo de interação parasito hospedeiro bovino. A morfometria dos cisticercos, a intensidade quantitativa das alterações patológicas, a correspondência entre a classificação na dimensão macro e microscópica e a identidade molecular dos cisticercos classificados em cada uma das etapas foram analisadas. A PCR foi aplicada utilizando pares de oligonucleotídeos específicos para a amplificação de fragmentos gênicos do gene LSU RNAr de *Cysticercus bovis* e de *Cysticercus cellulosae*. Concluindo-se que, a sistematização classificatória da cisticercose bovina pode ser definida em quatro etapas relativas ao processo de interação parasito-hospedeiro (Etapa Vesicular: EV, Etapa Vesicular Coloidal: EVC, Etapa Granular Nodular: EGN e Etapa Nodular Calcificada: ENC); que existe correspondência relativa entre a classificação macroscópica e a classificação microscópica dos cisticercos; que os cisticercos classificados na etapa EGN foram maiores ( $p < 0,05$ ) do que os classificados nas outras etapas, tanto quando avaliados pela mediana da área, quanto pela mediana do diâmetro; que a intensidade da inflamação crônica e da fibrose foi maior ( $p < 0,05$ ) nos cisticercos classificados nas etapas EGN e ENC; que a intensidade da necrose, da calcificação e da presença de eosinófilos foi maior ( $p < 0,05$ ) nos cisticercos classificados na etapa ENC; que a PCR pode ser aplicada na identificação espécie-específica de cisticercos classificados em etapas relativas ao processo de interação parasito-hospedeiro bovino; que a positividade nos resultados de PCR foi maior ( $p < 0,05$ ) nas amostras de DNA dos cisticercos classificados nas etapas EV e EVC em relação à positividade nos resultados de PCR das amostras de DNA dos cisticercos classificados nas etapas EGN e ENC e que a negatividade nos resultados de PCR foi maior ( $p < 0,05$ ) nas amostras de DNA dos cisticercos localizados nos corações e classificados na etapa EGN em relação à negatividade nos resultados de PCR das amostras dos cisticercos localizados nos músculos mastigatórios e classificados na mesma etapa classificatória.

Palavras-chave: Cisticercose; *Cysticercus bovis*; *Taenia saginata*; *Cysticercus cellulosae*, *Taenia solium*; PCR.

## ANATOMICAL-HISTOPATHOLOGY AND PCR IN IDENTIFICATION OF CISTICERCIS OF BOVINE

### ABSTRACT

Bovine cysticercosis is known as an epidemiologic link of the human taeniasis caused by *Taenia saginata* and it is considered as a burden in the meat production chain. In this context, it is actually evident the need of increasing scientific knowledge on the host-parasite relationship. The objective of this study was analyze the pathological alterations in cysts anatomy through the observation of the macroscopic and microscopic characteristics in order to classify them in different stages on the basis of the bovine host-parasite interaction and verify the species-specific molecular identity of bovine cysticerci by the polymerase chain reaction (PCR) comparing the results among lesions of four different stages. The cysticerci were collected during the *post mortem* inspection of bovine slaughtered under official inspection service in the State of Goiás. Results revealed that, the qualifying systemization of the bovine cysticercosis can be defined in four relative stages to the process of host-parasite interaction (Vesicular Stage: EV, Colloidal Vesicular Stage: EVC, Granular Nodular Stage: EGN and Stage Nodular Calcified: ENC). Also, it was observed an evident correspondence between the macroscopic and the microscopic classifications and its gradual increasing starting from the cysticercis classified in EV to the cysticerci classified in EVC and EGN, until reaching the highest correspondence for the cysticercis classified in ENC. The cysticerci classified in EGN were larger than those classified in other stages, as well as when evaluated by area and diameter averages. The intensity of the chronic inflammation and of the fibrous was larger in the cysticerci classified in EGN and ENC. The intensity necrosis, calcification and of the eosinophils presence were larger in the cysticerci classified in ENC stage. The PCR was applied using species-specific primers for the amplification of fragments of the gene LSU rRNA of *Cysticercus bovis* and *Cysticercus cellulosae*. The results revealed that, the PCR can be applied in the species-specific identification of cysticerci classified in different stages of the host-parasite interaction and that the positive reactions are significantly more frequent ( $p < 0,05$ ) among the cysticerci classified as Vesicular Stage (EV) and Colloidal Vesicular Stage (EVC) type in comparison as Granular Nodular Stage (EGN) and the negative PCR results are significantly more frequent ( $p < 0,05$ ) among for the cysticerci located in hearts classified under EGN type as compared with the cysticerci obtained from the mastigatory muscles and classified in this same stage.

Palavras-chave: Cysticercosis; *Cysticercus bovis*; *Taenia saginata*; *Cysticercus cellulosae*; *Taenia solium*; Polymerase.

## CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

Aristóteles em “*História Animalium*” (384 – 322 a.C.) foi quem primeiro fez referência a uma doença em suínos caracterizada por formações císticas comparáveis a pedras de granizo (CÔRTEZ, 2000b). Todavia, o primeiro diagnóstico parasitológico da cisticercose ocorreu somente quando Malpighi, em 1697, verificou que o cisticerco continha um “verme” (SILVA, 2005).

A partir do século XVIII várias descobertas se sucederam e duas tênias que parasitam humanos foram definitivamente distinguidas como espécies quando Linnaeus em 1758 descreveu a *Taenia solium* e Goeze em 1782 a *Taenia saginata*. Em seguida, Wermer em 1786 e Goeze em 1789 verificaram que as formas larvares encontradas no suíno e no homem eram idênticas, sendo que a denominação *Cysticercus* foi criada por Zeder em 1800 (PESSOA & MARTINS, 1982; NEVES, 1990). Entretanto, o elo epidemiológico existente entre a teníase e a cisticercose só foi esclarecido após os experimentos de Levckart em 1861, Oliver em 1869 (CÔRTEZ, 2000a), Redonnadie Duda em 1877 (BACIGALUPO & BACIGALUPO, 1956) e Küchenmeister em 1885 (PESSOA & MARTINS, 1982; NEVES, 1990), que provocaram infecções no homem e nos animais, demonstrando que os cisticercos quando ingeridos pelos homens, davam origem às tênias nos mesmos, e quando os ovos das tênias eram ingeridos por homens ou por animais, davam origem à cisticercose nos homens e nos animais.

Como uma zoonose clássica e com distribuição cosmopolita, o complexo epidemiológico teníase-cisticercose constitui importante problema de saúde pública, e apesar de ser considerado como uma doença potencialmente erradicável continua, na atualidade, causando danos à saúde, principalmente nos países em desenvolvimento, mantendo-se em áreas de alta prevalência na Índia, na África, no México, nas Américas Central e do Sul e em regiões consideradas endêmicas como: Coréia do Norte, China, Indonésia, Sudeste da Ásia e na Europa Oriental (CARPIO, 2002; WHO, 2002 CDC, 2003).

Entre os causadores de teníase nos homens, a *Taenia saginata* é o parasito mais difundido (CDC, 2003). Atualmente, acredita-se que existam 77 milhões de pessoas parasitadas por *Taenia saginata* no mundo, das quais, 32

milhões na África, 11 milhões na Ásia, dois milhões na América do Sul e um milhão na América do Norte (SILVA, 2005).

O Brasil possui o maior rebanho comercial bovino do mundo, estimado em mais de 160 milhões de cabeças que, em 2005, produziu mais de sete milhões de toneladas de carne (equivalente carcaça), ocupando assim o primeiro lugar no mundo, gerando mais de 2,9 bilhões de dólares em exportações (ANUALPEC, 2006).

Os dados relativos à cisticercose bovina no Brasil são fornecidos pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF), que os obtêm através da inspeção *post-mortem* realizada por fiscais federais agropecuários e seus auxiliares nos animais abatidos em estabelecimentos de abate credenciados. Por questões de exeqüibilidade, os métodos de inspeção padronizados limitam-se a observação de órgãos, músculos e partes das carcaças, considerados como preferenciais na localização do parasito, e como ainda subsiste no país o abate clandestino, acredita-se que a ocorrência da doença esteja subestimada (SILVA, 2005; REZENDE et al., 2006). Mesmo assim, a cisticercose tem sido a patologia mais freqüentemente diagnosticada na inspeção *post-mortem* realizada em bovinos nos estabelecimentos de abate sob Inspeção Federal no Brasil (COSTA, 2003) e a principal causa de condenação de órgãos e de partes das carcaças, além da destinação ao aproveitamento condicional, causando grandes perdas econômicas associadas à produção de alimentos, além de limitar as possibilidades de comercialização da carne (FUNDEPEC, 2000). Contudo, UNGAR & GERMANO (1992), ao revisarem diversos trabalhos, estimaram que a prevalência da cisticercose bovina no Brasil seja da ordem de 0,7 a 5,3%.

O rebanho bovino do Estado de Goiás está estimado em 15,9 milhões de cabeças, ocupa a quarta posição no ranking nacional, que em 2005, Goiás abateu mais de 4,2 milhões de cabeças de bovinos ficando, em número de animais abatidos, com o quarto lugar do país (ANUALPEC, 2006).

No Estado de Goiás, no ano de 2004, a cisticercose foi diagnosticada pelo SIF em 34.285 carcaças de 2.262.445 animais abatidos afetando, portanto, 1,52% do total de animais abatidos (BRASIL, 2006).

Pode-se afirmar que, a expressiva freqüência da cisticercose bovina no Brasil e em Goiás, além de significar, evidentemente, a manutenção do elo

epidemiológico na parasitose humana provocada pela teníase, constitui-se em uma das principais causas de prejuízos econômicos tanto para as indústrias frigoríficas como para os produtores, seja pela condenação total ou parcial de carcaças, seja pelo aproveitamento condicional, ou seja, pelo deságio imposto ao produtor, principalmente, porque na fase de abate os animais acumulam todos os custos de produção (FORTES, 2000; FUNDEPEC, 2000; FUKUDA, 2003).

Apesar do conhecimento científico adquirido desde a Antigüidade sobre o complexo teníase-cisticercose, os estudos atuais sobre a parasitologia clássica são relativamente escassos e fragmentados, revelando lacunas no conhecimento epidemiológico básico e carecendo de esclarecimentos mais aprofundados em relação ao processo de interação parasito-hospedeiro (MICHALIK, 1995; NEVES, 1995).

A importância da cisticercose bovina ao ser considerada como o principal elo epidemiológico da teníase humana e o prejuízo ocasionado a todos os partícipes da cadeia produtiva da carne bovina, fazem necessário o aprofundamento e a ampliação do conhecimento científico a respeito desta zoonose.

Diante destas evidências, objetivou-se com o presente trabalho analisar as características macroscópicas e microscópicas dos cisticercos, de modo a classificá-los em etapas relativas ao processo de interação parasito-hospedeiro bovino e verificar a identidade molecular espécie-específica dos cisticercos classificados em cada uma das etapas.

Para tanto, esta tese foi subdividida em capítulos: **CAPÍTULO - I** (CONSIDERAÇÕES GERAIS), **CAPÍTULO - II** (ANATOMO-HISTOPATOLOGIA DE CISTICERCOS DE BOVINOS ABATIDOS EM MATADOURO FRIGORÍFICO) e **CAPÍTULO - III** (IDENTIFICAÇÃO POR PCR DE CISTICERCOS DE BOVINOS ABATIDOS EM MATADOURO FRIGORÍFICO).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANUALPEC – ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA, Editora Argos Comunicações. São Paulo. 447 p., 2006.
2. BACIGALUPO, J; BACIGALUPO, A. D. La *Taenia saginata* puede producir *Cysticercus bovis* en el hombre? **La Prensa Medica Argentina**, v. 43, p. 1052-1054, 1956.
3. BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento - MAPA. Delegacia Federal de Agricultura em Goiás. Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Setor de Análises e Informes - **Informes Nosográficos**, período de 01/01/93 a 31/12/03. Goiânia, 2006.
4. CARPIO, A. Neurocisticercose: an update. **Lancet Infectious Diseases**, v. 2, n.12, p. 751-762, 2002.
5. CDC. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Recommendations of the International Task Force for Disease Eradication MMWR 42(RR16); 1-25. In: CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. - Department of Health and Human Services, United States Government, 2003. Disponível em: <http://wonder.cdc.gov/wonder/prevguid/m0025967/m0025967.asp>. Acesso em: 15 out. 2006.
6. CÔRTEZ, J. A. Complexo teníase humana – Cisticercose bovina e suína I – Teníase humana. **Revista de Educação Continuada – CRMV-SP**, São Paulo, v. 3, p. 55-61, 2000a.
7. CÔRTEZ, J. A. Complexo teníase humana – Cisticercose bovina e suína II – Cisticercose bovina e suína. **Revista de Educação Continuada – CRMV-SP**, São Paulo, v. 3, p. 61-71, 2000b.
8. COSTA, R. F. R. **Pesquisa de cisticercose e caracterização das reações inflamatórias em corações de bovinos comercializados na cidade de Nova Friburgo/RJ, inspecionados pelas técnicas de Santos (1976) e do fatiamento**. 2003. 63 f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) – Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro.
9. FORTES G. Combate à cisticercose ganha novo impulso. **DBO - RURAL Editores Associados Ltda.**, São Paulo, n. 236, p.134-136, 2000.
10. FUNDEPEC – FUNDO DE DESENVOLVIMENTO DA PECUÁRIA DO ESTADO DE SÃO PAULO. MA/Fundepec fazem parceria para controlar doenças detectadas no abate. **Fundepec**, São Paulo, n. 10, p.16-19, 2000.
11. FUKUDA, R. T. **Contribuição ao estudo da epidemiologia da cisticercose bovina na região administrativa de Barretos. Aspectos ambientais e**

- econômicos**. 2003. 127 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária de Jaboticabal, São Paulo.
12. MICHALIK, M. S. M. O ensino da parasitologia na graduação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, 14., 1994, Goiânia. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia: OMS/OPAS/FNS/FINEP/CNPq/FBB/UFG/SIT-GO/MSD-AGVET, v.1, suplemento, p. 372, 1995. [resumos].
13. NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 7 ed. São Paulo: Livraria Atheneu, 1990. 462p.
14. NEVES, D. P. O ensino da parasitologia a nível de graduação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, 14., 1994, Goiânia. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia: OMS/OPAS/FNS/FINEP/CNPq/FBB/UFG/SIT-GO/MSD-AGVET, v.1, suplemento, p. 372, 1995. [resumos].
15. PESSOA, S. B.; MARTINS, A. V. **Parasitologia Médica**. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 872p.
16. REZENDE, R. B. C.; FERNANDEZ, A. T.; COSTA, F.; SILVA, T. J. P. Ocorrência de cisticercose em bovinos abatidos clandestinamente no município de Silva Jardim, RJ. **Higiene Alimentar**, v. 21, n. 110, p. 103-109, 2006.
17. SILVA, A. V. M. Teníase e Cisticercose. In: NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 8. ed. São Paulo: Livraria Atheneu, 2005. 462p.
18. UNGAR M. L.; GERMANO, P. M. L. Prevalência da cisticercose bovina no Estado de São Paulo. **Revista de Saúde Pública**, v. 26, n. 3, p. 167-172, 1992.
19. WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Control of neurocysticercosis. Fifty-Fifth World Health Assembly A55/23 Provisional agenda item 13.18 5. In: ORGANIZATION THE UNITED NATIONS, 2002. Disponível em: [www.who.int/gb/ebwha/pdf\\_files/WHA55/ea5523.pdf](http://www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA55/ea5523.pdf). Acesso em: 15 out. 2006.

## CAPÍTULO 2 – ANATOMO-HISTOPATOLOGIA DE CISTICERCOS DE BOVINOS ABATIDOS EM MATADOURO FRIGORÍFICO.

### RESUMO

A cisticercose bovina é considerada como o principal elo epidemiológico da teníase humana provocada pela *Taenia saginata* e ocasiona grande prejuízo em toda a cadeia produtiva da carne bovina. Dentro deste contexto, destaca-se a necessidade de ampliar o conhecimento científico sobre o processo de interação parasito-hospedeiro bovino. Objetivou-se analisar as alterações anátomo-histopatológicas de cisticercos através da observação das características macroscópicas e microscópicas de modo a classificá-los em etapas relativas ao processo de interação parasito-hospedeiro bovino. Concluiu-se que, a sistematização classificatória da cisticercose bovina pode ser definida em etapas relativas ao processo de interação parasito-hospedeiro; que existe correspondência relativa entre a classificação macroscópica e a classificação microscópica dos cisticercos, sendo que a correspondência acresce gradativamente a partir dos cisticercos classificados na etapa EV (etapa Vesicular), para os cisticercos classificados nas etapas EVC (Etapa Vesicular Coloidal) e EGN (Etapa Granular Nodular), até atingir a máxima correspondência para os cisticercos classificados na etapa ENC (Etapa Nodular Calcificada); que os cisticercos classificados na etapa EGN foram maiores ( $p < 0,05$ ) do que os classificados nas outras etapas, tanto quando avaliados pela mediana da área, quanto pela mediana do diâmetro; que a intensidade da inflamação crônica e da fibrose foi maior ( $p < 0,05$ ) nos cisticercos classificados nas etapas EGN e ENC e que a intensidade da necrose, da calcificação e da presença de eosinófilos foi maior ( $p < 0,05$ ) nos cisticercos classificados na etapa ENC.

Palavras-chave: Cisticercose Bovina, *Cysticercus bovis*, *Taenia saginata*, *Cysticercus cellulosae*, *Taenia solium*, Inspeção de carnes.

## CHAPTER 2 – ANATOMICAL-HISTOPATHOLOGY OF CYSTS OF BOVINE SLAUGHTERED UNDER OFFICIAL INSPECTION.

### ABSTRACT

Bovine cysticercosis is known as an epidemiologic link of the human taeniasis caused by *Taenia saginata* and it is considered as a burden in the meat production chain. In this context, it is actually evident the need of increasing scientific knowledge on the host-parasite relationship. The objective of this study was analyze the pathological alterations in cysts anatomy through the observation of the macroscopic and microscopic characteristics in order to classify them in different stages on the basis of the bovine host-parasite interaction. Results revealed that, the qualifying systemization of the bovine cysticercosis can be defined in four relative stages to the process of host-parasite interaction (Vesicular Stage: EV, Colloidal Vesicular Stage: EVC, Granular Nodular Stage: EGN and Stage Nodular Calcified: ENC). Also, it was observed an evident correspondence between the macroscopic and the microscopic classifications and its gradual increasing starting from the cysticercis classified in EV to the cysticerco classified in EVC and EGN, until reaching the highest correspondence for the cysticercis classified in ENC. The cysticerco classified in EGN were larger than those classified in other stages, as well as when evaluated by area and diameter averages. The intensity of the chronic inflammation and of the fibrous was larger in the cysticerco classified in EGN and ENC. The intensity necrosis, calcification and of the eosinophils presence were larger in the cysticerco classified in ENC stage.

Key words: Bovine cysticercosis, Meat inspection, *Cysticercus bovis*, *Taenia saginata*, *Cysticercus cellulosae*, *Taenia solium*.

## 2.1 INTRODUÇÃO

No Brasil, para a realização do diagnóstico da cisticercose bovina em animais abatidos em estabelecimentos sob Inspeção Federal os médicos veterinários, fiscais federais agropecuários, durante o exame *post-mortem* avaliam as características morfológicas macroscópicas dos cisticercos classificando-os como “vivos” ou como “calcificados”. Este tipo de classificação obedece a procedimentos padronizados de acordo com o artigo 176 do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA (BRASIL, 1997).

Evidentemente, o referido padrão de classificação dos cisticercos bovinos não se propõe a isso e, portanto, não abrange todas as fases pelas quais passam os cisticercos durante o processo de interação parasito-hospedeiro. Todavia, considerando que a denominação “cisticercos vivos” reporta-se à condição de viabilidade infecciosa do metacéstódeo, e que a denominação “cisticercos calcificados” refere-se à sua incapacidade infecciosa, fica patente a existência de outras etapas intermediárias (BIONDI et al., 2000). Portanto, antes que os cisticercos estejam completamente calcificados, eles invariavelmente, passaram por fases ou etapas intermediárias, mesmo porque, a calcificação do cisticercos decorre de um processo patológico definido na literatura como “calcificação distrófica”, que pode ocorrer nos tecidos quando estes são submetidos a quaisquer tipos de lesão inflamatória degenerativa ou necrótica e que, geralmente, constitui-se na modalidade de cura das infecções parasitárias que cursam com processo inflamatório crônico (PEREIRA, 1987).

No entanto, não foram encontrados trabalhos que descrevessem as características macroscópicas e microscópicas dos cisticercos bovinos ou que os classificassem, de forma sistematizada, de acordo com etapas relativas ao processo de interação parasito-hospedeiro bovino.

Entretanto, na literatura científica que trata da cisticercose humana: ESCOBAR-IZQUIERDO (1988), PITTELLA (1997), DEL BRUTTO (1999), LINO JÚNIOR et al. (2002) e da cisticercose suína: ALVAREZ et al. (2002), LONDOÑO et al. (2002), através da observação ou não de alterações histopatológicas decorridas do processo de interação parasito-hospedeiro e em função da

intensidade destas alterações, que são evidenciadas macroscópica e/ou microscopicamente, classificaram os cisticercos em quatro etapas distintas: Etapa Vesicular (EV), Etapa Vesicular Coloidal (EVC), Etapa Granular Nodular (EGN) e Etapa Nodular Calcificada (ENC).

ESCOBAR-IZQUIERDO (1988) e LINO JÚNIOR et al. (2002) classificaram os cisticercos, encontrados em tecidos humanos, em quatro etapas relativas ao processo de interação parasito-hospedeiro (EV, EVC, EGN e ENC) e utilizaram, respectivamente, os termos: “evolução natural dos cisticercos” e “etapas evolutivas” para designarem, como um todo, ao conjunto das etapas classificatórias.

DEL BRUTTO (1999), também classificou os cisticercos encontrados em tecidos humanos em quatro etapas (EV, EVC, EGN e ENC) e ao referir-se ao conjunto das etapas classificatórias, separou a etapa EV do conjunto, por considerá-la como sendo a etapa, na qual os cisticercos são viáveis e denominou o conjunto das demais etapas (EVC, EGN e ENC) de “estágios involutivos dos cisticercos”.

ALVAREZ et al. (2002) e LONDOÑO et al. (2002), apesar de não utilizarem as siglas denominativas: EV, EVC, EGN e ENC, classificaram os cisticercos encontrados em tecidos suínos em quatro estágios do processo de interação parasito-hospedeiro (estágios: I, II, III e IV), cujas características descritas pelos referidos autores, correspondem às descritas pelos demais autores citados anteriormente, quando classificaram os cisticercos encontrados em tecidos humanos (ESCOBAR-IZQUIERDO, 1988; DEL BRUTTO, 1999; LINO JÚNIOR et al., 2002).

PITTELLA (1997) dividiu os cisticercos encontrados em humanos em somente três estágios: “cístico” ou “vesicular”, “necrótico” ou “granular coloidal” e “nodular fibrocalcificado” e utilizou os termos: “estágios de desenvolvimento e regressão” para referir-se ao conjunto classificatório.

## **2.2 OBJETIVOS**

Objetivou-se com o presente trabalho analisar as características macroscópicas e microscópicas dos cisticercos, de modo a classificá-los em etapas relativas ao processo de interação parasito-hospedeiro bovino.

## **2.3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.3.1 Coleta dos cisticercos e análises anátomo-patológicas**

Os cisticercos utilizados neste estudo foram coletados durante o exame de inspeção *post mortem* realizada em 172 bovinos adultos, provenientes de 55 municípios do Estado de Goiás, abatidos em estabelecimento sob Inspeção Federal (SIF), situado no município de Senador Canedo-GO.

As análises das características macroscópicas foram inicialmente, realizadas no Departamento de Inspeção Final (DIF) localizado no próprio estabelecimento, e em seguida, concluídas no Laboratório de Patologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da Universidade Federal de Goiás (UFG), enquanto parte das análises das características microscópicas foram realizadas no Laboratório de Patologia do IPTSP, e parte no Laboratório de Patologia da Escola de Veterinária, ambos pertencentes à Universidade Federal de Goiás (UFG).

### **2.3.2 Critérios utilizados para a classificação anátomo-patológica**

Os cisticercos obtidos de bovinos foram classificados em quatro etapas relativas ao processo de interação parasito-hospedeiro bovino: Etapa Vesicular (EV), Etapa Vesicular Coloidal (EVC), Etapa Granular Nodular (EGN) e Etapa Nodular Calcificada (ENC), tendo como base os critérios anatomopatológicos pré-estabelecidos na literatura científica por ESCOBAR-IZQUIERDO (1988), DEL BRUTTO (1999) e LINO JÚNIOR et al. (2002) para a classificação dos cisticercos encontrados em humanos e por ALVAREZ et al. (2002) e LONDOÑO et al. (2002) para a classificação de cisticercos encontrados em suínos.

Após a coleta e a classificação inicial nas quatro diferentes etapas do PIP-HB realizada no DIF, os cisticercos foram transportados ao laboratório de patologia para que um segundo avaliador, que desconhecia a classificação realizada anteriormente pelo primeiro avaliador, reavaliasse as características macroscópicas de cada um deles e somente depois de firmado consenso entre os avaliadores, a classificação era considerada definitiva. Isto possibilitou maior acurácia na classificação macroscópica.

Para denominar o conjunto das etapas classificatórias optou-se no presente trabalho por empregar a expressão: Etapas do Processo de Interação Parasito-Hospedeiro Bovino que, por motivo de ordem prática, foi abreviada para: etapas do PIP-HB ou, simplesmente, etapas do PIP-H quando se fez referência ao processo de interação existente entre os parasitos que provocam cisticercose em vários outros hospedeiros, inclusive nos bovinos.

### **2.3.3 Classificação macroscópica dos cisticercos**

Foram classificados 43 cisticercos para cada uma das quatro etapas classificatórias relativas ao PIP-HB (43 cisticercos na EV, 43 na EVC, 43 na EGN e 43 na ENC), totalizando ao final 172 cisticercos.

Os cisticercos foram classificados na etapa EV quando se observava a presença de membrana vesicular transparente contendo líquido translúcido, e o metacésteo de coloração esbranquiçada, invaginado em seu interior, com a integridade, aparentemente, ileso.

Os cisticercos foram classificados na etapa EVC quando se verificava a presença de membrana vesicular mais espessa contendo líquido turvo ou fracamente gelatinoso e o metacésteo, devido à coloração alterada, aparentava estar com a integridade comprometida.

Os cisticercos foram classificados na etapa EGN quando a vesícula cisticercótica continha substância de aspecto caseoso e o metacésteo não foi mais integralmente evidenciado e/ou havia sido transformado em um pequeno grânulo no centro da lesão.

Os cisticercos foram classificados na etapa ENC quando a lesão cisticercótica consistia em um nódulo compacto, quando, ao tato ou ao corte, percebia-se no seu conteúdo a presença de fragmentos disformes ou nódulo de textura mineralizada e quando nenhum vestígio dos constituintes do metacésteo podia mais ser visualizado.

### **2.3.4 Preparação dos cisticercos para as análises microscópicas**

Os cisticercos foram depositados em recipientes previamente identificados contendo solução de formaldeído a 10% para fixação dos tecidos.

Posteriormente, foram desidratados em soluções crescentes de álcoois; diafanizados em xilol; incluídos em parafina, e em seguida, confeccionados os blocos. Subseqüentemente, foi realizada a microtomia para a obtenção de fragmentos de 6 $\mu$ m de espessura. Os fragmentos obtidos foram capturados em lâminas de vidro, e em seguida, corados pela técnica de Hematoxilina-Eosina (HE) ou, quando necessário, utilizou-se também, a técnica histoquímica de Picro-Sírius para a identificação de fibrose; Ácido Periódico de Schiff (PAS) para identificação de depósito de radicais glicídicos; von Kossa para identificação de depósito de sais de cálcio; Vermelho Congo para identificação de beta-fibrilose e Giemsa para identificação de células presentes nos tecidos do hospedeiro e/ou do parasito (LUNA, 1968).

### **2.3.5 Classificação microscópica dos cisticercos**

Após a classificação macroscópica e o processamento do material, os cisticercos foram observados à microscopia e em função da qualidade histológica obtida, foram selecionadas lâminas de microscopia correspondentes a 86 cisticercos. Desta forma, e de acordo com a análise das características microscópicas, 12 (13,95%) cisticercos foram classificados na etapa EV; 21 (24,42%) na etapa EVC; 29 (33,72%) na EGN e 24 (27,91%) na ENC.

Os cisticercos foram classificados na etapa EV quando se observou que as áreas de tegumento do parasito estavam histologicamente intactas, admitindo-se a presença de infiltrado inflamatório nos tecidos do hospedeiro, circunvizinhos à lesão cisticercótica.

Os cisticercos foram classificados na etapa EVC quando se evidenciava alterações no tegumento, a presença de células componentes do infiltrado inflamatório (linfócitos, neutrófilos, monócitos, além de fibroblastos e fibras colágenas) no interior da vesícula cística e o metacestódeo com sinais de degeneração hialina.

Os cisticercos foram classificados na etapa EGN quando se verificou que a vesícula cística havia sido totalmente invadida pelo infiltrado inflamatório e o metacestódeo havia sido atingido pela ação dos leucócitos, evidenciando-se somente restos estruturais do parasito.

Os cisticercos foram classificados na etapa ENC quando não foi possível observar as estruturas da vesícula cística e do metacestódeo, que haviam sido transformadas em um nódulo sólido, mineralizado, rodeado totalmente por tecido conjuntivo denso não modelado.

As alterações patológicas microscópicas relativas à inflamação, à presença de eosinófilos, à necrose, à fibrose e à calcificação, foram registradas conforme foram avaliadas quanto à ausência, presença e intensidade, das mesmas, nas lesões cisticercóticas. Sendo que, a intensidade foi avaliada segundo o seguinte critério: 0 (zero) ou ausente, quando determinada alteração não foi observada; 1 (um) ou discreta, quando houve comprometimento de até 25% da área observada; 2 (dois) ou moderada, quando a área observada havia sido comprometida de 26% a 50% e 3 (três) ou acentuada, quando o comprometimento da área observada era estimado em mais de 50%.

A observação das lâminas foi realizada de forma aleatória, sempre pelos mesmos observadores e sem que se soubesse em qual etapa o cisticerco, que no momento era evidenciado na lâmina, havia sido classificado segundo a análise das características macroscópicas. Este procedimento, além de garantir a isenção de viés metodológico, permitiu a avaliação comparativa da eficácia da classificação macroscópica dos cisticercos, nas quatro diferentes etapas do PIP-HB, em relação à classificação, dos mesmos cisticercos, nas mesmas etapas, segundo a análise das características microscópicas.

### **2.3.6 Morfometria macroscópica dos cisticercos**

Os cisticercos foram fotografados com câmara digital (marca Sony, modelo: P85) e, através do programa Axiovision (Zeiss), foram mensuradas quanto à área ( $\text{mm}^2$ ) e quanto ao diâmetro (mm), possibilitando assim, a comparação destes valores entre os cisticercos classificados nas quatro diferentes etapas do PIP-HB.

### **2.3.7 Análises estatísticas**

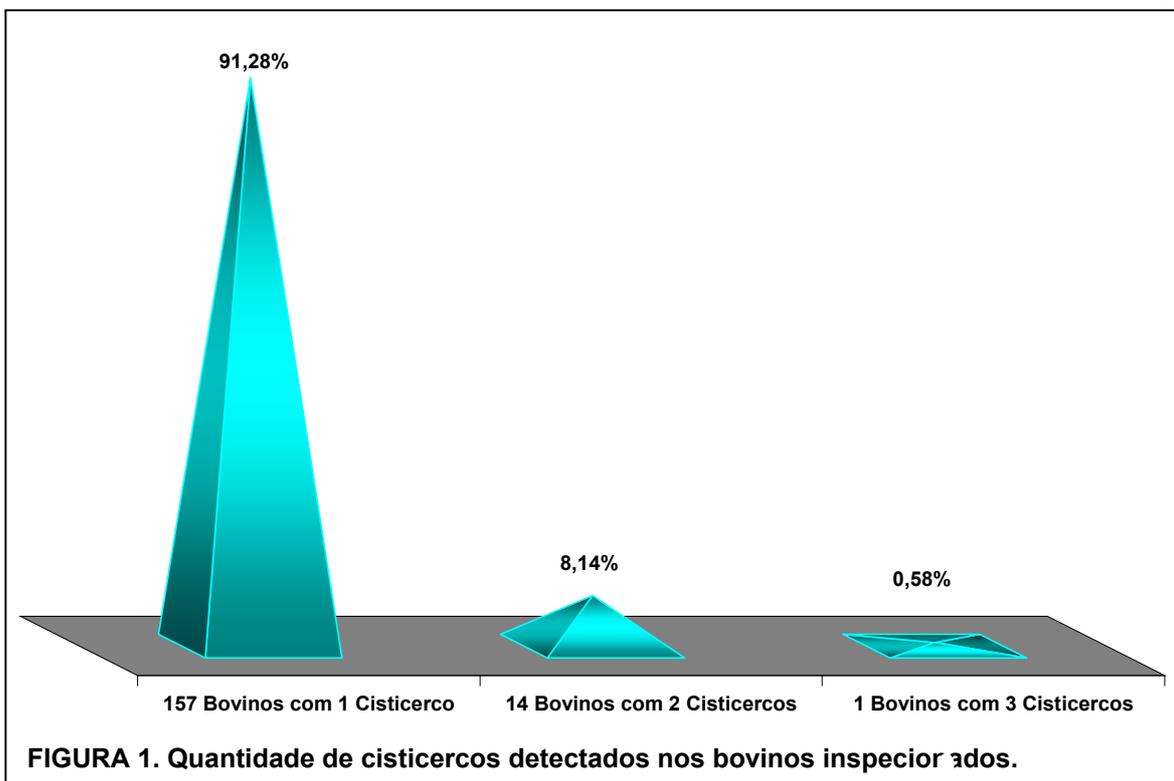
Inicialmente, para a execução das análises estatísticas foi elaborado um banco de dados eletrônico. Em seguida, as variáveis foram testadas para

verificar a distribuição normal, através do teste de Kolmogorov-Smirnov. Na avaliação da frequência mediana da área e do diâmetro dos cisticercos foi utilizado o programa Sigma Stat 2.03, através do qual, foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Walis, seguido do teste de Dunn (SAMPAIO, 1998). Através do mesmo programa e dos mesmos testes estatísticos, foi avaliada a intensidade mediana dos processos patológicos gerais sobre os cisticercos classificados nas diferentes etapas do PIP-HB. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando a probabilidade de rejeição da hipótese de nulidade foi menor ou igual a 5% ( $p \leq 0,05$ ).

## **2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **2.4.1 Quantidade e localização dos cisticercos**

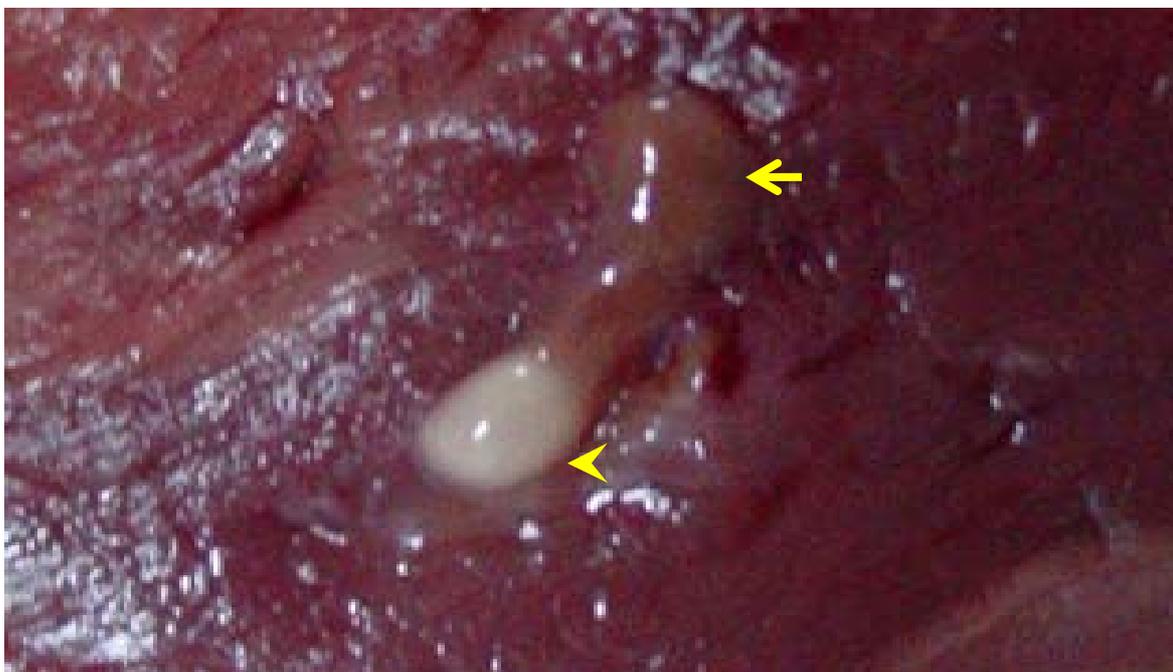
Entre os 172 bovinos, nos quais foram coletados cisticercos, 157 (91,28%) foram considerados monocisticercóticos (FIGURA 1). Este resultado está em acordo com a afirmação de FUKUDA et al. (1998) de que, na maioria dos casos, a cisticercose apresenta-se sob a forma de infecção “leve”. No entanto, o percentual encontrado foi inferior ao declarado por SANTOS (1987), que também seguiu a rotina do SIF na coleta dos cisticercos, e constatou que 96,4% dos bovinos abatidos eram considerados monocisticercóticos. Todavia, a detecção de somente um cisticerco, na maioria dos animais inspecionados, não significa que os mesmos não possam estar infectados por mais cisticercos que, ocasionalmente, seriam detectados se o exame *post mortem* fosse praticado de forma mais abrangente e detalhada (WALTHER & KOSKE, 1980; MINOZZO et al., 2002; COSTA, 2003; NUNES, 2004).



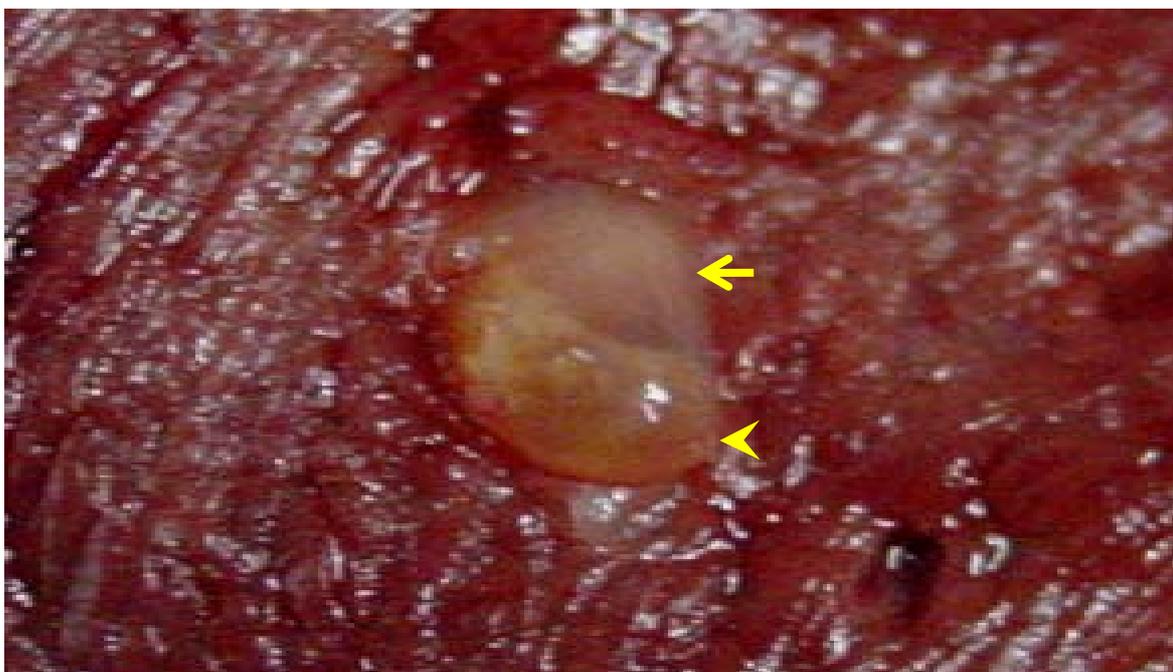
Dos cisticercos coletados 48,26% (83/172) estavam localizados: nos músculos da mastigação; 44,77% (77/172) no coração; 2,91% (5/172) no fígado; 1,74% (3/172) no esôfago; 1,16% (2/172) no pilar do diafragma e 1,16% (2/172) na língua. Estes resultados assemelham-se aos dados relatados por MANHOSO (1996), FERNANDES & BUZZETTI (2001), MOREIRA et al. (2001), ALMEIDA et al. (2002), MOREIRA et al. (2002) e RESENDE et al. (2006), os quais, também encontraram acima de 90% dos cisticercos localizados nos músculos da mastigação e no coração dos bovinos inspecionados. Entretanto, a frequência dos cisticercos localizados nestas regiões anatômicas difere do que foi relatado por WALTHER & KOSKE (1980), que examinou bovinos naturalmente infectados, como também, do que foi relatado por MINOZZO et al. (2002) e NUNES, 2004, que submeteram bovinos à infecção experimental, pois que, os referidos autores, após abaterem os animais, realizaram inspeção mais rigorosa em partes das carcaças, através do fatiamento de órgãos e de outras massas musculares não incluídas na rotina da inspeção federal e constataram que os cisticercos, apesar de estarem presentes com relativa frequência nos músculos da mastigação e nos corações das carcaças, eles foram mais frequentemente encontrados na musculatura esquelética dos membros torácicos e pélvicos.

### 2.4.2 Características macroscópicas dos cisticercos

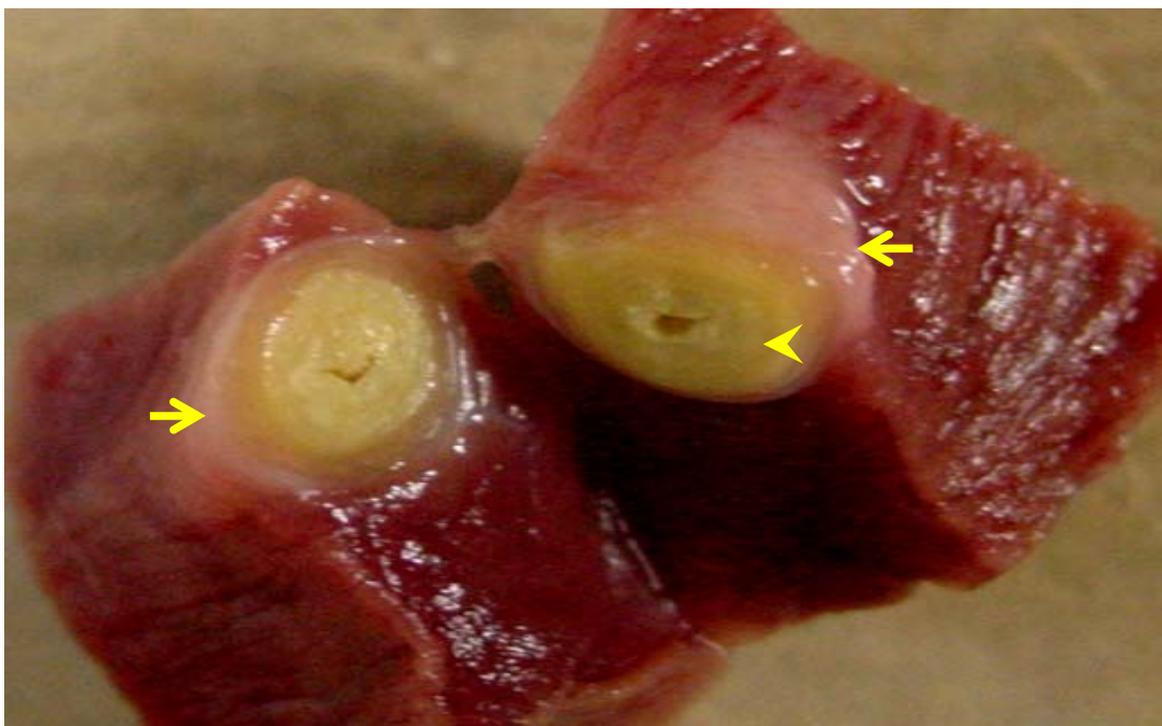
As características macroscópicas observadas nos cisticercos classificados nas etapas: EV, EVC, EGN e ENC encontram-se descritas e podem ser visualizadas nas FIGURAS: 2, 3, 4 e 5, respectivamente.



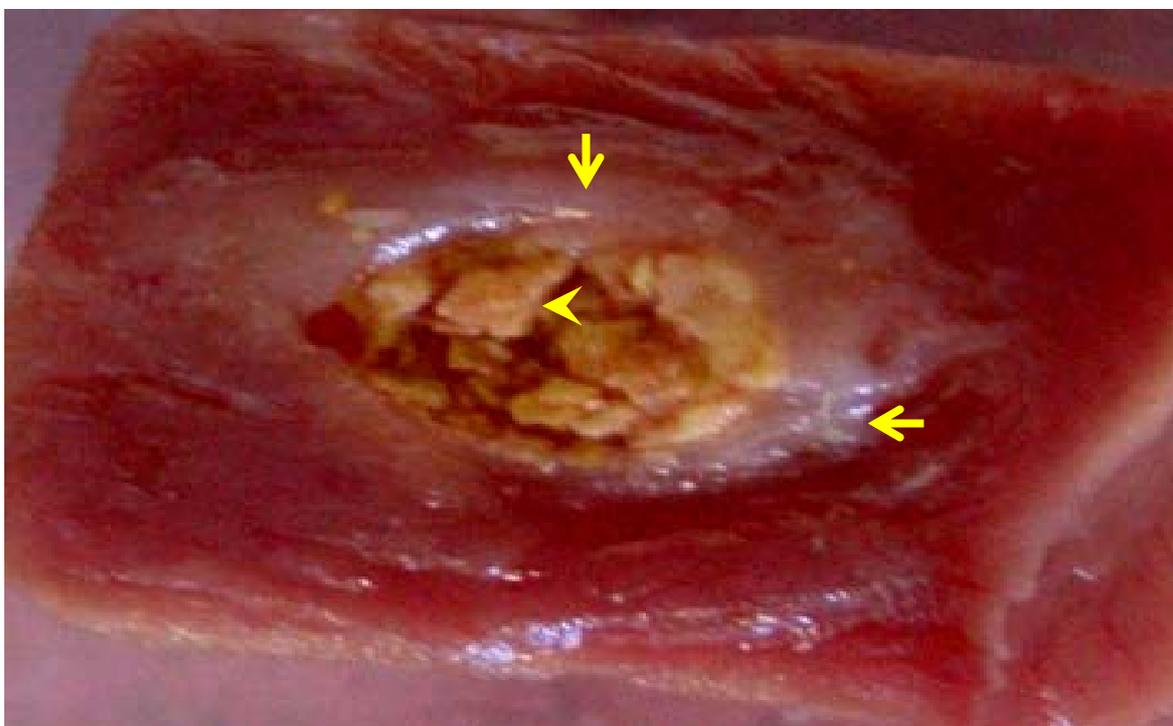
**FIGURA 2.** Cisticerco classificado à macroscopia na etapa EV, visualiza-se a membrana e o líquido vesicular transparentes (seta), contendo o metacestódeo de cor esbranquiçada localizado na extremidade inferior da vesícula (cabeça de seta).



**FIGURA 3.** Cisticerco classificado à macroscopia na etapa EVC, visualiza-se a opacidade do líquido vesicular (seta) e a coloração amarelada do metacestódeo localizado na extremidade inferior da vesícula cisticercótica (cabeça de seta).



**FIGURA 4.** Cisticerco classificado à macroscopia na etapa EGN, visualiza-se a lesão cisticercótica circundada por tecido de coloração esbranquiçada (setas) e com o espaço interno quase que totalmente preenchido por substância de aspecto caseoso (cabeça de seta).



**FIGURA 5.** Cisticerco classificado à macroscopia na etapa ENC, visualiza-se a lesão cisticercótica circundada por tecido de coloração esbranquiçada (setas) e com o espaço interno totalmente preenchido por estruturas compactas e disformes (cabeça de seta).

As características macroscópicas evidenciadas nos cisticercos encontrados em bovinos, que foram utilizados neste estudo, assemelharam-se às descritas para os cisticercos encontrados em humanos, quando estudados por ESCOBAR-IZQUIERDO (1988), DEL BRUTTO (1999) e LINO JÚNIOR et al. (2002), como também, assemelharam-se às características descritas para os cisticercos encontrados em suínos, estudados por ALVAREZ et al. (2002) e LONDOÑO et al. (2002).

Os trabalhos científicos que têm como tema a cisticercose bovina e que adotam a metodologia da rotina de inspeção do SIF, geralmente, classificam os cisticercos apenas como “vivos” e “calcificados”, ou ainda, “viáveis” e “inviáveis” (FERNANDES & BUZETTI, 2001; MOREIRA et al., 2001; ALMEIDA et al., 2002; MOREIRA et al., 2002; ALMEIDA et al., 2006 e RESENDE et al., 2006).

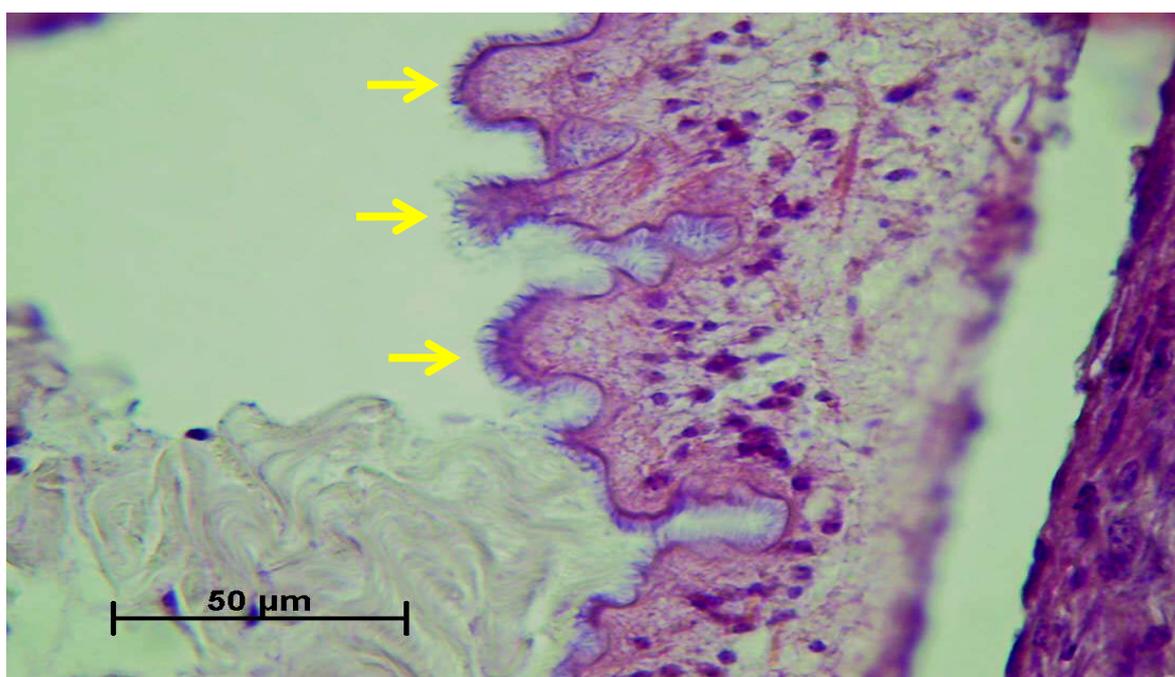
Entretanto, MINOZZO et al. (2004), ao submeterem bovinos à infecção experimental, verificaram que os cisticercos apresentavam outras fases relativas ao PIP-HB, além das admitidas pelo SIF, e classificaram os cisticercos recuperados das carcaças como: “vivos”, “degenerados” e/ou “caseosos”, e “calcificados”. Enquanto, MINOZZO et al. (2002), também submetendo bovinos à infecção experimental, classificaram os cisticercos recuperados como: “vivos imaturos”, “vivos maduros” e “degenerados”, sendo que os denominados como “degenerados”, foram subdivididos em dois tipos: “*cheesy*” (provavelmente, devido ao aspecto caseoso do conteúdo da lesão cisticercótica) e “calcificados”. Diante das descrições relatadas pelos referidos autores, sobre as características macroscópicas dos cisticercos por eles estudados, acreditamos que tanto a denominação “*cheesy*” ou a simplesmente “caseosos”, correspondam à classificação dos cisticercos na etapa EGN, como fora definida e caracterizada no presente estudo.

Ao passo que, BIONDI et al. (2000), propuseram a execução de uma técnica de evaginação de metacestódeos retirados de carcaças bovinas, como forma de certificar a viabilidade infecciosa dos mesmos, pois observaram que, dentre os cisticercos classificados como “vivos” pelo SIF, evidenciava-se, devido às variações nas características específicas de coloração e consistência do conteúdo cisticercótico, a existência de diferentes fases do PIP-HB que, pelas alterações patológicas relacionadas às mesmas, poderiam comprometer a

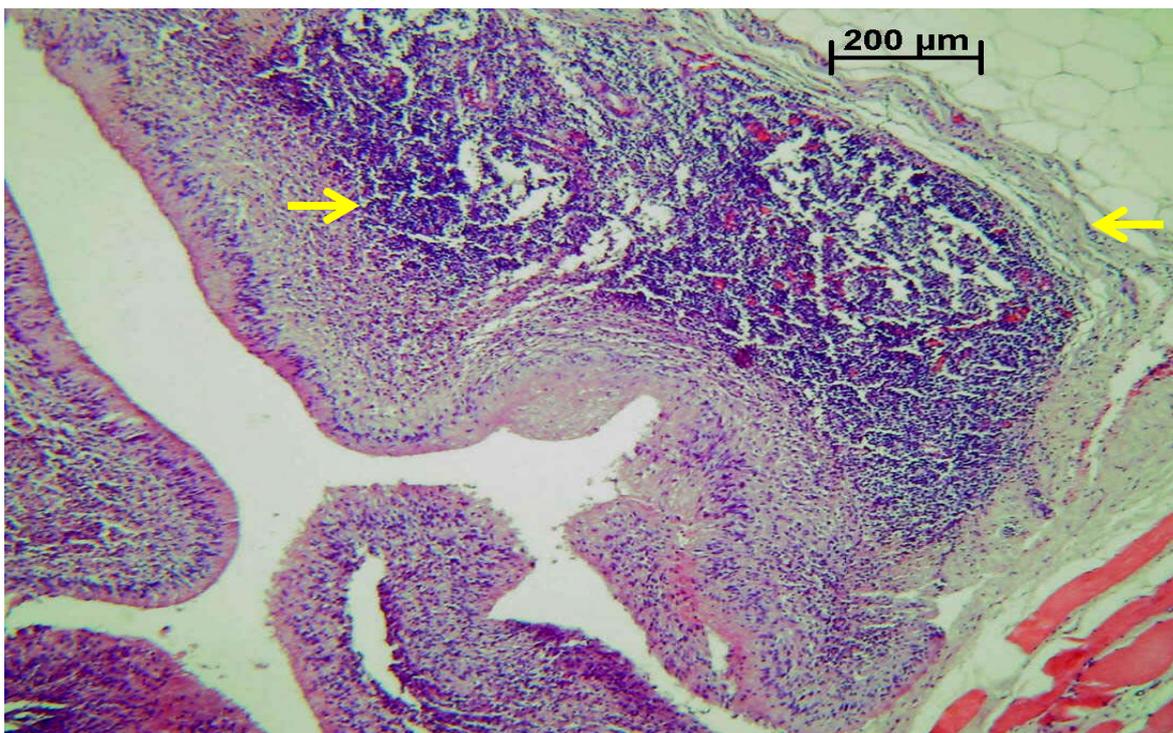
viabilidade infecciosa dos metacestódeos. Pelas descrições das características macroscópicas dos cisticercos relatadas pelos referidos autores pode-se inferir que os cisticercos que compunham o grupo controle, que era formado por cisticercos considerados duvidosos quanto à viabilidade infecciosa, poderiam ser classificados nas etapas EVC e EGN e que, os cisticercos considerados como “vivos” e/ou “viáveis”, poderiam ser classificados na etapa EV, conforme foram definidas no presente trabalho.

### 2.4.3 Características microscópicas dos cisticercos

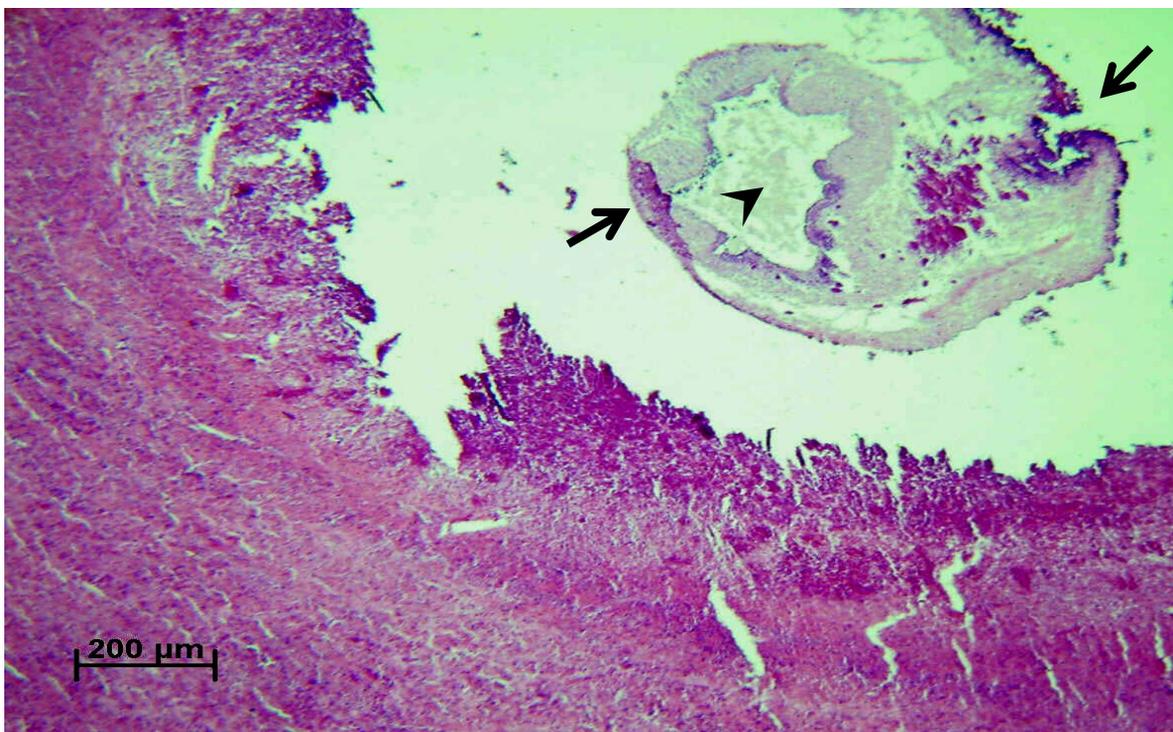
Nos cisticercos classificados na etapa EV, verificou-se que a região do fluido cístico, o metacestódeo com a região dos ductos, a porção cefálica contendo o rostelo inerme e as ventosas, assim como as membranas cuticular, celular e reticular, estavam histologicamente preservadas. Todavia, apesar das estruturas anatômicas dos metacestódeos estarem preservadas, pôde-se verificar que nas lesões cisticercóticas classificadas nesta etapa, mais precisamente na região tecidual do hospedeiro, circunvizinha aos cisticercos, a intensidade da reação inflamatória variou de moderada a acentuada e o infiltrado inflamatório compunha-se, predominantemente, por células mononucleares, sendo que, em alguns casos, notava-se a presença de eosinófilos (FIGURAS 6 e 10).



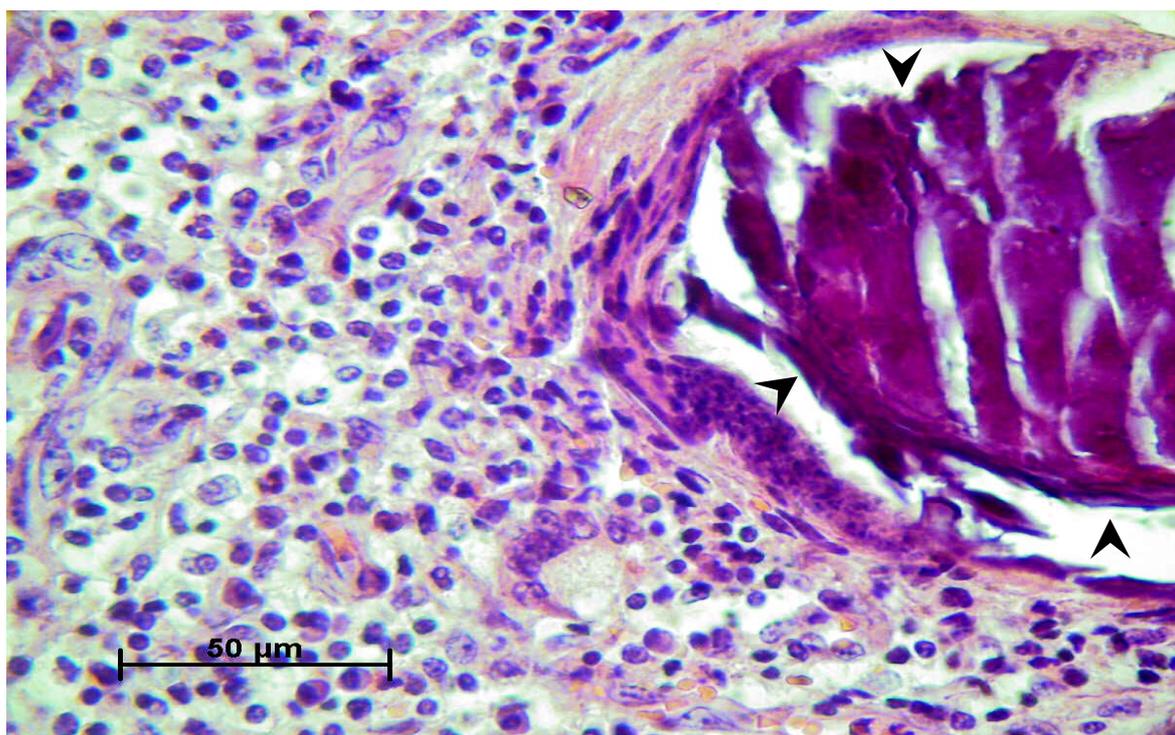
**FIGURA 6.** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa EV, observa-se a membrana cuticular do cisticerco com suas microtríqueas (setas) (40x HE).



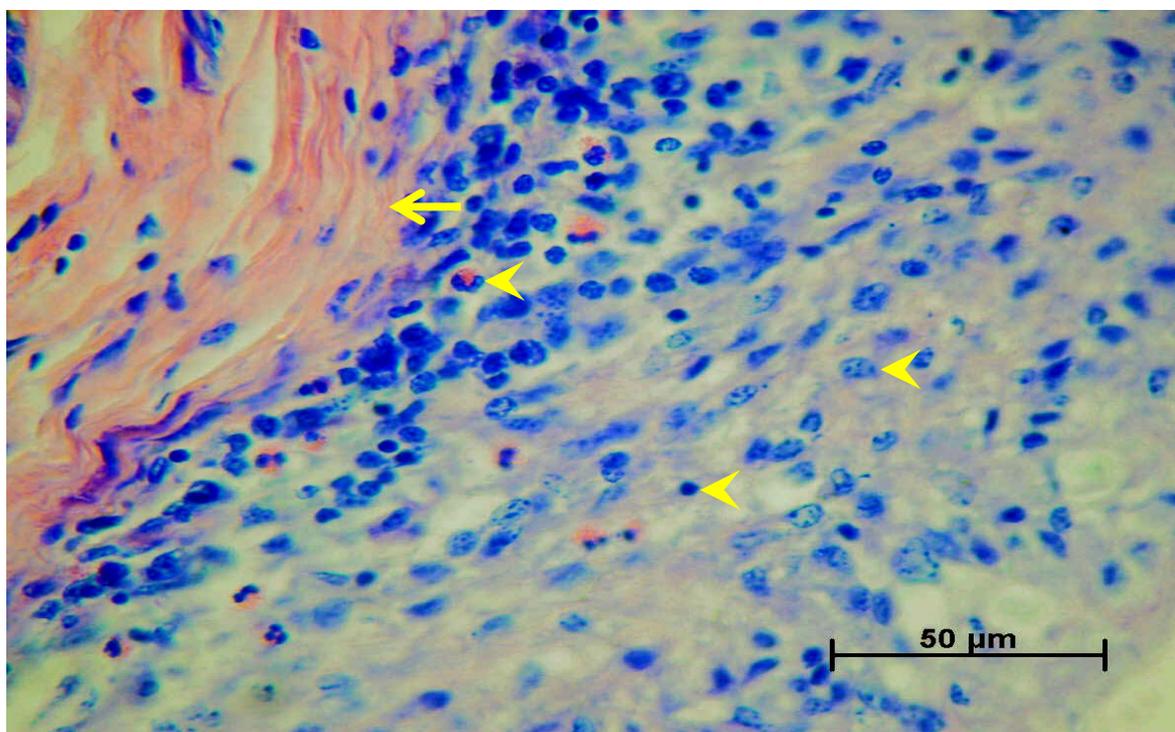
**FIGURA 7.** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa EVC, observa-se no tecido do hospedeiro, adjacente ao espaço correspondente à lesão cisticercótica, a intensa concentração de células do infiltrado inflamatório circundada por fibrose (setas) (5x HE).



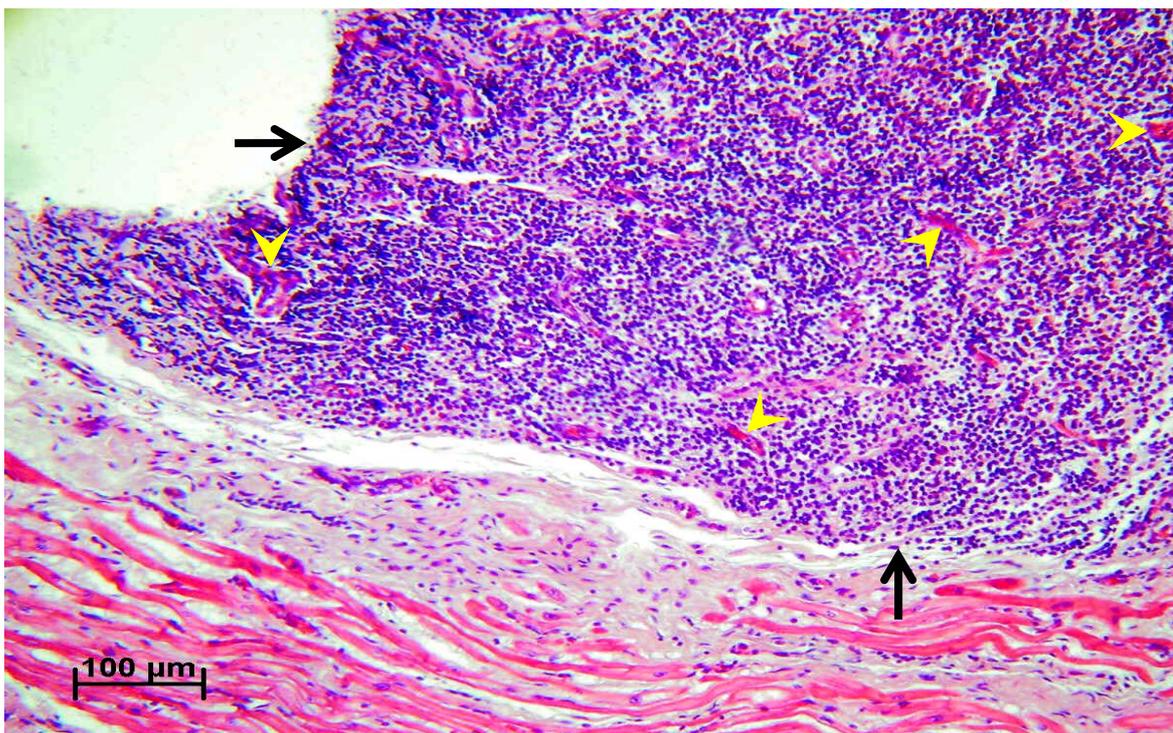
**FIGURA 8.** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa EGN, observa-se as alterações morfológicas evidenciadas no escólex do metacestódeo (setas), atingindo inclusive a região correspondente ao rostelo e às ventosas (cabeça de seta) (5x HE).



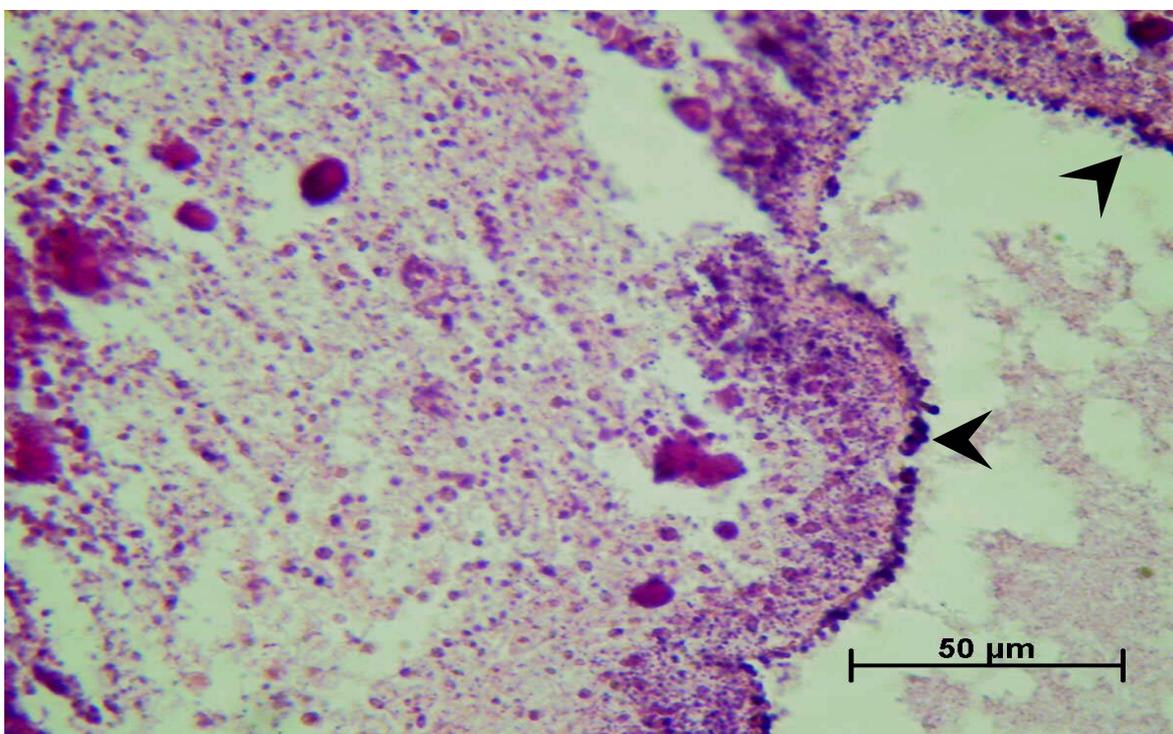
**FIGURA 9.** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa ENC, observa-se a calcificação de todo o cisticerco (cabeças de seta) e a intensa reação inflamatória em todo o tecido circunvizinho, pertencente ao hospedeiro, com presença de leucócitos mononucleares e eosinófilos (40x HE).



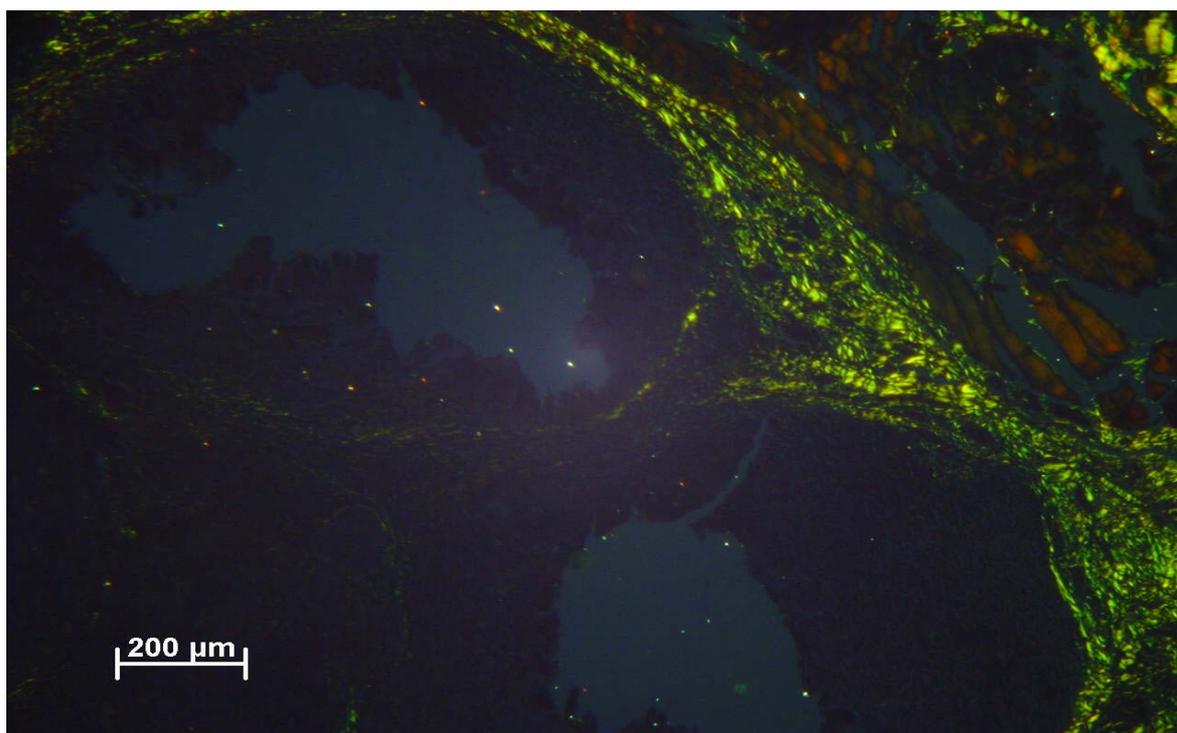
**FIGURA 10.** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa EV, observa-se a densa camada de fibrose organizada de modo a circundar a lesão cisticercótica, e em volta da mesma, leucócitos, principalmente, macrófagos, linfócitos e eosinófilos (cabeças de setas) (40x Giemsa).



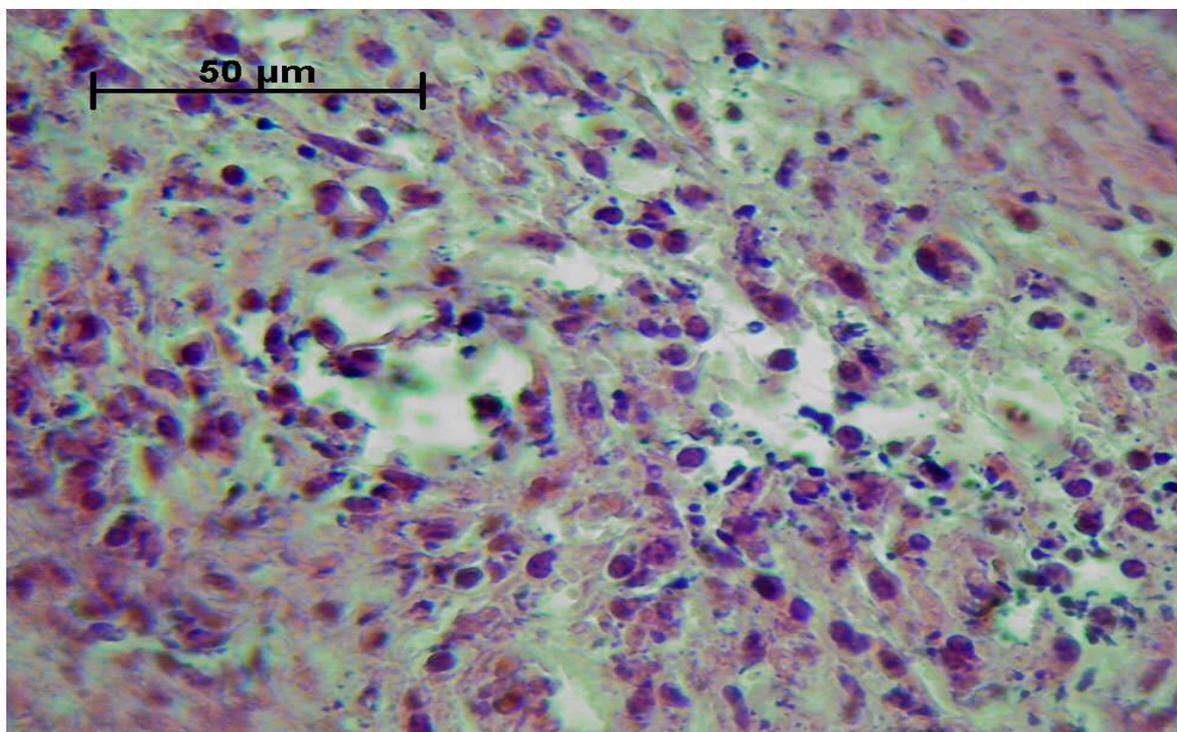
**FIGURA 11.** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa EVC, observa-se o tecido de granulação na adjacência da lesão cisticercótica (setas), caracterizado pela intensa angiogênese (cabeças de seta) (10x HE).



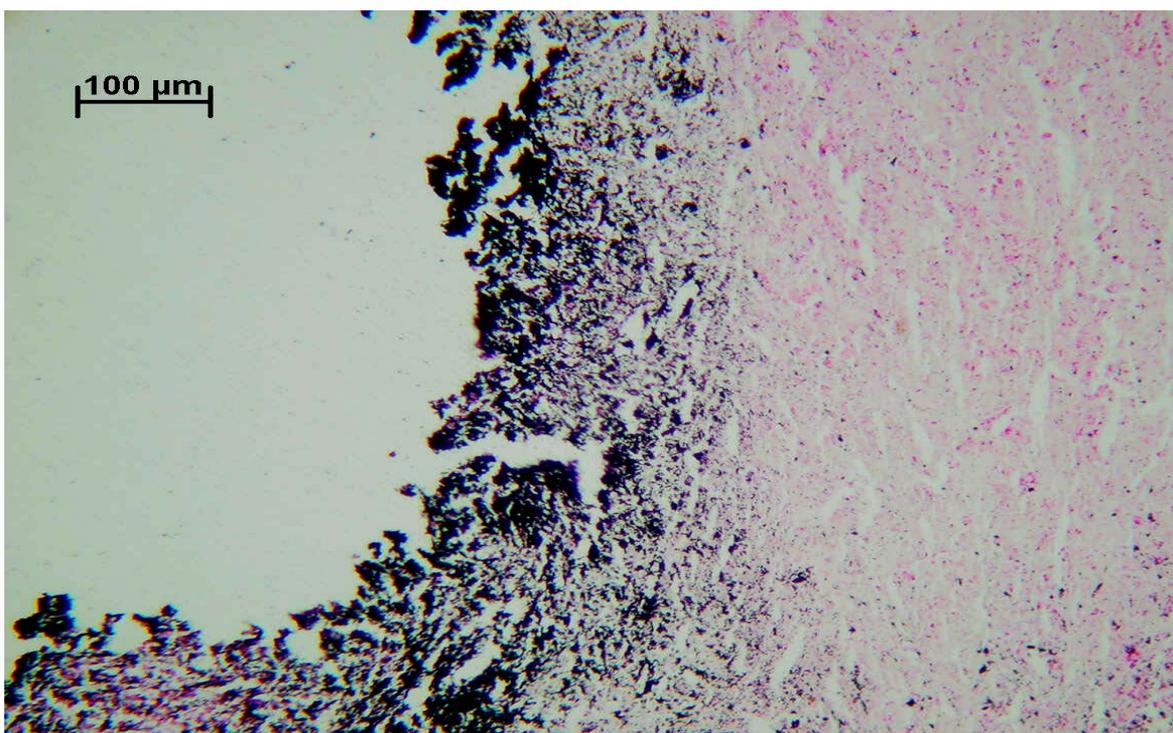
**FIGURA 12.** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa EGN, observa-se a pequena quantidade de radicais glicídicos depositados principalmente na membrana cuticular (cabeças de seta) demonstrando que os cisticercos classificados na etapa EGN, apesar das alterações sofridas, ainda mantêm atividade metabólica (40x PAS).



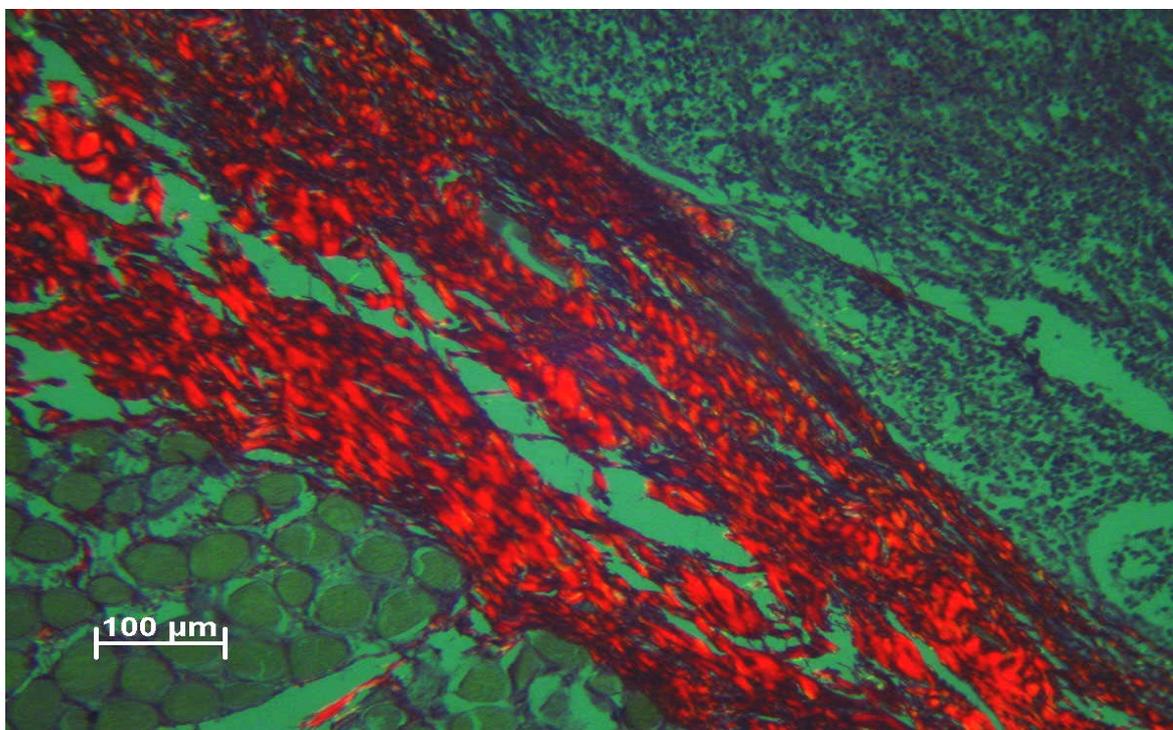
**FIGURA 13.** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa ENC, observa-se a presença de beta-fibrilose (de cor verde brilhante vista sob luz polarizada) depositada ao redor da lesão cisticercótica indicando amiloidose (5x Vermelho Congo).



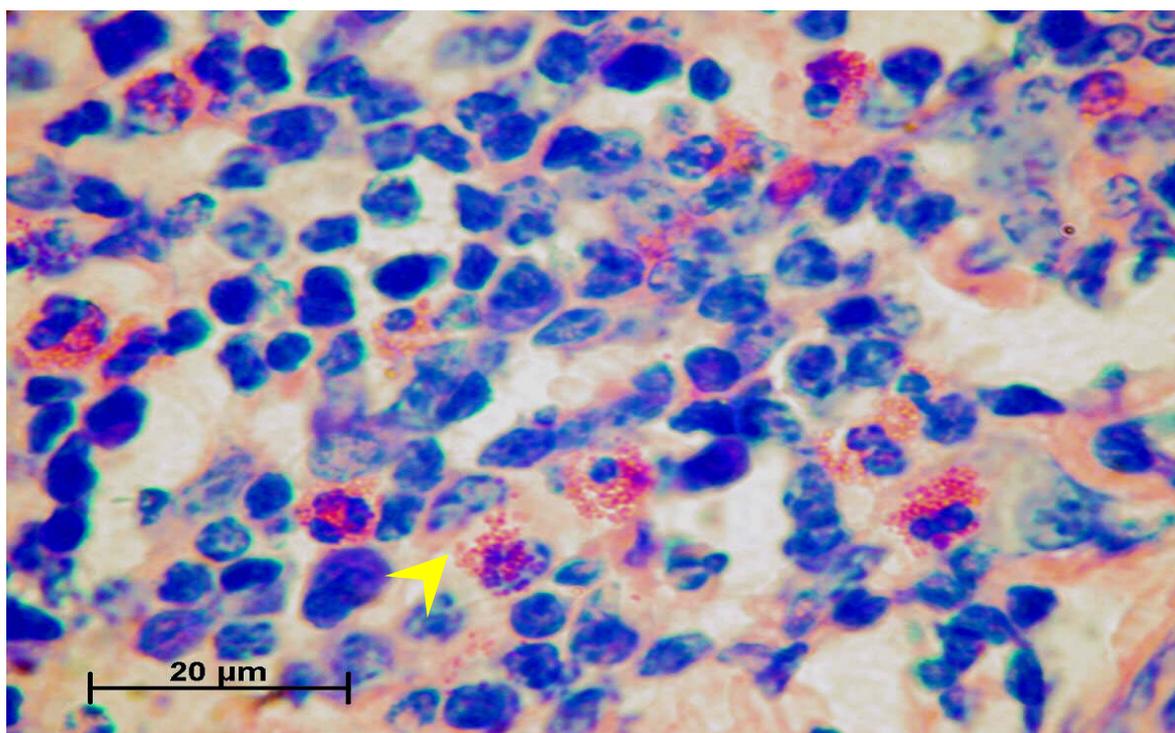
**FIGURA 14.** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa EGN, observa-se várias células do infiltrado inflamatório alteradas pela necrobiose (40x HE).



**FIGURA 15.** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa EGN, observa-se a deposição de cristais de cálcio (de cor escura), circundando a borda interna da lesão cisticercótica (10x von Kossa).



**FIGURA 16.** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa ENC, observa-se espessa camada de fibrose (de cor avermelhada visto sob luz polarizada), disposta entre as fibras musculares no tecido do hospedeiro (vértice inferior à esquerda) e a lesão cisticercótica (vértice superior à direita) (10x Picro Sirius).



**FIGURA 17.** Fotomicrografia de cisticerco classificado na etapa ENC, observa-se a presença de eosinófilos distribuídos entre as demais células do infiltrado inflamatório, inclusive em processo de degranulação (cabeça de seta) (100x Giemsa).

Da mesma forma como fora observado no presente estudo, PITTELLA (1997), ESCOBAR-IZQUIERDO (1988), DEL BRUTTO (1999), ALVAREZ et al. (2002), LINO JÚNIOR et al. (2002) e LONDOÑO et al. (2002), ao analisarem cisticercos encontrados em tecidos humanos ou de suínos, verificaram também, que os eventos relacionados à reação inflamatória podem ter início desde a etapa EV.

Nos cisticercos classificados na etapa EVC, quando observados ao microscópio, verificou-se a presença de degeneração hialina no escólex do metacestódeo e na região correspondente ao fluido cístico. Nos tecidos do hospedeiro, circunvizinhos aos cisticercos, notavam-se alterações decorrentes do processo inflamatório crônico com predomínio de fibrose, células mononucleares, porém com a presença de eosinófilos e neovascularização (FIGURAS 7 e 11).

A hialinização parcial da membrana vesicular e da larva metacestódica, em cisticercos classificados na etapa EVC também foi observada por ESCOBAR-IZQUIERDO (1988) na cisticercose humana, como também, por FLISSER (1987) na cisticercose suína. Sendo que, FLISSER (1987) considerou o processo

degenerativo tão característico de uma das etapas do PIP-H, que usou a denominação “hialinizado” para designar os cisticercos que, de forma correspondente, pertenceriam à etapa EVC, como caracterizada no presente estudo. De forma análoga, a referida autora também considerou que a necrose seria a alteração patológica mais característica de outra etapa do PIP-H e usou a denominação “necrosado” para designar os cisticercos que, de forma correspondente, poderiam pertencer às etapas EGN ou ENC.

Em relação aos cisticercos classificados na etapa EGN, quando observados ao microscópio, verificou-se, freqüentemente, que o infiltrado inflamatório havia invadido o conteúdo da vesícula cística, onde somente restos do parasito puderam ser evidenciados, sendo que, a região do fluido cístico e o metacestódeo, quando já não haviam sofrido uma calcificação discreta, estavam alterados pela necrose coagulativa ou caseosa e também pela fibrose, além da presença discreta de radicais glicídicos indicando ineficiência no metabolismo larvar (FIGURAS: 8, 12, 14 e 15).

Em relação ao que fora observado quanto às características microscópicas dos cisticercos classificados na etapa ENC, verificou-se que a área correspondente à vesícula cística evidenciava-se relativamente pequena, calcificada e fibrosada, no entanto, haviam áreas com acentuada presença de células inflamatórias mononucleares e de eosinófilos, que se estendiam ao tecido do hospedeiro, nas adjacências das lesões cisticercóticas, além de beta-fibrilose indicando amiloidose (FIGURAS: 9, 13, 16 e 17).

Nos cisticercos classificados nas etapas EGN e ENC, os achados histopatológicos de necrose e calcificação, também foram observados em cisticercos classificados nas mesmas etapas do PIP-H por ESCOBAR-IZQUIERDO (1988), DEL BRUTTO (1999), ALVAREZ et al. (2002), LINO JÚNIOR et al. (2002) e LONDOÑO et al. (2002) e por outros autores que, apesar de não terem usado o mesmo critério de classificação, descreveram cisticercos com alterações histopatológicas semelhantes que foram, portanto, classificados em etapas correspondentes, porém com denominações diversas (PITTELLA, 1997; COSTA, 2003; MINOZZO et al., 2002; MINOZZO et al., 2004).

A ocorrência de alterações histológicas características das inflamações crônicas também foram relacionadas de forma progressiva por ESCOBAR-

IZQUIERDO (1988), DEL BRUTTO (1999), ALVAREZ et al. (2002), LINO JÚNIOR et al. (2002) e LONDOÑO et al. (2002). Entretanto, em relação à cisticercose bovina, não foram encontrados trabalhos que descrevessem, de forma sistematizada, os processos patológicos gerais associados a esta parasitose.

Em relação à reação inflamatória constatou-se que de forma gradativa e crescente, na medida em que o PIP-HB tornava-se mais intenso e em que as etapas classificatórias relativas a este processo também eram definidas, as modificações histológicas denotadas, principalmente, pela presença de fibrose e pela neoformação de vasos associada à predominância de leucócitos mononucleares no infiltrado, caracterizaram o processo inflamatório crônico em todas as lesões cisticercóticas observadas (FIGURAS: 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16 e 17).

**TABELA 1 – Frequência relativa de alterações patológicas em cisticercos classificados nas quatro etapas do PIP-HB.**

ETAPAS DO PIP-HB	ALTERAÇÕES PATOLÓGICAS				
	Inflamação Crônica	Eosinófilos	Necrose	Fibrose	Calcificação
EV	100%	26,27%	0%	100%	0%
EVC	100%	17,24%	6,90%	100%	0%
EGN	100%	11,79%	35,29%	100%	26,47%
ENC	100%	69,23%	61,54%	100%	100%

**PIP-HB** = Processo de Interação Parasito-Hospedeiro Bovino;

**EV** = Etapa Vesicular; **EVC** = Etapa Vesicular Coloidal; **EGN** = Etapa Granular Nodular;

**ENC** = Etapa Nodular Calcificada

**TABELA 2 – Frequência mediana de Intensidade das alterações patológicas em cisticercos classificados nas quatro etapas do PIP-HB.**

ETAPAS DO PIP-HB	Inflamação Crônica	ALTERAÇÕES PATOLÓGICAS			
		Eosinófilos	Necrose	Fibrose	Calcificação
EV	2	0	0	1	0
EVC	2	0	0	2	0
EGN	3 <sup>*</sup>	0	0	3 <sup>*</sup>	0
ENC	3 <sup>*</sup>	1 <sup>*</sup>	1 <sup>*</sup>	3 <sup>*</sup>	3 <sup>*</sup>

**PIP-HB** = Processo de Interação Parasito-Hospedeiro Bovino;

**EV** = Etapa Vesicular; **EVC** = Etapa Vesicular Coloidal; **EGN** = Etapa Granular Nodular;

**ENC** = Etapa Nodular Calcificada

Valores com \* significam que diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

Não obstante a inflamação crônica ter sido observada em todos os cisticercos analisados, a intensidade desta alteração patológica, quando avaliada semiquantitativamente, foi considerada moderada nos cisticercos classificados na etapa EV e com intensidade acentuada nos cisticercos classificados nas etapas EVC, EGN e ENC. Entretanto, ao comparar-se a frequência mediana de intensidade desta alteração patológica nos cisticercos classificados nas quatro diferentes EPIP-HB, constatou-se que a intensidade da inflamação crônica foi maior ( $p < 0,05$ ) somente nos cisticercos classificados nas etapas EGN e ENC (TABELAS 1 e 2).

Os eosinófilos foram observados em cisticercos analisados de todas as etapas classificatórias, porém com maior frequência nos cisticercos classificados nas etapas EV e ENC. Entretanto, ao comparar-se a frequência mediana de intensidade da presença desta célula nos cisticercos classificados nas quatro

diferentes etapas, constatou-se que a intensidade da sua presença foi maior ( $p < 0,05$ ) nos cisticercos classificados na etapa ENC (TABELAS 1 e 2).

Com exceção dos cisticercos classificados na etapa EV, a necrose estava presente de forma crescente nos cisticercos classificados nas outras três etapas (EVC, EGN e ENC). Entretanto, ao considerar-se a frequência mediana de intensidade desta alteração patológica, verificou-se que a intensidade da sua presença foi maior ( $p < 0,05$ ) somente nos cisticercos classificados na etapa ENC (TABELAS 1 e 2).

A fibrose também foi observada em todos os cisticercos analisados no presente estudo, mas com intensidade discreta nos cisticercos classificados na etapa EV, intensidade moderada nos cisticercos classificados nas etapas EVC e intensidade acentuada nos classificados nas etapas EGN e ENC. Assim, ao comparar-se a frequência mediana de intensidade desta alteração patológica nos cisticercos classificados nas quatro diferentes etapas, constatou-se que a intensidade da sua presença foi maior ( $p < 0,05$ ) nos cisticercos classificados nas etapas EGN e ENC (TABELA 1 e 2).

A calcificação foi observada nos cisticercos classificados nas etapas EGN e ENC, sendo que a intensidade desta alteração patológica foi observada de forma acentuada nos cisticercos classificados na etapa ENC e ao considerar-se a frequência mediana de intensidade desta alteração patológica, constatou-se que a intensidade da sua presença foi maior ( $p < 0,05$ ) nos cisticercos classificados na etapa ENC (TABELAS 1 e 2).

A presença marcante dos elementos que caracterizam uma reação inflamatória crônica nos cisticercos classificados em todas as etapas, e até mesmo, nos cisticercos classificados na EV, pode ser devida ao fato dos cisticercos terem sido coletados em bovinos provenientes de um frigorífico que penaliza o produtor com deságio (30%) aplicado ao valor a ser pago pelos animais, nos quais, a “cisticercose viva” tenha sido diagnosticada. Isto leva os produtores a aplicarem periodicamente, nos animais de regiões endêmicas e/ou epidêmicas, drogas antihelmínticas que têm ação sobre as larvas de cestódeos. Assim, o albendazol tem sido um dos anti-helmínticos (grupo farmacológico dos benzimidazóis) utilizados no controle da cisticercose suína (GONZALEZ et al.,

1995) como da cisticercose bovina (LOOYD et al., 1978; VIEIRA, 1999; BARBOSA et al., 2003; NUNES, 2004).

De acordo com FLISSER et al. (1990), a ação do praziquantel (outro antiparasitário do grupo dos benzimidazóis) interfere na qualidade e/ou na intensidade da resposta inflamatória. Segundo ESCOBEDO (1988), os derivados de benzimidazóis exercem seu efeito ao bloquear a captação de glicose pelo parasito, levando-o, gradativamente, à morte por insuficiência metabólico-energética. Desde que o parasito tenha sido fatalmente paralisado, logicamente, seriam paralisados também os mecanismos de resistência e de fuga ao seu reconhecimento pelo sistema imune do hospedeiro (WHITE et al., 1997). Desta forma, a morte repentina do parasito, conseqüentemente, permitiria a exposição de grande quantidade de antígenos que intensificariam a própria reação inflamatória promovendo, entretanto, uma resolução relativamente rápida do processo infeccioso (GARCIA-DOMINGUEZ et al., 1991).

Os resultados obtidos quanto à maior freqüência da presença de eosinófilos, principalmente nos cisticercos classificados nas etapas EV e ENC, estão em acordo com o que fora observado em cisticercos encontrados em tecidos suínos por ALVAREZ et al. (2002) e LONDOÑO et al. (2002). No entanto, diferem do que fora descrito por COSTA (2003) em relação à intensidade da presença de eosinófilos nos cisticercos isolados de corações bovinos e classificados em uma etapa do PIP-HB (“cisticercos degenerados”) correspondente às etapas EGN e ENC, pois, a referida autora, considerou que a presença dos eosinófilos nas lesões cisticercóticas foi variável, sendo predominantemente escassos.

ALVAREZ et al. (2002), ao compararem as características das reações imunes dos hospedeiros suínos em relação à dos hospedeiros humanos em resposta à infecção cisticercótica provocada por *C. cellulosae*, constataram que a intensidade da presença de eosinófilos nas lesões cisticercóticas suínas foi maior que nas lesões cisticercóticas humanas e concluíram que, entre outros fatores, a presença mais intensa de eosinófilos seria devido ao fato dos suínos reagirem mais precocemente à infecção cisticercótica em relação à reação dos humanos.

MINOZZO et al. (2004), ao submeterem bovinos à infecção experimental e quantificarem, através do ELISA, os anticorpos contra *T. saginata*,

verificaram que após 15 dias da infecção já era percebido uma reatividade de média intensidade no soro de alguns animais, sendo que, no início do experimento, os soros dos mesmos animais haviam sido analisados com resultados negativos. Os referidos autores concluíram então que a resposta à dose desafio foi tão rápida devido ao fato de que, provavelmente, os animais tivessem anteriormente entrado em contato com outros antígenos que provocariam reação cruzada.

Deve-se esclarecer que, no presente estudo, os bovinos nos quais os cisticercos foram coletados tinham três anos ou mais de idade e provinham de diversos municípios do Estado de Goiás, sendo que, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (WHO), vários destes municípios poderiam ser considerados como microrregiões endêmicas para cisticercose, pois superam a taxa de 5% que fora estipulada pela referida instituição como limiar mínimo para que a incidência desta infecção atinja o nível de endemicidade (BRASIL, 2006; WHO, 2002). Por conseguinte, acredita-se que em grande parte dos animais, nos quais os cisticercos foram coletados, já poderia haver sofrido anteriormente outras infecções cisticercóticas, como poderiam também já ter tido contato com outros imunógenos capazes de desencadear reação cruzada em resposta à infecção cisticercótica. Isto lhes permitiria, portanto, que a deflagração da reação imunológica fosse rápida e efetiva, como afirmou MINOZZO et al. (2004).

A presença da calcificação nos cisticercos classificados nas etapas EGN e ENC está em conformidade com o que fora relatado por PITTELLA (1997), ESCOBAR-IZQUIERDO (1988), DEL BRUTTO (1999) em relação a cisticercos isolados de tecidos humanos e por ALVAREZ et al. (2002) e por LONDOÑO et al. (2002) em relação a cisticercos isolados de tecidos suínos, quando classificados nas mesmas etapas classificatórias, como também, por COSTA (2003) em relação a cisticercos isolados de corações bovinos e classificados em etapa correspondente às EGN e ENC.

A necrose, a fibrose e a calcificação fazem parte dos fenômenos degenerativos-necróticos e produtivos-reparativos e estão presentes no processo inflamatório crônico desde as primeiras manifestações reativas ao agente agressor até às últimas, quando o organismo busca reparar os danos teciduais causados (BOGLIOLO & PEREIRA, 1987). Portanto, estas alterações patológicas

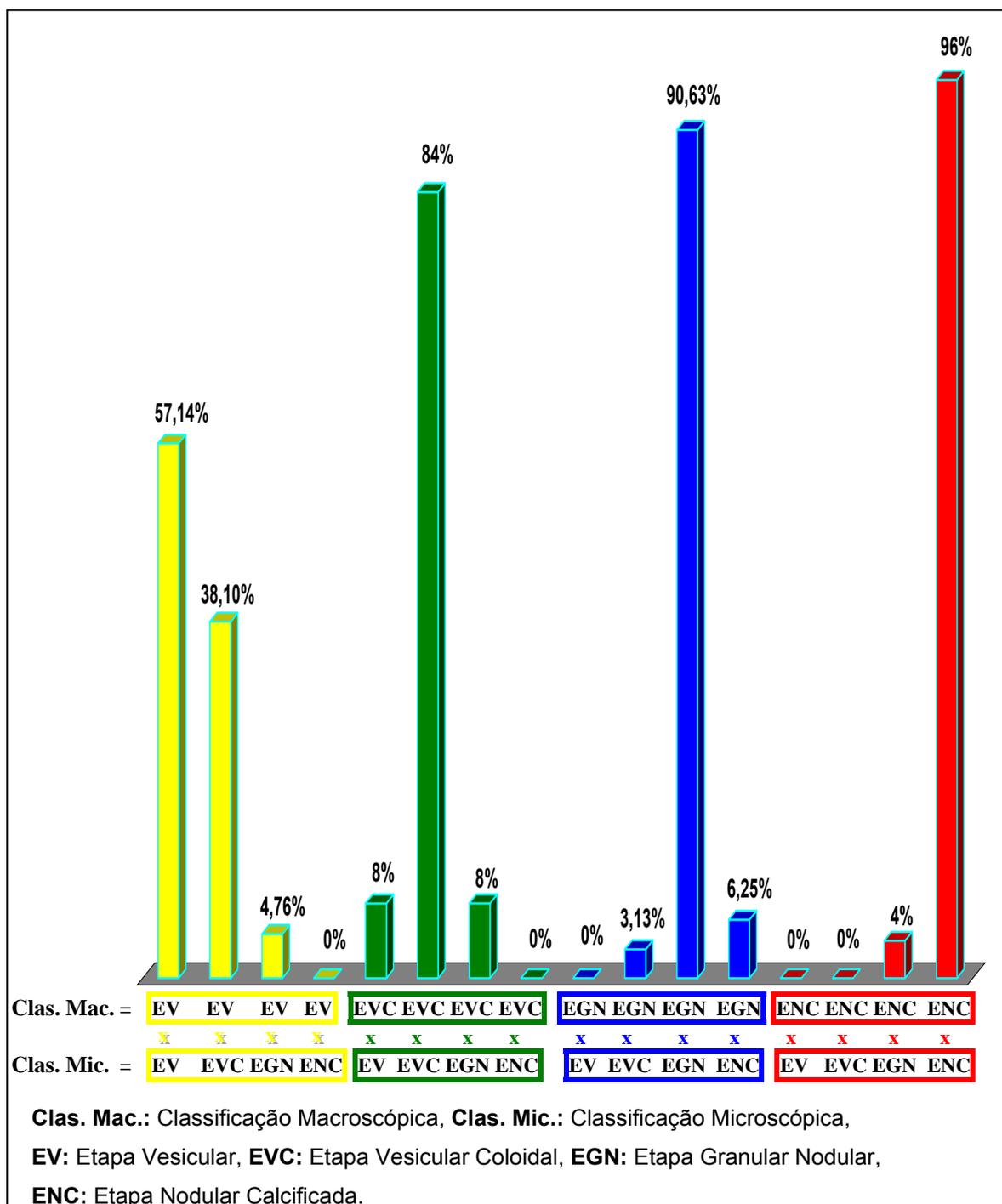
foram denotadas por todos os pesquisadores que observaram as características microscópicas dos cisticercos, seja em tecidos de humanos (PITTELLA, 1997; ESCOBAR-IZQUIERDO, 1988; DEL BRUTTO, 1999), de suínos (ALVAREZ et al., 2002 e LONDOÑO et al., 2002) ou de bovinos (COSTA, 2003). Entretanto, os referidos autores, apesar de relatarem a presença destas alterações patológicas nos cisticercos por eles observados, não lhe quantificaram a intensidade.

LINO JÚNIOR et al. (2002), ao observarem cisticercos encontrados no encéfalo e em corações humanos, registraram de forma semiquantitativa a intensidade destas alterações patológicas em cada uma das etapas do PIP-H (EV, EVC, EGN e ENC). Em relação à necrose e à fibrose, os referidos autores observaram que a presença destas alterações patológicas foi observada com maior intensidade nas etapas EGN e ENC estando, portanto, de acordo com o que também se observou no presente estudo. Entretanto, em relação à calcificação, os referidos autores, relataram que esta alteração patológica estava presente, com intensidade discreta, inclusive nos cisticercos classificados nas etapas EV e EVC, sendo que, no presente estudo a calcificação foi evidenciada somente nos cisticercos classificados nas etapas EGN e ENC.

#### **2.4.4 Correspondência entre a classificação macroscópica e a microscópica**

LINO JÚNIOR et al. (2002), analisaram as características histopatológicas de cisticercos encontrados em encéfalos e corações humanos e demonstraram que é possível confrontar os aspectos macroscópicos aos microscópicos de cisticercos classificados em cada uma das etapas EV, EVC, EGN e ENC, concluindo que existe correspondência classificatória entre cisticercos de uma mesma etapa, tanto na dimensão macro quanto microscópica.

No presente estudo, tendo como referência a maior precisão da observação microscópica foi possível verificar a correspondência relativa da classificação macroscópica dos cisticercos frente à classificação microscópica (FIGURA 18).



**FIGURA 18.** Correspondência relativa entre a classificação dos cisticercos através da análise das características macroscópicas e a classificação através da análise das características microscópicas.

Houve correspondência entre as etapas na distribuição das freqüências calculadas entre a classificação dos cisticercos analisados através da dimensão macroscópica em relação aos classificados através da dimensão microscópica.

Constatou-se que a correspondência classificatória entre os cisticercos classificados nas mesmas etapas do PIP-H-B foi relativamente menor para os cisticercos classificados na EV (57%), com tendência a aumentar, gradativamente, na medida em que se observa a correspondência nos cisticercos classificados nas demais etapas (Figura 18).

Considerando a possibilidade de aplicação da classificação dos cisticercos em quatro etapas do PIP-H-B como uma metodologia a ser utilizada durante o diagnóstico *post-mortem* realizado em bovinos abatidos sob inspeção sanitária, pode-se inferir que a precisão da classificação macroscópica permite prever que todos os cisticercos que foram classificados nas etapas ENC e EGN são, provavelmente, destituídos de viabilidade infecciosa, pois têm as estruturas morfológicas completamente comprometidas, como foi verificado através da observação microscópica, pois que, apesar da degeneração ser um fenômeno reversível, a morte celular e a calcificação não são. Esta inferência não excluiria nem mesmo a pequena porcentagem dos cisticercos que foram classificados na etapa EGN (3,13%), mas que à microscopia revelaram pertencer à etapa EVC, pois de acordo com os resultados obtidos por BIONDI et al. (2000), nenhum dos cisticercos considerados, pelos referidos autores, como de aspecto duvidoso quanto à viabilidade devido a variações na coloração da vesícula cística (que seriam, provavelmente, classificados no estudo atual como pertencentes às etapas EVC e/ou EGN), conseguiram demonstrar sinais de viabilidade quando submetidos ao teste de evaginação. No entanto, o mesmo não se pode afirmar quanto aos cisticercos classificados, macroscopicamente, na etapa EVC, pois 8% deles, quando observados à microscopia, revelaram pertencer à etapa EV, sendo, portanto, provavelmente dotados de viabilidade (Figura 18).

Entretanto, como o teste evaginação e a observação microscópica dos cisticercos não fazem parte da rotina de inspeção do SIF, pois não seriam executáveis na presteza que se faz necessária durante o exame *post-mortem*, estes resultados reforçam a atitude prudente dos médicos veterinários e fiscais sanitários do SIF que consideram como vivos todos os cisticercos nos quais são observados aspectos duvidosos em relação à viabilidade infecciosa dos mesmos. Mesmo porque, a infecção cisticercótica pode ser decorrente de momentos distintos da ingestão de ovos de tênia ou de progressão diferenciada das lesões

após uma única contaminação. De uma forma ou de outra, fariam com que, em partes da carcaça ou em órgãos de um mesmo animal, possam ser encontrados cisticercos em diferentes etapas do PIP-HB (GUSSO et al., 2000; COSTA, 2003; MINOZZO et al., 2002; MINOZZO et al., 2004 e NUNES, 2004).

Os trabalhos constantes na literatura científica, que discorrem sobre as características morfológicas dos cisticercos encontrados em bovinos, limitam-se à descrição das características macroscópicas e raramente as características microscópicas são observadas, e mais raramente ainda, os aspectos macroscópicos e microscópicos são relacionados e agrupados em função da sistematização classificatória dos cisticercos em etapas relativas ao PIP-HB.

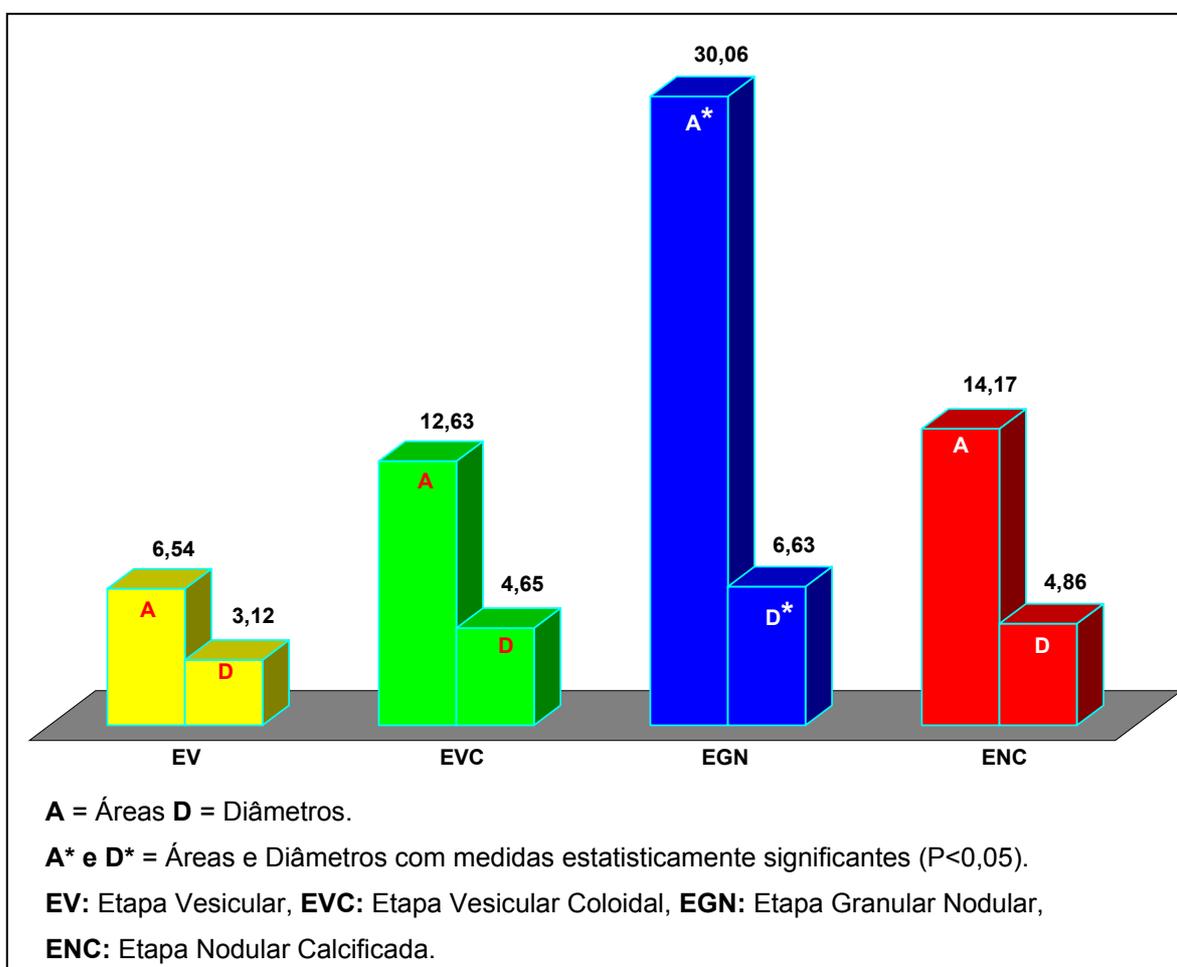
Todavia, COSTA (2003), ao observar macro e microscopicamente as lesões inflamatórias decorrentes da infecção cisticercótica em corações de bovinos, verificou que algumas lesões cisticercóticas haviam sido macroscopicamente, classificadas como “cisticercos íntegros” (classificação, provavelmente, correspondente à etapa EV), mas ao serem observadas à microscopia, revelaram ser “cisticercos degenerados” (classificação, provavelmente, correspondente às etapas EVC ou EGN ou ENC).

Dos cisticercos classificados, macroscopicamente, na etapa EV 38,10% revelaram, à microscopia, como pertencentes às etapas à etapa EVC e 4,76% à etapa EGN (FIGURA 18). Somando estes valores verifica-se que, em um percentual significativo (42,86%) dos cisticercos que foram diagnosticados como “vivos” ou “íntegros”, a viabilidade infecciosa dos mesmos poderia estar comprometida pelas alterações histopatológicas decorrentes do PIP-H, conforme também fora observado por COSTA (2003) e por BIONDI et al. (2000). Ao analisar estes resultados constata-se que, quando observados à macroscopia, a integridade dos metacestódeos e provavelmente a viabilidade infecciosa dos cisticercos não podem ser definidas de forma decisiva.

#### **2.4.5 Morfometria macroscópica dos cisticercos**

Através de registros fotográficos da morfologia macroscópica, 112 cisticercos classificados nas quatro diferentes etapas do PIP-HB, foram mensurados e alcançaram 6,54 mm<sup>2</sup> na mediana da área e 4,66 mm na mediana

do diâmetro. Sendo que, dos 112 cisticercos mensurados, 37 (33%) haviam sido classificados na etapa EV, medindo 6,54 mm<sup>2</sup> na mediana da área e 3,12 mm na mediana do diâmetro; 30 (26,8%) haviam sido classificados na etapa EVC, medindo 12,63 mm<sup>2</sup> na mediana da área e 4,65 mm na mediana do diâmetro; 21 (18,7%) haviam sido classificados na etapa EGN, medindo 30,06 mm<sup>2</sup> na mediana da área e 6,63 mm na mediana do diâmetro e 24 (21,5%) haviam sido classificados na etapa ENC, medindo 14,17 mm<sup>2</sup> na mediana da área e 4,86 mm na mediana do diâmetro. Dentre os cisticercos classificados nas quatro diferentes etapas do PIP-HB, os classificados na etapa EGN foram maiores ( $p < 0,05$ ) do que os classificados nas outras etapas, tanto quando avaliados pela mediana da área, quanto pela mediana do diâmetro (FIGURA 19).



**FIGURA 19.** Medianas da área (A) em mm<sup>2</sup> e do diâmetro (D) em mm de cisticercos classificados à macroscopia nas quatro etapas do PIP-HB.

ESCOBAR-IZQUIERDO (1988), apesar de ter classificado os cisticercos em quatro etapas do PIP-H, não descreve o tamanho dos mesmos para cada uma das etapas classificatórias, mas relatou que o *C. cellulosae* alcançaria nos tecidos de humanos entre 8 a 10 mm de diâmetro.

AGAPEJEV (2003), baseada em extensa revisão da literatura científica nacional, constatou que o tamanho dos cisticercos encontrados na forma vesicular em tecidos encefálicos humanos variava de 2 a 20 mm.

SILVA (2005), sem discriminar as espécies de tênia (se *T. solium* ou *T. saginata*), afirmou que, após quatro meses de infecção, as larvas contidas nos cisticercos poderiam atingir até 12 mm de comprimento.

FREITAS (1980) descreve que, em cerca de dez semanas, a vesícula cisticercótica que contém o *C. cellulosae* teria 10 x 5 mm de dimensão, enquanto a do *C. bovis*, após dez a doze semanas, mediria cerca de 7,5 x 6 mm.

REY (1972), sem referir-se especificamente ao *C. cellulosae* ou ao *C. bovis*, atesta que, após três meses de infecção, o cisticerco poderia atingir 15 mm de comprimento por 7 a 8 mm de largura e que a forma que os cisticercos assumem se alongadas, lenticulares ou esféricas, depende do tecido em que estejam localizados, se no tecido muscular, subcutâneo ou encefálico, respectivamente.

DEL BRUTTO (1999), apesar de utilizar a classificação dos cisticercos em quatro etapas do PIP-H, não discorre sobre as medidas dos mesmos, separadamente, em cada uma das quatro etapas, no entanto, relata que os cisticercos encontrados em encéfalos humanos raramente medem mais de 10 mm de diâmetro, mas que, em alguns casos, dependendo da localização, podem alcançar tamanhos maiores do que 50 mm.

A morfometria do cisticerco tem importância na clínica médica e cirúrgica humana, pois entre outros fatores, relaciona-se ao diagnóstico e a sintomatologia apresentada pelos hospedeiros humanos em função do tamanho dos cisticercos, da distensão e/ou da compressão exercida pelos mesmos nos tecidos infectados, especialmente, nos casos de neurocisticercose (ESCOBEDO, 1988; TAKAYANAGUI & LEITE, 2001; CAIXETA et al., 2004; DIAS et al., 2004; LINO JÚNIOR et al., 2004).

Nos animais, em algumas ocorrências que constam na literatura científica, a infecção cisticercótica não tem ocasionado sintomas perceptíveis ao exame clínico superficial, mesmos nos casos de infecção pluricisticercóticas disseminada por diversos órgãos (SILVA et al., 2004) ou, nem mesmo, quando o encéfalo tenha sido invadido por vários metacestódeos (SANTOS et al., 1978; SILVA, 2005). Entretanto, mesmo na medicina humana, que dispõe de recursos tecnológicos mais avançados, principalmente na área da imagenologia, o diagnóstico clínico da neurocisticercose pode não ser realizado, pois a neurocisticercose é uma doença cujas manifestações clínicas são pleomórficas e geralmente inespecíficas (ESCOBEDO, 1988; TAKAYANAGUI & LEITE, 2001; CAIXETA et al., 2004; DIAS et al., 2004).

Igualmente, a morfometria dos cisticercos encontrados nos animais, sobretudo se for relacionada às diferentes etapas do PIP-H, pode ter relevância para a clínica médica veterinária, assim como tem importância para a inspeção sanitária, para a farmacologia, para a epidemiologia e para a imunologia, pois como foi relatado por PITTELLA (1997), LINO-JÚNIOR (2002) e ALVAREZ et al. (2002), são os cisticercos classificados nas etapas intermediárias da classificação relativa ao PIP-H (EVC e EGN) que sofrem a maior ação da resposta imunológica dos hospedeiros. No presente estudo, estas evidências também puderam ser comprovadas, quando as características microscópicas observadas nos cisticercos classificados na etapa EGN revelaram que o infiltrado inflamatório, composto principalmente por mononucleares e por eosinófilos, havia invadido o conteúdo da vesícula cística, onde os restos do parasito, a região do fluido cístico e o metacestódeo evidenciavam-se alterados pela necrose caseosa ou coagulativa. Estes processos patológicos denotam o ápice da reação inflamatória dentro do PIP-HB e, com efeito, resultam do acúmulo de células e de diversas substâncias que exsudaram, migraram e se concentraram no foco inflamatório, fazendo com que as áreas dimensionais dos cisticercos classificados na etapa EGN aumentassem significativamente ( $p < 0,05$ ) (FIGURA 4).

Em estudos realizados anteriormente, pelo nosso grupo de pesquisa, foram comparadas as medianas da área e do diâmetro de cisticercos provenientes da musculatura cardíaca de hospedeiros humanos e da musculatura esquelética de hospedeiros bovinos, sendo que os cisticercos comparados, tanto

os provenientes de hospedeiros humanos, quanto os de bovinos, haviam sido classificados na etapa EVC. Desta forma, verificou-se que os cisticercos obtidos de humanos, mediam  $33,75 \text{ mm}^2$  na mediana da área e  $7,82 \text{ mm}$  na mediana do diâmetro e foram maiores ( $p < 0,05$ ) que os cisticercos coletados em bovinos, que mediram  $12,63 \text{ mm}^2$  na mediana da área e  $4,65 \text{ mm}$  na mediana do diâmetro. Com este resultado, levantou-se as seguintes hipóteses: que as diferenças morfométricas evidenciadas entre os cisticercos encontrados na musculatura cardíaca de humanos e na musculatura esquelética de bovinos, quando classificados na etapa EVC, podem ser atribuídas às características morfológicas espécies-específicas dos parasitos em questão (*C. cellulosae* e *C. bovis*) e/ou às reações imunológicas específicas de cada um dos hospedeiros envolvidos e/ou em decorrência das diferentes localizações anatômicas dos cisticercos estudados (musculatura cardíaca ou esquelética) (BORGES et al., 2005).

Consubstanciando a hipótese da influência da localização na morfometria dos cisticercos, ALVAREZ et al. (2002), relataram que cisticercos encontrados na musculatura cardíaca de suínos e classificados na 3ª etapa do PIP-H (EGN) mediam de 2,8 a 4 vezes mais que os cisticercos classificados na mesma etapa, porém localizados no encéfalo ou na musculatura esquelética dos suínos.

Entretanto, no presente estudo, como a maioria dos cisticercos encontrados localizava-se no grupo dos músculos responsáveis pela mastigação ou no músculo cardíaco (Figura 2) foi realizada a comparação morfométrica da área e do diâmetro dos cisticercos localizados nas referidas e distintas regiões. Sendo que, dos 107 cisticercos mensurados, 61 (57,01%) estavam localizados nos músculos da mastigação, medindo  $15,00 \text{ mm}^2$  na mediana da área e  $5,05 \text{ mm}$  na mediana do diâmetro; 46 (42,99%) estavam localizados no coração, medindo  $10,60 \text{ mm}^2$  na mediana da área e  $4,22 \text{ mm}$  na mediana do diâmetro. Apesar das medianas da área e do diâmetro dos cisticercos localizados nos músculos responsáveis pela mastigação atingirem valores maiores do que os obtidos com a mensuração das mesmas medidas dos cisticercos localizados no coração das carcaças, a diferença nos valores não alcançou significação estatística ( $p > 0,05$ ).

## 2.5 CONCLUSÕES

1 - As características macroscópicas e microscópicas dos cisticercos podem ser interrelacionadas e agrupadas em função da sistematização classificatória da cisticercose bovina em quatro etapas relativas ao processo de interação parasito-hospedeiro definidas como: Etapa Vesicular (EV), Etapa Vesicular Coloidal (EVC), Etapa Granular Nodular (EGN) e Etapa Nodular Calcificada (ENC).

2 - Existe correspondência relativa entre a classificação macroscópica e classificação microscópica dos cisticercos, sendo que a correspondência cresce gradativamente a partir dos cisticercos classificados na etapa EV, para os cisticercos classificados na etapa EVC e EGN, até atingir a máxima correspondência para os cisticercos classificados na etapa ENC.

3 - Quando avaliados pela mediana da área e pela mediana do diâmetro, os cisticercos classificados na etapa EGN são maiores do que os cisticercos classificados nas etapas EV, EVC e ENC.

4 - A intensidade da inflamação crônica e da fibrose é maior nos cisticercos classificados nas etapas EGN e ENC.

5 - A intensidade da necrose, da calcificação e da presença de eosinófilos é maior nos cisticercos classificados na etapa ENC.

## 2.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGAPEJEV, S. Aspectos clínico-epidemiológicos da neurocisticercose no Brasil. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 61, n. 3-B, p. 822-828, 2003.
2. ALMEIDA, L. P.; MOREIRA, M. D.; REIS, D. O.; SANTOS, W. L. M. Cisticercose bovina: um estudo comparativo entre animais abatidos em frigoríficos com serviço de inspeção federal e com inspeção municipal. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 99, p. 51-55, 2002.
3. ALMEIDA, L. P.; REIS, D. O.; MOREIRA, M. D.; PALMEIRA, S. B. S. Cisticercose em bovinos procedentes de Minas Gerais e abatidos em frigoríficos de Uberlândia-MG, no período de 1997 a 2001. **Higiene Alimentar**, v. 20, n. 139, p. 40-43, 2006.
4. ALVAREZ, J. I.; LONDOÑO, D. P.; ALVAREZ, A. L.; TRUJILLO, J.; JARAMILLO, M. M.; RESTREPO, B. I. Granuloma formation and parasite disintegration in porcine cysticercosis: comparison with human neurocysticercosis. **Journal of Comparative Pathology**, v. 127, n. 2-3, p. 186-193, 2002.
5. ANUALPEC – ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA, Editora Argos Comunicações. São Paulo. 447 p., 2006.
6. BACIGALUPO, J; BACIGALUPO, A. D. La *Taenia saginata* puede producir *Cysticercus bovis* en el hombre? **La Prensa Médica Argentina**, Buenos Aires. v. 43, p. 1052-1054, 1956.
7. BARBOSA, F. C.; CABRAL, D. D., SOPELETE; M. C., CALDERON, A. E.; MENDES, A. S.; JUNIOR, I. K.; MACHADO, R. J. S. Eficácia do Sulfóxido de albendazole na Cisticercose Bovina. **A Hora Veterinária**, v. 22, n. 132, p.19-20, mar/abr 2003.
8. BIONDI, G. F.; HENRIQUE, C. H.; OLIVEIRA, A. C.; CASTRO, A. P. Avaliação da eficiência da prova de evaginação em metacestódeos de *Taenia saginata*. **Revista de Educação Continuada - CRMV-SP**, São Paulo, v. 3, p. 49-54, 2000.
9. BOGLIOLO, L.; PEREIRA, F. E. L. Inflamações. In: LOPES, E. R; CHAPADEIRO, E; RASO, P.; TAFURI, W. L. **Bogliolo patologia**. 4.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. Cap. 6, p.67-112.
10. BORGES, E. B.; JARDIM, E. A. G. V.; GENTIL, J. R. S.; MOURA, V. B. L.; LINO JÚNIOR, R. S.; LINHARES, G. F. C. Morfometria do cisticerco de *Taenia solium* e *Taenia saginata*. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, 19., 2005, Goiânia. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia: IPTSP/UFG, v.34, suplemento especial, 2005. [resumos].

11. BRASIL Leis, decretos, etc. Ministério da Agricultura. **Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**, aprovado pelo Decreto nº. 30.691, de 29.3.52, alterado pelo Decreto nº. 1.255, de 25.6.62. Brasília, 1997. 241 p.
12. BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento - MAPA. Delegacia Federal de Agricultura em Goiás. Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Setor de Análises e Informes - **Informes Nosográficos**, período de 01/01/93 a 31/12/03. Goiânia, 2006.
13. CARPIO, A. Neurocysticercosis: an update. **Lancet Infectious Diseases**, v. 2, p. 751-762, 2002.
14. CAIXETA, L.; CAIXETA, M.; ALMEIDA NETO, J. C. Neurocisticercose: forma psíquica e demência. **Revista de Patologia Tropical**, v. 33, n. 1, p. 33-44, 2004.
15. CDC. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Recommendations of the International Task Force for Disease Eradication MMWR 42(RR16); 1-25. In: CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. - Department of Health and Human Services, United States Government, 2003. Disponível em: <http://wonder.cdc.gov/wonder/prevguid/m0025967/m0025967.asp>. Acesso em: 15 out. 2006.
16. CÔRTEZ, J. A. Complexo teníase humana – Cisticercose bovina e suína I – Teníase humana. **Revista de Educação Continuada – CRMV-SP**, São Paulo, v. 3, p. 55-61, 2000a.
17. CÔRTEZ, J. A. Complexo teníase humana – Cisticercose bovina e suína II – Cisticercose bovina e suína. **Revista de Educação Continuada – CRMV-SP**, São Paulo, v. 3, p. 61-71, 2000b.
18. COSTA, R. F. R. **Pesquisa de cisticercose e caracterização das reações inflamatórias em corações de bovinos comercializados na cidade de Nova Friburgo/RJ, inspecionados pelas técnicas de Santos (1976) e do fatiamento**. 2003. 63 f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) – Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro.
19. DEL BRUTTO, O. H. Neurocysticercosis. **Revista de Neurología**, v. 29, n. 5, p. 456-466, 1999.
20. DIAS, J. R.; SORDI, C. C.; LINO JÚNIOR, R. S.; VINAUD, M. C.; LOPES, G. P.; SILVEIRA FILHO, L. G.; REIS, M. A.; TEIXEIRA V. P. A. Efetividade do raio x simples no diagnóstico pós-morte da cisticercose humana. **Revista de Patologia Tropical**, v. 33, n. 1, p.113-118, 2004.

21. ESCOBAR-IZQUIERDO, A. La patología de la neurocisticercosis. **Gaceta Medica de México**, v. 124, n. 5-6, p. 202-206, 1988.
22. ESCOBEDO, F. Tratamiento medico y quirúrgico de la cisticercosis. **Gaceta Medica de México**, v. 124, n. 5-6, p. 206-208, 1988.
23. FERNANDES, J. O. M. & BUZETTI, W. A. S. Prevalência de cisticercose em animais abatidos em frigoríficos sob inspeção federal, da 9<sup>a</sup> região administrativa de Araçatuba, SP. **Higiene Alimentar**, v. 15, n. 87, p. 30-37, 2001.
24. FLISSER, A. Relación huésped-parásito en la cisticercosis humana y porcina. **Gaceta Medica de México**, v. 123, n. 7-8, p. 157-164, 1987.
25. FLISSER, A.; GONZALEZ, D.; SHKUROVICH, M.; MADRAZO, I.; CORREA, D.; RODRIGUEZ-CARBAJAL, J.; COHEN, S.; RODRIGUEZ-del-ROSAL, E.; COLLADO, M.; FERNANDEZ, B.; FERNANDEZ, F.; ALUJA, A. S. Praziquantel treatment of porcine brain and muscle *Taenia solium* cysticercosis. **Parasitology Research**, v. 76, n. 3, p. 263-269, 1990.
26. FUKUDA, R. T.; SANTOS, I. F.; ANDRADE, C. R. Estudo comparativo entre técnicas de inspeção do diafragma para o diagnóstico da cisticercose bovina. **Higiene Alimentar**, v.12, n.55, p.51-62, 1998.
27. FREITAS, M. G. **Helmintologia veterinária**. 4ed. Belo Horizonte: Editora Gráfica Rabelo LTDA. 1980. 396 p.
28. FUNDEPEC – FUNDO DE DESENVOLVIMENTO DA PECUÁRIA DO ESTADO DE SÃO PAULO. MA/Fundepec fazem parceria para controlar doenças detectadas no abate. **Fundepec**, São Paulo, n. 10, p.16-19, 2000.
29. GARCIA-DOMINGUEZ, C.; CORREA, D.; RABIELA, M. T.; FLISSER, A. Praziquantel treatment of muscle *Taenia solium* cysticercosis. **Parasitology Research**, v. 77, n. 8, p. 691-696, 1991.
30. GONZALEZ, A. E.; GARCIA, H. H.; GILMAN, R. H.; LOPEZ, M. T.; GRAVIDIA, C., McDONALD, J.; PILCHER, J. B.; TSANG, V. C. W. Treatment of porcine cysticercosis with albendazole. **The American Society of Tropical Medicine e Higiene**, v. 53, n. 5, p. 571-574, 1995.
31. GUSSO, R. L. F., MINOZZO, J. C., THOMAZ-SOCCOL, V., CAMARGO, N. J., LOPES, C. M. Experimental infection of cattle with eggs of *Taenia solium*. **Archives of Veterinary Science**, v.5, p.23-27, 2000.
32. LINO JÚNIOR, R. S.; RIBEIRO, P. M.; ANTONELLI, E. J.; FALEIROS, A. C. G.; TERRA, S. A.; REIS, M. A.; TEIXEIRA, V. P. Características evolutivas do *Cysticercus Cellulosae* no encéfalo e no coração humanos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, n. 6, p. 617-622, 2002.

33. LINO JÚNIOR, R. S.; VINAUD, M. C.; SUGITA, J. S.; ALVES, L. D.; REIS, M. A.; TEIXEIRA, V. P. A. Análise morfométrica da cisticercose encefálica e cardíaca em indivíduos autopsiados. **Revista de Patologia Tropical**, v. 33, n. 3, p. 313-318, 2004.
34. LONDOÑO, D. P.; ALVAREZ, J. I.; TRUJILLO, J.; JARAMILLO, M. M.; RESTREPO, B. I. The inflammatory cell infiltrates in porcine cysticercosis: immunohistochemical analysis during various stages of infection. **Veterinary Parasitology**, v. 109, n.3-4, p. 249-259, 2002.
35. LOOYD S., SOULSBY J.S., THEODORIDES J.V. Effect of Albendazole on the metacestodeos of *Taenia saginata* in calves. **Experientia**, Brasil, v. 34, n. 6, p. 723-724, 1978.
36. LUNA, L.G. **Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 3 ed., New York: McGraw-Hill Book Company, 1968, 258p.
37. MANHOSO, F. F. R. Prevalência de cisticercose bovina em animais abatidos no município de Tupã, SP. (1992-1993). **Higiene Alimentar**, v.10, n.45, p.44-47, 1996.
38. MICHALIK, M. S. M. O ensino da parasitologia na graduação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, 14., 1994, Goiânia. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia: OMS/OPAS/FNS/FINEP/CNPq/FBB/UFG/SIT-GO/MSD-AGVET, v.1, suplemento, p. 372, 1995. [resumos].
39. MINOZZO, J. C.; GUSSO, R. L. F.; CASTRO, E. A.; LAGO, O.; SOCCOL, V. T. Experimental bovine infection with *Taenia saginata* eggs: recovery rates and cysticerci location. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n. 4, p. 451-455, 2002.
40. MINOZZO, J. C.; SOCCOL, V. T.; OLORTEGUÍ, C. C.; SOARES, V. E.; COSTA, A. J. Teste imunoenzimático (enzyme-linked immunosorbent assay) para diagnóstico da cisticercose bovina e estudo da cinética de produção de anticorpos contra-*Cysticercus bovis*. **Ciência Rural**, v. 34, n. 3, p. 857-864, 2004.
41. MOREIRA, M. D.; REIS, D. O.; ALMEIDA, L. A. A cisticercose bovina em matadouros de Uberlândia. **Higiene Alimentar**, v. 15, n. 85, p. 16-19, 2001.
42. MOREIRA, M. D.; ALMEIDA, L. P.; REIS, D. O.; SANTOS, W. L. M. Cisticercose bovina: um estudo com bovinos abatidos em matadouro municipal de Uberlândia. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 100, p. 37-41, 2002.
43. NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 7 ed. São Paulo: Livraria Atheneu, 1990. 462p.

44. NUNES, J. L. N. **Infecção experimental de bovinos com ovos de *Taenia saginata*: distribuição corpórea de *Cysticercus bovis* e alternativas de tratamento**. 2004. 54 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
45. PEREIRA, F. E. L. Princípios básicos da relação hospedeiro-parasita. *In*: LOPES, E. R.; CHAPADEIRO, E.; RASO, P.; TAFURI, W. L. **Bogliolo patologia**. 4.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. Cap. 8, p.113-129.
46. PESSOA, S. B.; MARTINS, A. V. **Parasitologia Médica**. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 872p.
47. PITTELLA, J. E. H. Neurocysticercosis. **Brain Pathology**, v. 7, n. 1, p. 681-693, 1997.
48. REZENDE, R. B. C.; FERNANDEZ, A. T.; COSTA, F.; SILVA, T. J. P. Ocorrência de cisticercose em bovinos abatidos clandestinamente no município de Silva Jardim, RJ. **Higiene Alimentar**, v.21, n. 110, p. 103-109, 2006.
49. SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221 p.
50. SANTOS, I. F. Diagnóstico da cisticercose bovina em matadouro. I – Exame do esôfago. **Arquivo Fluminense de Medicina Veterinária**, v.2, n.4, p.97-104, 1987.
51. SANTOS, I. F.; FUKUDA, R. T.; OLIVEIRA, S. J. Cisticercose cerebral bovina detectada na inspeção em matadouros. **Científica**, v.6, n.1, p.143-145, 1978.
52. SILVA, A. C.; SILVEIRA, L. S.; SANTOS, A. S. O.; LEMOS, L. S.; MATOS, W. R.; MOREIRA, L.; CARVALHO, E. C. Q. Cisticercose (*Cysticercus cellulosae*) canina generalizada. **Ciência Animal Brasileira**, v. 5, n. 4, p. 195-198, 2004.
53. SILVA, A. V. M. Teníase e Cisticercose. *In*: NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 8.ed. São Paulo: Livraria Atheneu, 2005. 462p.
54. TAKAYANAGUI, O. M.; LEITE, J. P. Neurocisticercose. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 3, p. 283-290, 2001.
55. UNGAR M. L.; GERMANO, P. M. L. Prevalência da cisticercose bovina no Estado de São Paulo. **Rev. Saúde Pública**, v. 26, n. 3, p. 167-172, 1992.
56. VIEIRA, M. I. B. Atividade do Sulfóxido de Albendazole em Cisticercose Bovina. **Centro de Ciências Rurais**, da Universidade da Região de Campanha do RS. Formulário n.210, 1999.

57. WALTHER, M. & KOSKE, J. K. *Taenia saginata* cysticercosis: a comparison of routine meat inspection and carcass dissection results in calves. **The Veterinary Record**, v. 106, n. 18-20, p. 401-402, 1980.
58. WHITE, A. C. Jr.; ROBINSON, P.; KUHN, R. *Taenia solium* cysticercosis: host-parasite interactions and the immune response. **Chemical Immunology**, v. 66, p. 209-230, 1997.
59. WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Control of neurocysticercosis. Fifty-Fifth World Health Assembly A55/23 Provisional agenda item 13.18 5. In: ORGANIZATION THE UNITED NATIONS, 2002. Disponível em: [www.who.int/gb/ebwha/pdf\\_files/WHA55/ea5523.pdf](http://www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA55/ea5523.pdf). Acesso em: 15 out. 2006.

## CAPÍTULO – 3 - IDENTIFICAÇÃO POR PCR DE CISTICERCOS DE BOVINOS ABATIDOS EM MATADOURO FRIGORÍFICO.

### RESUMO

A cisticercose bovina é considerada como o principal elo epidemiológico da teníase humana provocada pela *Taenia saginata* e ocasiona grande prejuízo em toda a cadeia produtiva da carne bovina. Dentro deste contexto, destaca-se a necessidade de ampliar o conhecimento científico sobre o processo de interação parasito-hospedeiro bovino. Objetivou-se com o presente trabalho, verificar a identidade molecular espécie-específica da *Taenia saginata* através da reação em cadeia da polimerase (PCR) aplicada às amostras de DNA extraídos de cisticercos isolados de bovinos e analisar os resultados obtidos em função da classificação das lesões cisticercóticas em diferentes etapas do processo de interação parasito-hospedeiro. Concluiu-se que, a PCR pode ser aplicada às amostras de DNA extraídos de cisticercos classificados em etapas relativas ao processo de interação parasito-hospedeiro bovino; que a positividade nos resultados de PCR foi maior ( $p < 0,05$ ) nas amostras de DNA dos cisticercos classificados na etapa vesicular (EV) e etapa vesicular coloidal (EVC) em relação à positividade nos resultados de PCR das amostras de DNA dos cisticercos classificados na etapa granular nodular (EGN) e etapa nodular calcificada (ENC) e que a negatividade nos resultados de PCR foi maior ( $p < 0,05$ ) nas amostras de DNA dos cisticercos localizados nos corações e classificados na EGN em relação à negatividade nos resultados de PCR das amostras dos cisticercos localizados nos músculos mastigatórios e classificados na mesma etapa classificatória.

**Palavras-chave:** Cisticercose bovina, *Cysticercus bovis*, *Taenia saginata*, *Cysticercus cellulosae*, *Taenia solium*, Inspeção de carne.

## CHAPTER – 3 – PCR IDENTIFICATION OF CISTICERCIS OF BOVINES SLAUGHTERED IN OFFICIAL ABATTOIRS.

### ABSTRACT

Bovine cysticercosis is considered as a burden in the meat production chain. In this context, it is actually evident the need of increasing scientific knowledge on the host-parasite relationship. The objective of this study was to verify the species-specific molecular identity of bovine cysticerci by the polymerase chain reaction (PCR) comparing the results among lesions of four different degrees as determined on the basis of the development stage of the host-parasite interaction. The cysticerci were collected during the *post mortem* inspection of bovine slaughtered under official inspection service in the State of Goiás. They were, then, classified in four distinct stages of the host-parasite interaction. The PCR was applied using species-specific primers for the amplification of fragments of the gene LSU rRNA of *Cysticercus bovis* and *Cysticercus cellulosae*. The results revealed that, the PCR can be applied in the species-specific identification of cysticerci classified in different stages of the host-parasite interaction and that the positive reactions are significantly more frequent ( $p < 0,05$ ) among the cysticerci classified as Vesicular Stage (EV) and Colloidal Vesicular Stage (EVC) type in comparison as Granular Nodular Stage (EGN) and the negative PCR results are significantly more frequent ( $p < 0,05$ ) among for the cysticerci located in hearts classified under EGN type as compared with the cysticerci obtained from the mastigatory muscles and classified in this same stage.

**Key words:** Cysticercosis, *Cysticercus bovis*, *Taenia saginata*, *Cysticercus cellulosae*, *Taenia solium*, Polymerase.

### 3.1 INTRODUÇÃO

As primeiras técnicas utilizadas no diagnóstico parasitológico fundamentaram-se nas características morfológicas, macro e microscópicas, das espécies de parasitos. No diagnóstico da cisticercose animal, o método mais empregado é fundamentado na avaliação das características macroscópicas dos metacestódeos. Fatores epidemiológicos são determinantes para a casuística em cada região considerada, entre estes, as características das populações das espécies que potencialmente possam atuar como hospedeiros intermediários para cada espécie de tênia considerada (OIE, 2004). Assim, os bovinos foram considerados os hospedeiros intermediários “habituais” ou “preferenciais” da forma larvar de *Taenia saginata* (*Cysticercus bovis*) e os suínos da forma larvar de *Taenia solium* (*Cysticercus cellulosae*).

No entanto, a identidade espécie-específica microscópica dos metacestódeos depende, fundamentalmente, da preservação de suas características morfológicas elementares, ao passo que, a “preferência” das larvas, em relação aos hospedeiros intermediários, não deve ser admitida de forma exclusiva, pois há que se considerar a possibilidade epidemiológica dos animais domésticos serem infectados por formas larvares do tipo cisticercos, provenientes de outros taeniódeos, que não aqueles mais freqüentemente encontrados em seus tecidos (FREITAS, 1980; PESSOA & MARTINS, 1982; NEVES, 1990; REY, 1991, SANTOS, 1996). Esta possibilidade tem sido comprovada tanto por infecções naturalmente adquiridas por diversas outras espécies de mamíferos não “habituais” (PESSOA & MARTINS, 1982; NEVES, 1990; REY, 1991; SILVA, 2004; SILVA, 2005) quanto por infecções experimentais (BLAZEK et al., 1986; FAN et al, 1992; CHUNG et al., 1996), sendo que, em bovinos, a infecção provocada por *C. cellulosae* foi demonstrada experimentalmente (GUSSO et al., 2000).

A microscopia de óptica (de luz comum) permanece como método de eleição para o diagnóstico de parasitos por ser simples, rápida e não envolver a compra e manutenção de equipamentos e reagentes de custos elevados. No entanto, vários problemas estão associados à microscopia enquanto uma ferramenta de diagnóstico parasitológico seja porque a morfologia do parasito foi

alterada em função do processo de interação parasito-hospedeiro ou porque o parasito tem morfologia semelhante ao de outra espécie ou porque, devido a problemas de conservação, as amostras são difíceis de corar e identificar (SINGH, 1997; GOTTSTEIN et al., 1991; MAYTA et al., 2000; COSTA, 2003, MONTERO et al., 2003). Segundo LOGT & GOTTSTEIN (2000) o padrão de excelência no diagnóstico específico da cisticercose bovina precisa ser reavaliado, pois o exame histológico pode conduzir a diagnósticos incorretos.

No Brasil, o diagnóstico *post mortem* da cisticercose em animais abatidos nos frigoríficos cadastrados pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF) é de responsabilidade do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (MAPA) e regido pelo artigo 176 do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RISPOA) (BRASIL, 1997). Para a realização do diagnóstico anátomo-patológico da cisticercose bovina, os veterinários fiscais sanitários, durante o exame *post-mortem*, examinam os animais e avaliam as características morfológicas macroscópicas dos cisticercos encontrados, classificando-os como “vivos” ou como “calcificados” (BRASIL, 1997; BIONDI et al., 2000).

Evidentemente, antes que os cisticercos estejam completamente calcificados, eles invariavelmente passaram por etapas intermediárias do processo de interação parasito-hospedeiro. Estas etapas, de acordo com características anátomo-patológicas próprias, podem ser distinguidas por análise macroscópica e/ou pela microscópica, em quatro diferentes etapas: Etapa Vesicular (EV), Etapa Vesicular Coloidal (EVC), Etapa Granular Nodular (EGN) e Etapa Nodular Calcificada (ENC), conforme fora previamente estabelecido para cisticercos encontrados em humanos por ESCOBAR-IZQUIERDO (1988), DEL BRUTTO (1999), LINO JÚNIOR et al. (2002) e em suínos por ALVAREZ et al. (2002) e LONDOÑO et al. (2002).

Os descobrimentos de novos conhecimentos na área de biologia molecular ocorridos nas últimas décadas, como as descobertas sobre o processo de renaturação do ácido desoxirribonucléico (DNA), permitiram o desenvolvimento de métodos baseados na hibridização. Entre eles, a reação em cadeia da polimerase (PCR) tem aplicação direta no diagnóstico de doenças infecciosas e parasitárias (SINGH 1997).

A rapidez e a simplicidade de execução são as grandes vantagens da técnica de PCR sobre outros métodos convencionais. A técnica é ainda extremamente precisa e sensível podendo detectar uma simples molécula de DNA, quando presente na amostra (ALBERTS et al., 1997).

A técnica de PCR tem sido um dos métodos de diagnóstico empregados na identificação da teníase e da cisticercose, pois prescinde da manutenção da integridade das estruturas morfológicas para identificação e diferenciação das espécies de parasitos envolvidos no complexo teníase-cisticercose (GOTTSTEIN & MOWATT, 1991; GOTTSTEIN et al., 1991; BOWLES & McMANUS, 1994; THEIS et al., 1996; MERI et al., 1999; GONZÁLEZ et al., 2000; LOGT & GOTTSTEIN, 2000; MAYTA et al., 2000; GONZÁLEZ et al., 2002; MONTERO et al., 2003; NUNES et al., 2003; GONZÁLEZ et al., 2004; YAMASAKI et al., 2004; HARRISON et al., 2005; NUNES et al., 2005; JARDIM et al., 2006; JEON & EOM, 2006; MAcMANUS, 2006; SOMERS et al., 2006).

A Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) recomenda o emprego da PCR para a diferenciação das espécies de tênias, e considerando a possibilidade da descoberta de novas espécies em hospedeiros não habituais, sugere que a técnica seja também aplicada para identificação espécie-específica de metacestódeos (OIE, 2004).

No Brasil, a despeito da importância da cisticercose bovina em saúde pública, como elo epidemiológico da teníase humana provocada pela *T. saginata*, do prejuízo ocasionado em toda a cadeia produtiva da carne bovina (FUKUDA, 2003) e do alerta epidemiológico suscitado a partir das controvérsias e da falta de unanimidade no meio científico especializado, quanto ao *C. cellulosae* ser o único causador da cisticercose humana (FREITAS, 1980; PESSOA, 1982; REY, 1991; NEVES, 1990; SANTOS, 1996), como também, quanto ao suíno continuar representando, na atualidade, o papel de principal hospedeiro intermediário da teníase humana provocada pela *T. solium* (SANTOS, 1996; GUSSO et al., 2000) e da possibilidade epidemiológica dos bovinos intermediarem a transmissão do *C. cellulosae* aos humanos (GUSSO et al., 2000), nenhum teste de diagnóstico laboratorial faz parte da rotina de inspeção sanitária, nem mesmo como forma de monitorar a precisão e a especificidade dos diagnósticos anatomopatológicos macroscópicos realizados (BRASIL, 1997; BIONDI et al., 2000; COSTA, 2003).

## **3.2 OBJETIVOS**

Objetivou-se com o presente estudo, verificar a identidade molecular espécie-específica do *C. bovis* e do *C. cellulosae* através da técnica de PCR aplicada às amostras de DNA extraído de cisticercos coletados em bovinos e analisar os resultados obtidos em função da classificação das lesões cisticercóticas em diferentes etapas do processo de interação parasito-hospedeiro.

## **3.3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.3.1 Local de coleta e das análises laboratoriais**

Os cisticercos utilizados neste estudo foram coletados durante o exame de inspeção *post-mortem* executado pelo SIF em 172 bovinos adultos, provenientes de 55 municípios do Estado de Goiás, abatidos em matadouro frigorífico sob Inspeção Federal (SIF), localizado no município de Senador Canedo.

As análises das características macroscópicas foram inicialmente, realizadas no Departamento de Inspeção Final (DIF) localizado no próprio frigorífico e, em seguida, concluídas no Laboratório de Patologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da Universidade Federal de Goiás (UFG). As análises das características microscópicas foram realizadas no Laboratório de Patologia do IPTSP, e no Laboratório de Patologia da Escola de Veterinária, ambos pertencentes à UFG.

As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular do Centro de Pesquisa em Alimentos (CPA) e parte no Laboratório de Diagnóstico de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Preventiva, ambos pertencentes à Escola de Veterinária da UFG.

### **3.3.2 Critérios utilizados para a classificação anátomo-patológica**

Os cisticercos coletados foram classificados em quatro etapas relativas ao processo de interação parasito-hospedeiro bovino: Etapa Vesicular (EV), Etapa Vesicular Coloidal (EVC), Etapa Granular Nodular (EGN) e Etapa Nodular

Calcificada (ENC), tendo como base os critérios anátomo-patológicos pré-estabelecidos na literatura científica por ESCOBAR-IZQUIERDO (1988), DEL BRUTTO (1999) e LINO JÚNIOR et al. (2002) para a classificação dos cisticercos encontrados em humanos e por ALVAREZ et al. (2002) e LONDOÑO et al. (2002) para a classificação de cisticercos encontrados em suínos.

A classificação inicial dos cisticercos nas diferentes etapas foi realizada no frigorífico. Em seguida, os cisticercos foram transportados ao laboratório de patologia para uma segunda e definitiva avaliação macroscópica com o objetivo de aperfeiçoar a acurácia classificatória.

Para denominar o conjunto das etapas classificatórias, optou-se por empregar a expressão: Etapas do Processo de Interação Parasito-Hospedeiro Bovino, que por motivo de ordem prática, foi abreviada para: etapas do PIP-HB ou, simplesmente, etapas do PIP-H, quando se fez referência ao processo de interação entre os parasitos que provocam cisticercose em vários outros hospedeiros, inclusive nos bovinos.

### **3.3.3 Classificação macroscópica dos cisticercos**

Foram classificados 43 cisticercos para cada uma das quatro etapas classificatórias relativas ao PIP-HB (43 cisticercos na EV, 43 na EVC, 43 na EGN e 43 na ENC), totalizando ao final 172 cisticercos.

Os cisticercos foram classificados na etapa EV quando se observava a presença de membrana vesicular transparente contendo líquido translúcido, e o metacéstódeo de coloração esbranquiçada, invaginado em seu interior, com a integridade, aparentemente, ílesa.

Os cisticercos foram classificados na etapa EVC quando se verificava a presença de membrana vesicular mais espessa contendo líquido turvo ou fracamente gelatinoso e o metacéstódeo, devido à coloração alterada, aparentava estar com a integridade comprometida.

Os cisticercos foram classificados na etapa EGN quando a vesícula cisticercótica continha substância de aspecto caseoso e o metacéstódeo não foi mais integralmente evidenciado e/ou havia sido transformado em um pequeno grânulo no centro da lesão.

Os cisticercos foram classificados na etapa ENC quando a lesão cisticercótica consistia em um nódulo compacto, quando, ao tato ou ao corte, percebia-se no seu conteúdo a presença de fragmentos disformes ou nódulo de textura mineralizada e quando nenhum vestígio dos constituintes do metacestódeo podia mais ser visualizado.

### **3.3.4 Classificação microscópica dos cisticercos**

Após a classificação macroscópica e o processamento do material, os cisticercos foram observados à microscopia e em função da qualidade histológica obtida, foram selecionadas lâminas de microscopia correspondentes a 86 cisticercos. Desta forma, e de acordo com a análise das características microscópicas, 12 (13,95%) cisticercos foram classificados na etapa EV; 21 (24,42%) na etapa EVC; 29 (33,72%) na EGN e 24 (27,91%) na ENC.

Os cisticercos foram classificados na etapa EV quando se observou que as áreas de tegumento do parasito estavam histologicamente intactas, admitindo-se a presença de infiltrado inflamatório nos tecidos do hospedeiro, circunvizinhos à lesão cisticercótica.

Os cisticercos foram classificados na etapa EVC quando se evidenciava alterações no tegumento, a presença de células componentes do infiltrado inflamatório (linfócitos, neutrófilos, monócitos, além de fibroblastos e fibras colágenas) no interior da vesícula cística e o metacestódeo com sinais de degeneração hialina.

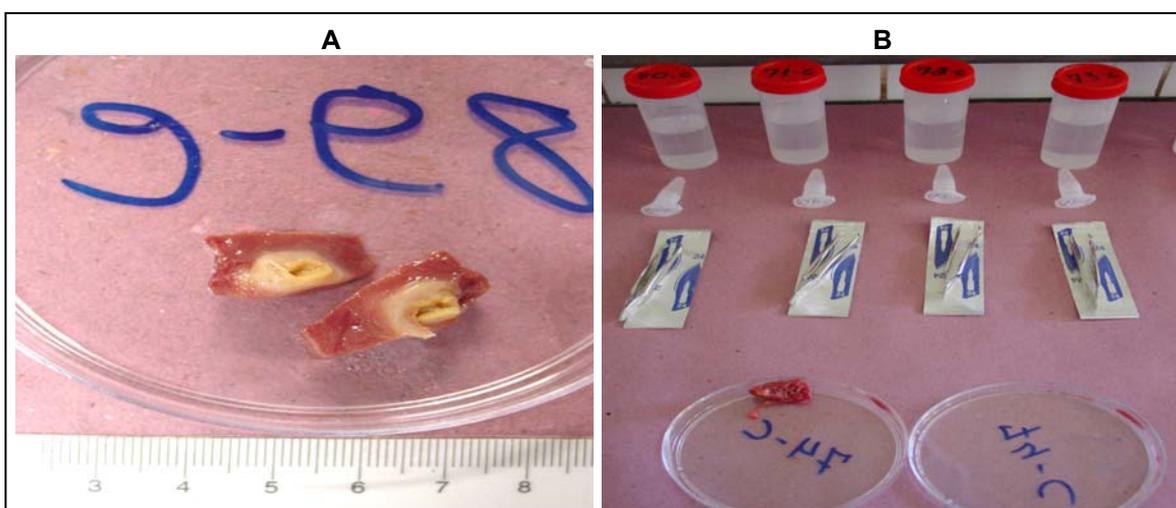
Os cisticercos foram classificados na etapa EGN quando se verificou que a vesícula cística havia sido totalmente invadida pelo infiltrado inflamatório e o metacestódeo havia sido atingido pela ação dos leucócitos, evidenciando-se somente restos estruturais do parasito.

Os cisticercos foram classificados na etapa ENC quando não foi possível observar as estruturas da vesícula cística e do metacestódeo, que haviam sido transformadas em um nódulo sólido, mineralizado, rodeado totalmente por tecido conjuntivo denso não modelado.

### 3.3.5 Critérios adotados durante a coleta e análises das amostras

Durante os procedimentos de coleta e análises realizadas no ambiente do frigorífico, de modo a evitar a degradação dos ácidos nucleicos e/ou “contaminações com DNA” entre amostras, foram utilizados: luvas de látex, lâminas de bisturi, placas de petri e tubos de ensaio, todos esterilizados e descartáveis. Durante a coleta e após cada procedimento, os recipientes contendo as amostras foram identificados de acordo com numeração ordenada e a abreviação correspondente à denominação das etapas classificatórias (EV, EVC, EGN e ENC). Cada recipiente foi envolvido e isolado por sacos plásticos e mantidos sob refrigeração em caixas isotérmicas contendo gelo.

No laboratório de patologia, após a redefinição classificatória macroscópica em etapas relativas ao PIP-HB e o registro fotográfico, cada um dos cisticercos foi dividido ao meio, sendo que, uma das metades foi depositada em recipiente contendo solução de formaldeído a 10%, para que, posteriormente, fosse processada e corada visando à análise microscópica (FIGURA 1). Enquanto que, da outra metade foi retirado o conteúdo da lesão cisticercótica, o qual foi depositado em tubos do tipo Eppendorf de 1,5ml e mantidos sob refrigeração em caixas isotérmicas contendo gelo para o imediato transporte ao laboratório de biologia molecular. No laboratório, as amostras dos cisticercos foram acondicionadas em *freezer* a  $-70^{\circ}\text{C}$ .



**FIGURA 1 – A = Lesão cisticercótica dividida ao meio;**

**B = Materiais e recipientes utilizados no processamento das amostras.**

### 3.3.6 Extração do DNA

Para a obtenção do DNA das amostras de cisticercos foi aplicado o protocolo de extração baseado na utilização do fenol-clorofórmio-álcool isoamílico e na precipitação pelo etanol, conforme fora preconizado por SAMBROOK et al. (1989).

A concentração do DNA extraído de cada uma das amostras e dos controles positivos foi determinada por estimativa visual em transiluminador de luz ultravioleta (marca Eletronic U.V. Transilluminator, Ultralum Inc), após eletroforese em gel de agarose a 1% realizada em cuba horizontal (modelo Horizon 11.14, Life Technologies) durante 1 hora a 90 v. Como referência para a determinação da concentração foi utilizado o marcador de massa molecular  $\lambda$  DNA-*Hind* III (Amershan Biosciences®).

### 3.3.7 Protocolos de PCR

Para a identificação molecular espécie-específica de *C. bovis* foram utilizados os pares de *primers* TBR-3 (5' –GGCTTGTGGTGAATGGTTTGACG- 3') / TBR-4 (5' –CGACTCATGAAGATAACAAGGT- 3') e para identificação molecular espécie-específica de *C. cellulosae* foram utilizados os pares de *primers* TBR-3 / TBR-6 (5' –GCTACTACACCTAAATTCTAACC- 3'), elaborados a partir de seqüências do gene LSU RNAr de *Taenia saginata* e *Taenia solium*, respectivamente por JARDIM et al. (2006).

A solução para reação de PCR teve a seguinte composição: 30,75 $\mu$ l de água ultra pura esterilizada; 5 $\mu$ l de tampão para PCR (PCR buffer 10x – 100mM Tris-HCl, pH 9, 15mM MgCl<sub>2</sub> e 500mM KCl); 2 $\mu$ l de dNTP a 10mM; 0,75 $\mu$ l (10 pM) do *primer* TBR-3, 0,5 $\mu$ l (10 pM) do *primer* TBR-4, 0,5 $\mu$ l (10 pM) do *primer* TBR-6; 0,5 $\mu$ l (5U/ $\mu$ l) de *Taq* DNA-polimerase; e 5 $\mu$ l (0,35 $\mu$ g) de amostra de DNA. A programação para os ciclos de temperatura foi realizada conforme os protocolos descritos pelos referidos autores como segue: um ciclo inicial de desnaturação a 94 °C, por 2 min, seguido de 40 ciclos repetidos de 94 °C, por 30 s, 59 °C, por 30 s e 72 °C, por 1 min, finalizando-se com um ciclo final de extensão a 72 °C, por 5 min.

### 3.3.8 Controles positivos e negativos

Como controle positivo, foi utilizada amostra de DNA extraído de proglote de *T. saginata* e de *T. solium*, cujas características morfológicas eram elucidativas para a determinação da espécie conforme NEVEU-LEMAIRE (1936).

Como controle negativo, foi utilizada água ultra pura livre de DNA e RNA (RNase/DNase ultra-pure water, Life Technologies) substituindo, em volume correspondente, o DNA nas misturas de reação.

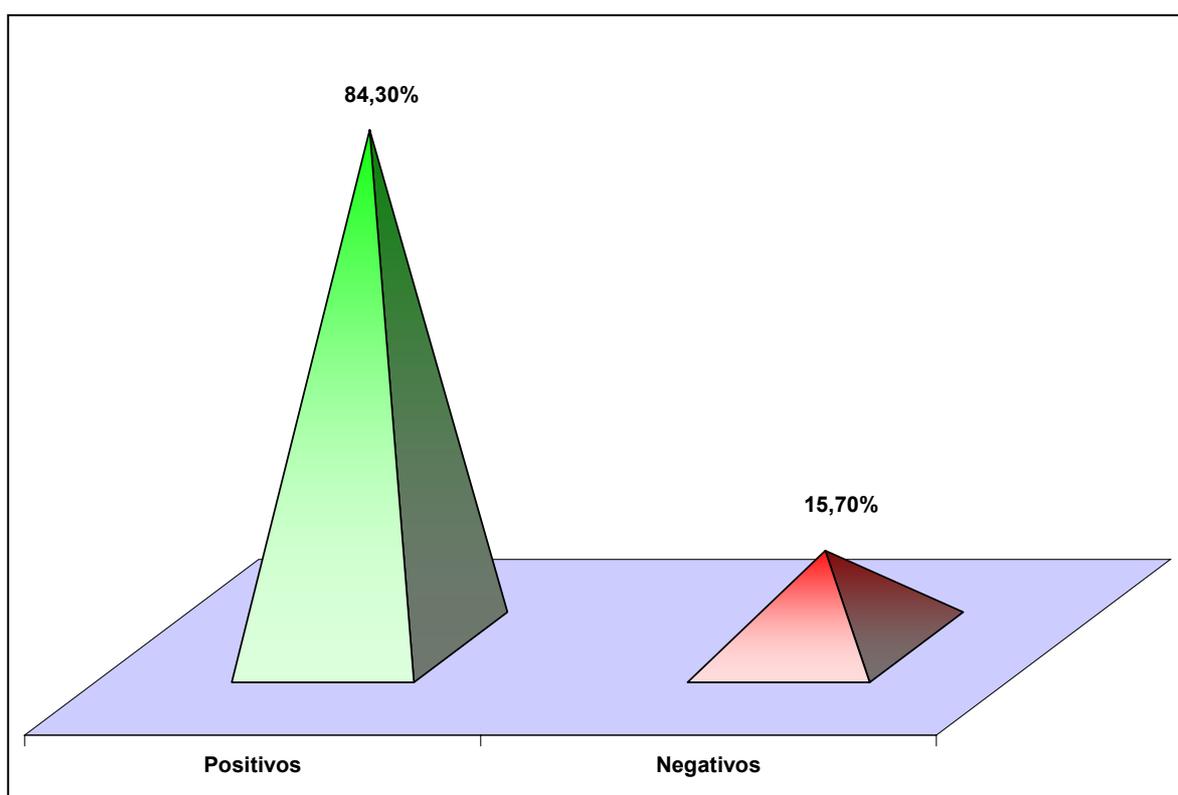
### 3.3.9 Análises estatísticas

Inicialmente, para a execução das análises estatísticas foi elaborado um banco de dados eletrônico. No tratamento estatístico dos dados, o teste não paramétrico do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) (SAMPAIO, 1998) foi empregado na avaliação da distribuição dos resultados de PCR quanto à positividade e a negatividade na identificação molecular dos cisticercos classificados em quatro diferentes etapas relativas ao PIP-HB. O mesmo teste também foi aplicado na avaliação da distribuição dos resultados de PCR quanto à positividade e a negatividade na identificação molecular dos cisticercos em relação à localização, dos mesmos cisticercos, em diferentes localizações anatômicas dos animais abatidos. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando a probabilidade de rejeição da hipótese de nulidade foi menor ou igual a 5% ( $p \leq 0,05$ ).

### 3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.4.1 Identidade molecular de cisticercos classificados macroscopicamente

Após a coleta dos cisticercos e a extração do DNA, as amostras foram submetidas a ensaio de PCR para a amplificação de fragmentos gênicos do DNA de *C. bovis*. Como se observa na FIGURA 2, das 172 amostras avaliadas obteve-se resultados positivos em 145 (84,30%) e resultados negativos em 27 (15,70%).

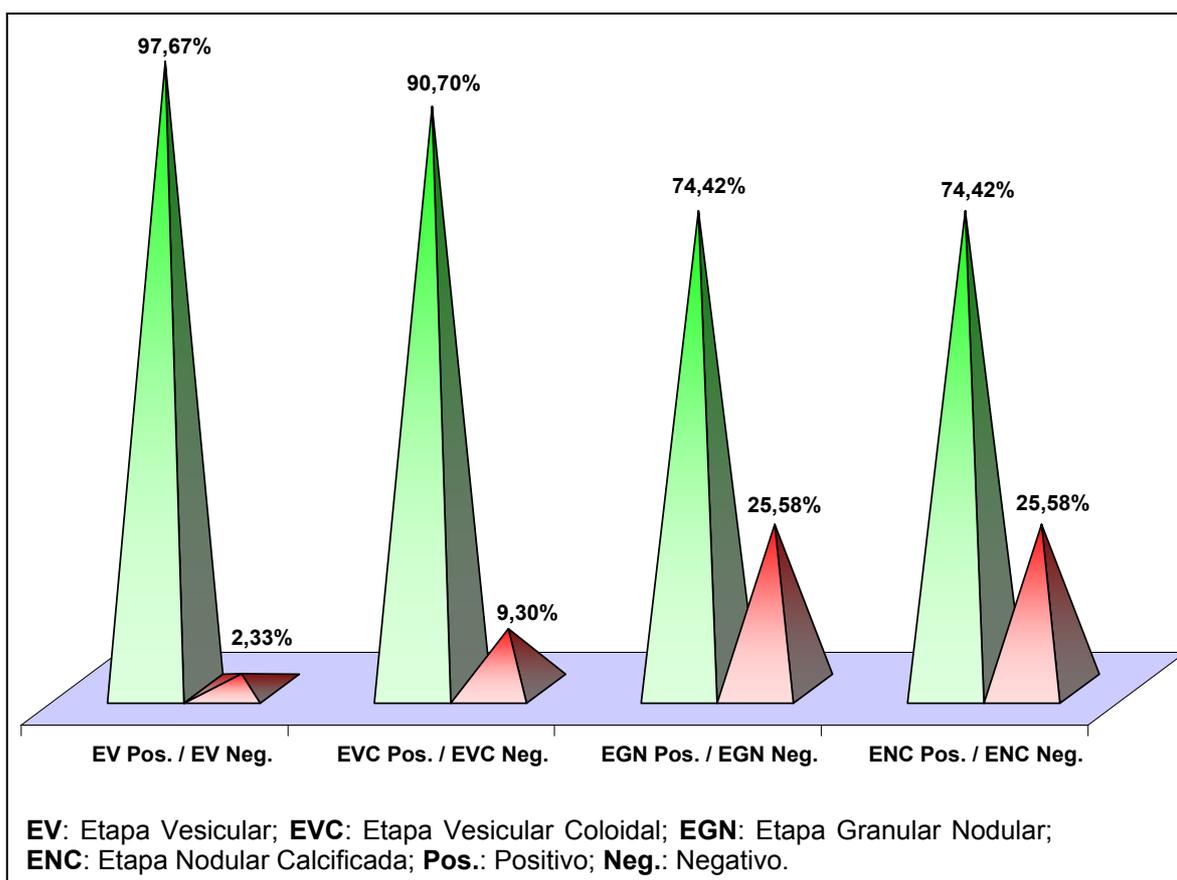


**FIGURA 2 – Percentuais de resultados positivos e negativos na amplificação de fragmentos gênicos do DNA de *Cysticercus bovis* através da PCR a partir de 172 amostras de DNA extraído de cisticercos de origem bovina, no Estado de Goiás.**

Os resultados de PCR expressaram alta frequência de positividade (84,30%) para detecção do DNA de *C. bovis*. No entanto, estes resultados não esclarecem se o percentual de negatividade (15,70%) foi devido à ausência do DNA alvo nas lesões cisticercóticas porque o *C. bovis* não era o agente etiológico presente em todas as lesões cisticercóticas, ou porque, em alguns cisticercos coletados, as alterações histopatológicas decorrentes do PIP-HB mostravam-se mais intensas e em decorrência disto, os metacestódeos, inclusive seus ácidos

nucléicos, já tivessem sido totalmente digeridos pelos fagócitos presentes no infiltrado inflamatório.

Considerando estas hipóteses, os resultados de PCR foram relacionados em função da classificação macroscópica dos cisticercos em quatro etapas relativas ao PIP-HB. Isto permitiu verificar que, dos 43 cisticercos classificados na etapa EV, 42 (97,67%) alcançaram resultado positivo e 1 (2,33%) resultado negativo; dos 43 cisticercos classificados na etapa EVC 39 (90,67%) obtiveram resultado positivo e 4 (9,30%) resultado negativo; dos 43 cisticercos classificados na etapa EGN 32 (74,42%) produziram resultado positivo e 11 (25,58%) resultado negativo; dos 43 cisticercos classificados na etapa ENC 32 (74,42%) apresentaram resultado positivo e 11 (25,58%) resultado negativo (FIGURA 3 e TABELA 1).

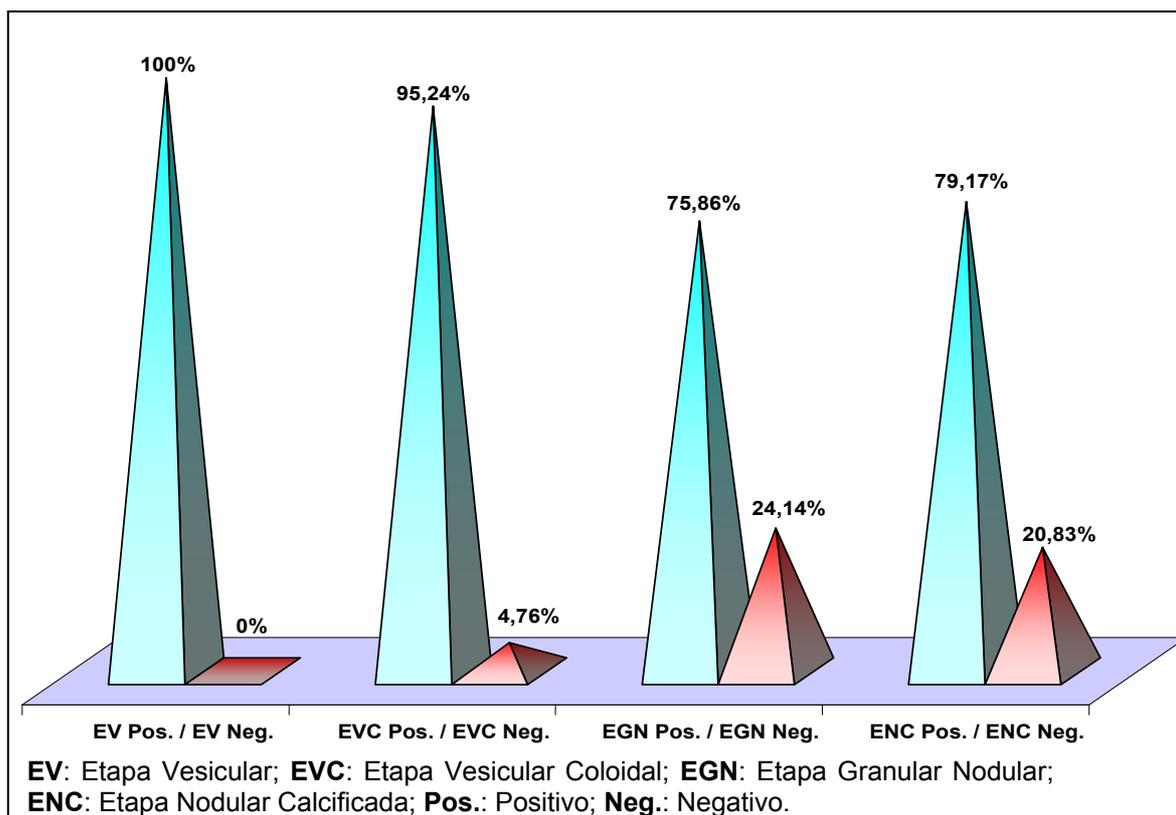


**FIGURA 3 – Percentuais de resultados positivos e negativos na amplificação de fragmentos gênicos do DNA de *Cysticercus bovis* através da PCR a partir de amostras de DNA extraído de cisticercos obtidos de bovinos e classificados, de acordo com as características macroscópicas, em etapas relativas ao processo de interação parasito-hospedeiro.**

De acordo com a análise dos resultados de PCR apresentados na FIGURA 3 e TABELA 1 verificou-se que a positividade foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) para as amostras de DNA dos cisticercos classificados nas etapas iniciais do PIP-HB (EV e EVC) (94,19% de positividade) em relação às amostras de DNA dos cisticercos classificados nas demais etapas (EGN e ENC) (74,42% de positividade). Este resultado reforça a hipótese de que as alterações histopatológicas ocorridas com maior intensidade em relação aos cisticercos classificados nas etapas EGN e ENC tenham influenciado na presença do DNA do *C. bovis* nas lesões cisticercóticas analisadas. No entanto, deve-se atentar para os resultados negativos obtidos em relação a alguns cisticercos classificados nas etapas EV e EVC, pois que, de acordo com o critério de classificação adotado, os metacestódeos haviam sido evidenciados nos cisticercos classificados nestas etapas. Além disso, os resultados obtidos através da observação macroscópica poderiam não traduzir fielmente a real classificação dos cisticercos em etapas do PIP-HB como poderia ser alcançado com a classificação dos mesmos cisticercos através da observação microscópica.

### **3.4.2 Identificação molecular dos cisticercos classificados à microscopia**

Ao relacionar a positividade e a negatividade dos resultados de PCR em função da classificação microscópica dos cisticercos nas quatro etapas do PIP-HB verificou-se que, 12 (100%) cisticercos classificados na etapa EV obtiveram resultado positivo; dos 21 cisticercos classificados na etapa EVC 20 (95,24%) apresentaram resultado positivo e 1 (4,76%) resultado negativo; dos 29 cisticercos classificados na etapa EGN 22 (75,86%) produziram resultado positivo e 7 (24,14%) resultado negativo; dos 24 cisticercos classificados na etapa ENC 19 (79,17%) apresentaram resultado positivo e 5 (20,83%) resultado negativo (FIGURA 4 e TABELA 1).



**FIGURA 4 – Percentuais de resultados positivos e negativos na amplificação de fragmentos gênicos do DNA de *Cysticercus bovis* através da PCR a partir de amostras de DNA extraído de cisticercos encontrados em bovinos e classificados, pelas características microscópicas, em etapas relativas ao processo de interação parasito-hospedeiro.**

**TABELA 1 – Resultados dos testes de PCR para cisticercos classificados pela caracterização macroscópica e microscópica.**

ETAPAS do PIP-HB	PCR de cisticercos classificados à macroscopia			PCR de cisticercos classificados à microscopia		
	Positivos	Negativos	Totais Abs.	Positivos	Negativos	Totais Abs.
<b>EV</b>	42 (97,67%)	1 (2,33%)	43	12 (100%)	0 (0%)	12
<b>EVC</b>	39 (90,70%)	4 (9,30%)	43	20 (95,24%)	1 (4,76%)	21
<b>EGN</b>	32 (74,42%)	11 (25,58%)	43	22 (75,86%)	7 (24,14%)	29
<b>ENC</b>	32 (74,42%)	11 (25,58%)	43	19 (79,17%)	5 (20,83%)	24
<b>Totais Abs. e Relativos</b>	145 (84,30%)	27 (15,70%)	172	73 (84,88%)	13 (15,12%)	86

EV = Etapa Vesicular; EVC = Etapa Vesicular Coloidal; EGN = Etapa Granular Nodular; ENC = Etapa Nodular Calcificada; Abs. = Absolutos; PIP-HB = Processo de Interação Parasito-Hospedeiro Bovino.

Analisando os dados apresentados na FIGURA 4 e na TABELA 1 verificou-se que, na avaliação microscópica a positividade na PCR foi também significativamente maior ( $p < 0,05$ ) em relação às amostras de DNA dos cisticercos classificados nas etapas iniciais (EV e EVC) do PIP-HB (96,97% de positividade) e menor em relação às amostras de DNA dos cisticercos classificados nas etapas finais (EGN e ENC) do PIP-HB (77,33% de positividade). Estes resultados reforçaram ainda mais a hipótese de que as alterações histopatológicas ocorridas em relação aos cisticercos tenham influenciado determinantemente a presença do DNA de *C. bovis* nestas lesões cisticercóticas.

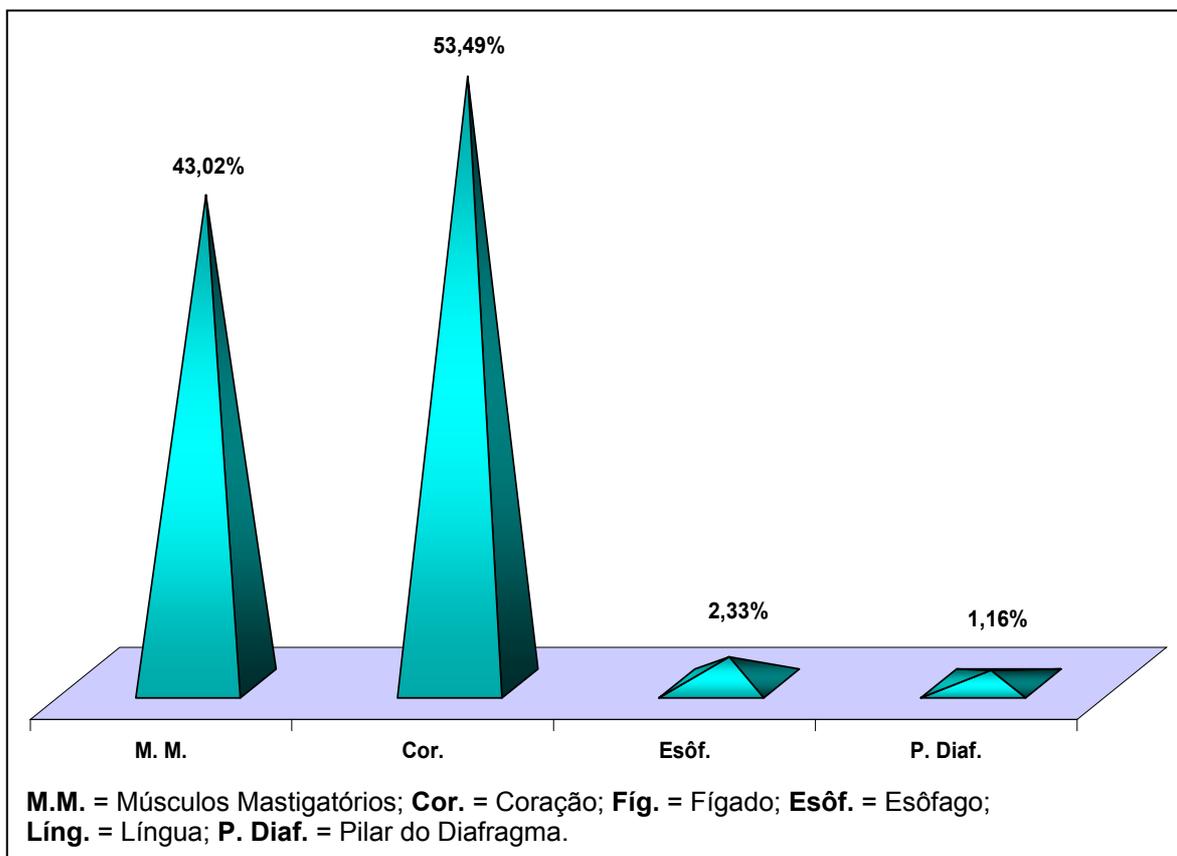
Entretanto, com base na mesma hipótese, esperava-se que a negatividade nos resultados de PCR fosse menor nos cisticercos classificados na etapa EGN em relação aos cisticercos classificados na etapa ENC, porque, nesta última etapa, as alterações histopatológicas foram evidenciadas com maior intensidade e, de acordo com o critério de classificação adotado, nenhuma estrutura dos metacestódeos havia sido evidenciada nos cisticercos classificados nesta etapa. No entanto, os resultados de PCR relativos aos cisticercos classificados nas etapas EGN e ENC não corresponderam a esta lógica e, pelo contrário, os cisticercos classificados à microscopia na etapa ENC obtiveram maior positividade do que os classificados na etapa EGN. Este fato justificou a necessidade de aprofundar as análises dos resultados de PCR em relação à outra variável que também poderia ter lhe influenciado.

### **3.4.3 Localização dos cisticercos e identificação molecular**

A coleta dos cisticercos foi realizada de conformidade com a rotina de trabalho executada pelos Médicos Veterinários, Fiscais Federais Agropecuários do SIF. Desta forma, e de acordo com este vínculo de casualidade, os cisticercos foram coletados em determinados músculos e órgãos dos animais examinados.

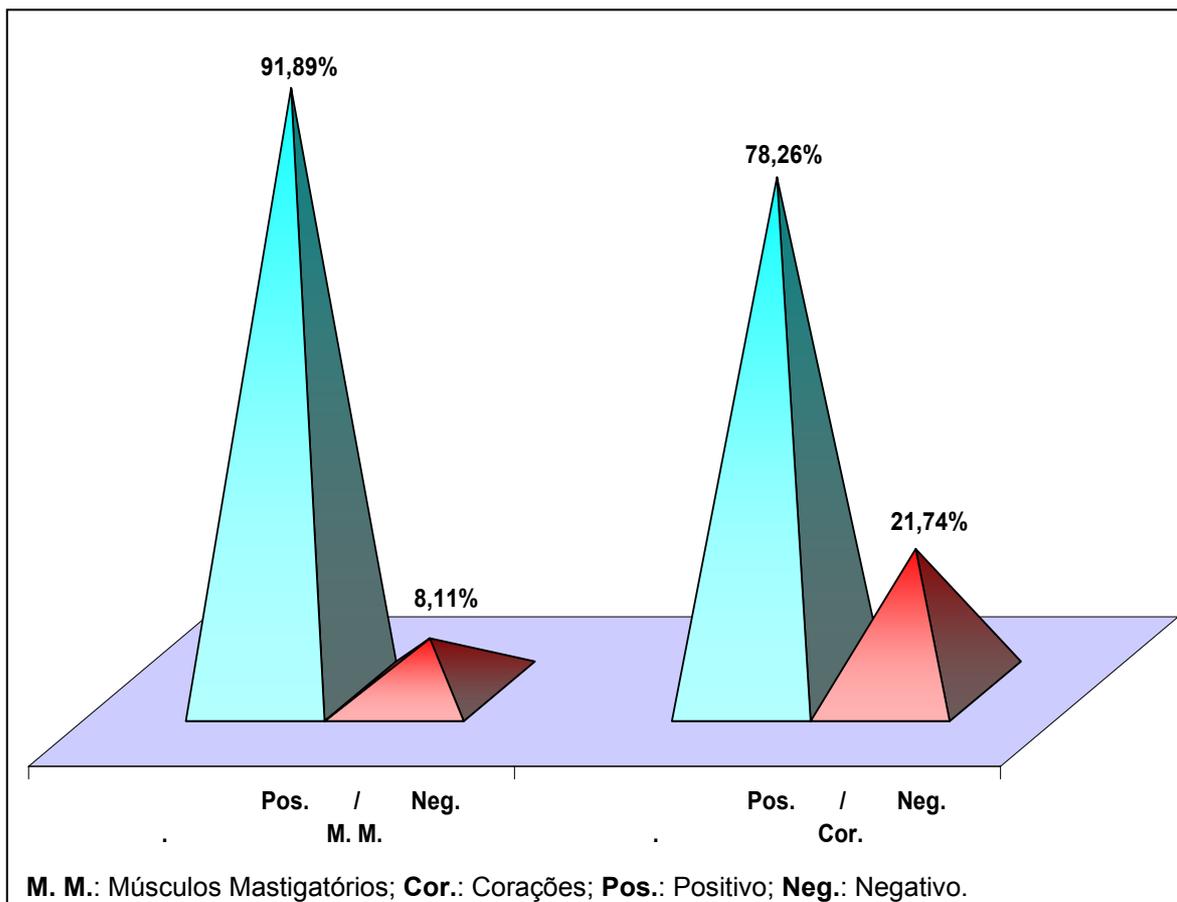
Contrastando os resultados obtidos em relação à localização dos cisticercos aos obtidos em relação à classificação baseada nas características microscópicas, constatou-se que dos 86 cisticercos analisados à microscopia 83 (96,51%) estavam localizados nos músculos mastigatórios e nos corações das

carcaças, sendo que desses, 37 (43,02%) cisticercos estavam localizados nos músculos mastigatórios e 46 (53,49%) nos corações (FIGURA 5).



**FIGURA 5 – Distribuição percentual de localização anatômica dos cisticercos isolados de bovinos abatidos sob inspeção federal.**

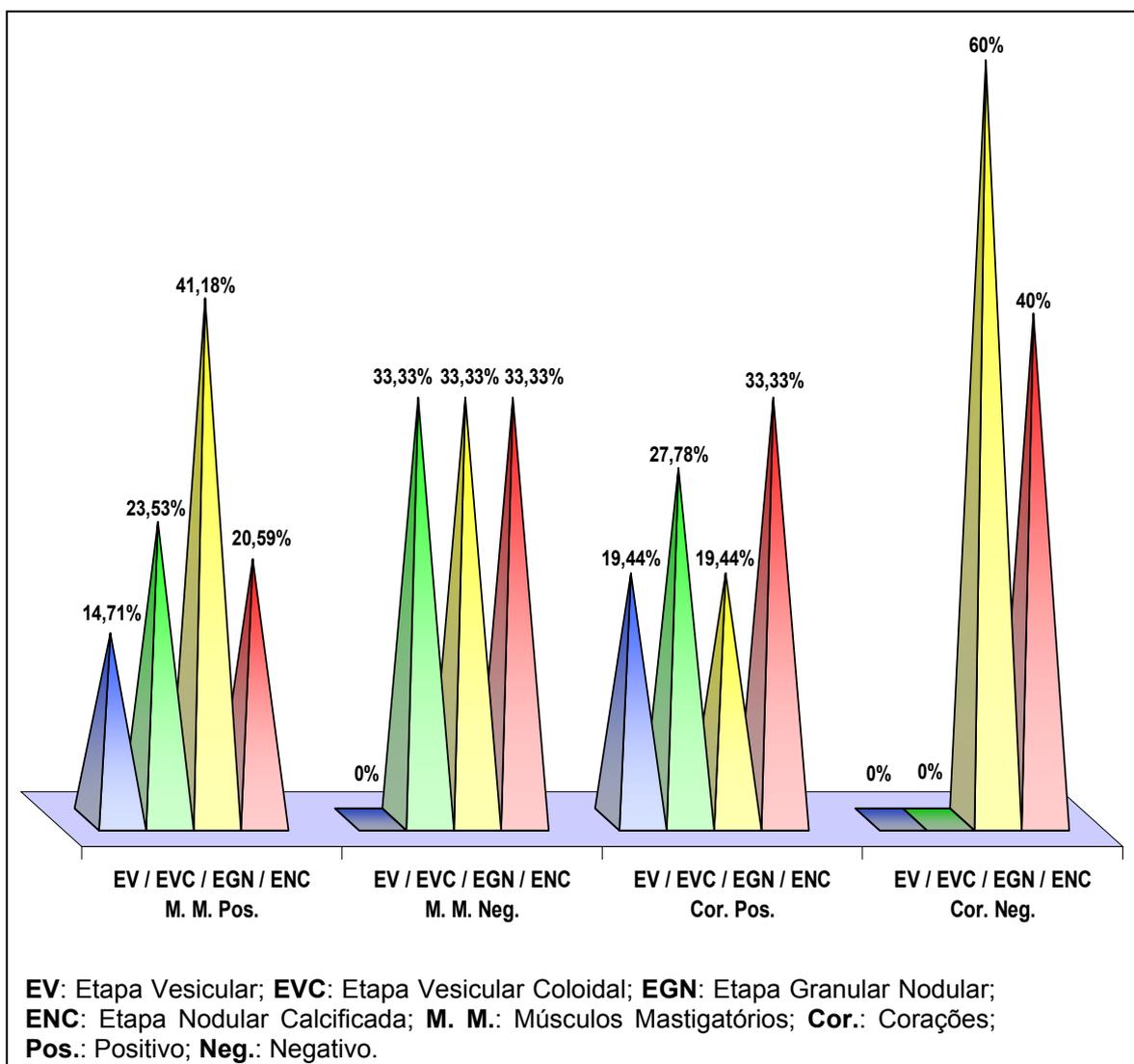
Isto possibilitou que a positividade e a negatividade dos resultados de PCR fossem analisadas em relação aos cisticercos localizados somente nestas regiões anatômicas, verificando-se desta forma que, dos 37 cisticercos que estavam localizados nos músculos mastigatórios obteve-se resultado positivo para 34 (91,98%) e resultado negativo em 3 (8,11%) e dos 46 cisticercos que estavam localizados nos corações obteve-se resultado positivo para 36 (78,26%) e resultado negativo em 10 (21,74%) (FIGURA 6).



**FIGURA 6 – Percentuais de resultados positivos e negativos na amplificação de fragmentos gênicos do DNA de *Cysticercus bovis* através da PCR a partir de amostras de DNA extraído de cisticercos encontrados nos músculos mastigatórios e nos corações de carcaças bovinas.**

Observando os resultados apresentados na FIGURA 6 verifica-se que a negatividade na PCR foi maior ( $p < 0,05$ ) para os cisticercos localizados nos corações dos bovinos em relação aos localizados nos músculos mastigatórios. Entretanto, a negatividade e a positividade na PCR dos cisticercos localizados tanto no coração quanto nos músculos mastigatórios poderiam ainda ter sido influenciadas pelas alterações histopatológicas decorrentes do PIP-HB. Assim sendo, a positividade e a negatividade destes resultados de PCR foram relacionadas à classificação microscópica, dos mesmos cisticercos, em cada uma das etapas do PIP-HB. Isto possibilitou verificar que, dos 34 cisticercos com resultado positivo e localizados nos músculos mastigatórios 5 (14,71%) haviam sido classificados na etapa EV, 8 (23,53%) na etapa EVC, 14 (41,18%) na etapa EGN e 7 (20,59%) na etapa ENC; dos 3 cisticercos com resultados negativos e

localizados nos músculos mastigatórios nenhum deles havia sido classificado na etapa EV, 1 (33,33%) na etapa EVC, 1 (33,33%) na etapa EGN e 1 (33,33%) na etapa ENC, enquanto que, dos 36 cisticercos com resultados positivos e localizados nos corações 7 (19,44%) haviam sido classificados na etapa EV, 10 (27,78%) na etapa EVC, 7 (19,44%) na etapa EGN e 12 (33,33%) na etapa ENC; dos 10 cisticercos com resultados negativos e localizados nos corações nenhum deles havia sido classificado na etapa EV ou na etapa EVC, 6 (60%) na etapa EGN e 4 (40%) na etapa ENC (FIGURA 7).



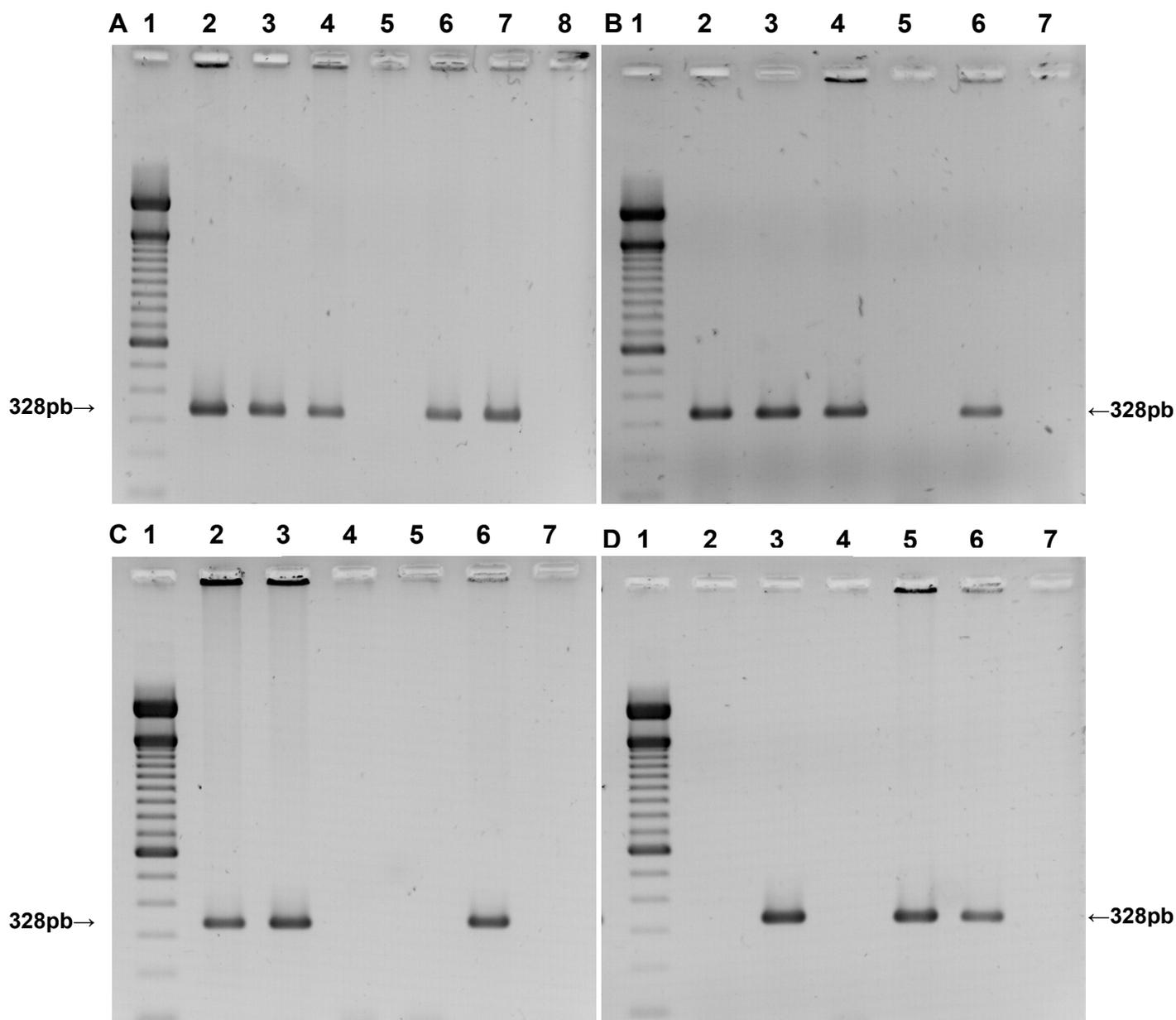
**FIGURA 7 –** Percentuais de resultados positivos e negativos na amplificação de fragmentos gênicos do DNA de *Cysticercus bovis* através da PCR a partir de amostras de DNA extraído de cisticercos encontrados nos músculos mastigatórios e nos corações de bovinos e classificados, à microscopia, em etapas relativas ao processo de interação parasito-hospedeiro.

Ao analisar os resultados apresentados na FIGURA 7 destaca-se a significativa ( $p < 0,05$ ) negatividade dos cisticercos localizados nos corações e classificados na etapa EGN (60%) em relação à negatividade dos cisticercos localizados nos músculos mastigatórios e classificados na mesma etapa do PIP-HB (33,33%). Estes resultados levantaram as seguintes hipóteses epidemiológicas: que uma parte significativa das lesões cisticercóticas classificadas na etapa EGN e encontradas nos corações bovinos, ao invés de terem tido o *C. bovis* como agente etiológico, possam ter sido causadas por outra espécie de taenídeo ou taeniídeo ou que as alterações histopatológicas ocorridas nos corações dos bovinos em reação à infecção provocada pelo *C. bovis* tenham características diferenciadas em relação à infecção provocada pela mesma espécie de parasito quando localizado nos músculos da mastigação, ou ainda, que outra variável como a aplicação de drogas antihelmínticas tenha alterado, diferentemente, o PIP-HB em relação às duas localizações anatômicas.

#### **3.4.4 Especificidade e sensibilidade das reações de PCR**

Os protocolos de reação de PCR e os *primers* utilizados no presente experimento foram desenvolvidos por JARDIM et al., (2006). No trabalho dos referidos autores, ficou demonstrado que, os protocolos por eles padronizados e os pares de *primers* TBR-3/TBR-4 e TBR-3/TBR-6 por eles selecionados para a identificação espécie-específica de *T. saginata* e de *T. solium*, ao serem aplicados nos ensaios de PCR, demonstraram alta especificidade e elevada sensibilidade permitindo amplificação detectável a partir de 0,2fg e de 1fg dos DNA alvos, respectivamente.

No presente experimento, pôde-se, relativamente, comprovar os resultados alcançados por JARDIM et al., (2006) quanto à especificidade e à sensibilidade na detecção do DNA da *T. saginata*, pois nenhuma amplificação inespecífica foi observada nas reações de PCR realizadas utilizando o par de *primers* TBR-3/TBR-4, como também, ficou demonstrado que todos os fragmentos gênicos amplificados continham 328pb (FIGURA 8). Além disso, o PCR realizado a partir de amostras de cisticercos classificados na etapa ENC resultaram em 79,17% de positividade.



**FIGURA 8** – Eletroforeses em gel de agarose a 2% referentes às reações de PCR específicas para amplificação de fragmentos gênicos de 328 pb do gene LSU RNAr de *Cysticercus bovis* realizadas a partir das amostras de DNA extraídas de cisticercos classificados nas etapas:

- EV** - A<sup>1</sup> = marcador 100bp, A<sup>2</sup>, A<sup>3</sup>, A<sup>4</sup> e A<sup>6</sup> = amostras positivas,  
A<sup>5</sup> = amostra negativa, A<sup>7</sup> = controle positivo, A<sup>8</sup> = controle negativo;
- EVC** - B<sup>1</sup> = marcador 100pb, B<sup>2</sup>, B<sup>3</sup> e B<sup>4</sup> = amostras positivas,  
B<sup>5</sup> = amostra negativa, B<sup>6</sup> = controle positivo, B<sup>7</sup> = controle negativo;
- EGN** - C<sup>1</sup> = marcador 100pb, C<sup>2</sup> e C<sup>3</sup> = amostras positivas,  
C<sup>4</sup> e C<sup>5</sup> = amostras negativas, C<sup>6</sup> = controle positivo, C<sup>7</sup> = controle negativo;
- ENC** - D<sup>1</sup> = marcador 100pb, D<sup>3</sup> e D<sup>5</sup> = amostras positivas,  
D<sup>2</sup> e D<sup>4</sup> = amostras negativas, D<sup>6</sup> = controle positivo, D<sup>7</sup> = controle negativo.

Na literatura científica especializada, os trabalhos que discorrem sobre as características morfológicas dos cisticercos encontrados em bovinos,

geralmente limitam-se à descrição das características macroscópicas, raramente são observadas as características microscópicas, mais raramente ainda, os aspectos macroscópicos e microscópicos são relacionados e de todos os trabalhos que utilizaram de alguma forma a técnica de PCR na identificação dos parasitos relacionados ao complexo teníase-cisticercose, somente no trabalho realizado por LOGT & GOTTSTEIN (2000) a identidade molecular de cisticercos classificados em diferentes etapas do PIP-HB foi investigada.

Os referidos autores empregaram a técnica de PCR na identificação do DNA de 38 cisticercos advindos da Nova Zelândia, pois haviam sido considerados como “suspeitos” pelo serviço de inspeção devido à baixa prevalência desta parasitose naquele país. Empregaram também, a mesma técnica em 43 cisticercos advindos da Suíça, porque haviam sido considerados como “atípicos” pelos inspetores sanitários daquele país. Os cisticercos advindos da Nova Zelândia já haviam sido histologicamente examinados e, de acordo com as características morfológicas evidenciadas, grande parte deles foi considerada como sendo *C. bovis*. No entanto, as amostras de DNA de nenhum deles resultou na amplificação de fragmento gênico específico para *C. bovis*, porém a amplificação do DNA de 34 deles resultou na formação de fragmentos inespecíficos com o mesmo número de pares de base (pb). Os cisticercos advindos da Suíça não foram histologicamente examinados, mas foram macroscopicamente classificados como: “viáveis” (6), “degenerados” (8) e “calcificados” (29). Em três cisticercos classificados como “viáveis” a amplificação do DNA resultou na formação de fragmentos inespecíficos com o mesmo número de pb, como já haviam acontecido com as amostras de DNA dos cisticercos advindos da Nova Zelândia, sendo que a amplificação do DNA dos outros três cisticercos “viáveis” resultou na formação de fragmentos específicos para o *C. bovis*. Em todos os oito cisticercos classificados como “degenerados” a amplificação do DNA resultou na formação de fragmentos específicos para *C. bovis*. Dos 29 cisticercos classificados como “calcificados” a amplificação do DNA de 17 deles resultou na formação de fragmentos específicos para *C. bovis*, em nove deles a amplificação do DNA resultou na amplificação de fragmentos específicos para *Echinococcus multilocularis* e para três deles não houve formação de fragmentos gênicos.

LOGT & GOTTSTEIN (2000) não definiram a localização anatômica dos cisticercos nos animais, nem os parâmetros macroscópicos que definiram a classificação dos cisticercos por eles analisados. Supondo que os cisticercos classificados, pelos referidos autores, como “viáveis” sejam correspondentes aos cisticercos classificados, no presente estudo, nas etapas EV e EVC e que os cisticercos classificados como “degenerados” e os classificados como “calcificados” sejam correspondentes, respectivamente, aos cisticercos classificados nas etapas EGN e ENC, podemos inferir que os resultados por eles obtidos assemelham-se aos obtidos no presente trabalho, quanto à maior positividade dos cisticercos classificados nas primeiras etapas do PIP-HB em relação aos classificados nas etapas subseqüentes, entretanto diferem quanto à identificação do *C. bovis*, pois grande parte dos cisticercos analisados pelos referidos autores resultaram em ampliações inespecíficas (45,67%) e outra parte ou em fragmentos gênicos de outro taenídeo (11,11%). No entanto, há que se ressaltar que os cisticercos analisados por LOGT & GOTTSTEIN (2000) haviam sido considerados como “suspeitos” e como “atípicos”, enquanto os analisados no presente experimento foram coletados segundo a casualidade habitual de ocorrência da cisticercose bovina detectada pelo SIF.

Os resultados obtidos por LOGT & GOTTSTEIN (2000) reforçaram a hipótese de que a maior negatividade obtida na amplificação do DNA extraído dos cisticercos coletados nos corações dos bovinos e classificados na etapa EGN possa estar relacionada à infecção provocada por outra espécie de parasito, que também desenvolva a forma cisticercóide, que se localize, com certa frequência, no coração e que provoque alterações histopatológicas com características similares às observadas nos cisticercos classificados na etapa EGN quando a infecção cisticercótica foi provocada pelo *C. bovis*.

Diante desta hipótese e da possibilidade epidemiológica levantada por GUSSO et al. (2000) quanto aos bovinos poderem cumprir a função de hospedeiros intermediários da *T. solium*, sendo, portanto, infectados também pelo *C. cellulosae*, o DNA dos cisticercos coletados no presente estudo foram testados através da PCR para a amplificação de fragmentos gênicos específicos do DNA de *C. cellulosae*, entretanto, nenhum resultado positivo foi obtido.

No entanto, a ausência de resultados positivos na amplificação de fragmentos gênicos específicos do DNA de *C. cellulosae* não invalida a referida possibilidade epidemiológica, pois a quantidade de DNA de cisticercos testados no presente estudo não representa uma amostragem significativa da prevalência da cisticercose bovina no Brasil.

Apesar de não realizarem o diagnóstico molecular, outros trabalhos constam na literatura nos quais os autores classificaram os cisticercos encontrados em bovinos de acordo com etapas relativas ao PIP-HB e buscaram de alguma forma a identificação específica dos parasitos. Assim, GIBSON (1958) constatou que, na rotina de inspeção sanitária de bovinos em Weybridge (cidade da Inglaterra), era comum a ocorrência de cisticercos considerados mortos e que por isso eles eram evidenciados em processos degenerativos fazendo com que os inspetores tivessem dificuldades para, através da macroscopia, identificar de forma positiva o *C. bovis* como o agente causador da lesão cisticercótica.

Entretanto, o referido autor, ao observar microscopicamente os cisticercos considerados em processo degenerativo verificou que, 35 deles eram “caseosos”, 36 eram “calcificados” e quatro deles, “muito claramente”, não eram *C. bovis*. Verificou também que nos cisticercos em processo degenerativo, apesar de serem evidenciadas características histopatológicas compatíveis com as comumente observadas em lesões cisticercóticas (lesão abscedante, com centro necrótico, circundado por tecido de granulação e intenso infiltrado de polimorfos e eosinófilos), não existia nada nestas lesões que pudesse comprovar-lhes a identidade etiológica, nem mesmo a presença de corpúsculos calcários.

COSTA (2003) classificou cisticercos isolados de corações bovinos como “íntegros” e como “degenerados” e ao verificar a identidade morfológica dos cisticercos, verificou que não havia dificuldade no diagnóstico parasitológico do *C. bovis* quando o cisticerco foi classificado como “íntegro”, todavia, admitiu dificuldades no diagnóstico quando o cisticerco foi classificado como “degenerado”.

Entretanto, MINOZZO et al. (2002) ao realizarem a infecção cisticercótica experimental, reconheceram que a identificação específica do *C. bovis* não foi precisa, mesmo quando os cisticercos foram considerados como “vivos” e obtinham resultado positivo no teste de evaginação.

STERBA & DYKOVÁ (1978) e STERBA et al (1979) estudaram a reação inflamatória decorrente da infecção provocada naturalmente e experimentalmente pelo *C. Bovis* na musculatura esquelética e nos corações bovinos e observaram que o tecido do hospedeiro onde o cisticerco está localizado exerce influência no curso da reação inflamatória, pois nos cisticercos localizados nos corações o fenômeno inflamatório foi mais intenso e com a morte dos metacestódeos, a vesícula cística é invadida por fagócitos que englobam os restos parasitários, iniciando em seguida a fibroplastia da lesão cisticercótica. Segundo COSTA (2003), “isto pode explicar a ausência dos corpúsculos calcários na maioria das lesões e, inclusive, a característica granulomatosa inespecífica, rica em tecido fibroso, em algumas delas”.

Os corpúsculos calcários também não foram observados nos cisticercos analisados no presente estudo, entretanto, segundo VARGAS-PARADA et al. (1999), os corpúsculos calcários não são produzidos exclusivamente por cestódeos, mas por vários outros platelmintos.

BLAZEK et al. (1986) provocaram a infecção experimental por *C. bovis* em renas (*Rangifer tarandus*) e em bovino, verificando que os cisticercos localizados na musculatura esquelética e na cardíaca morriam precocemente, sendo em seguida reabsorvidos e circundados por tecido de granulação e fibrose, e somente os cisticercos localizados no tecido cerebral das renas alcançavam a fase infectante.

De acordo com as observações de STERBA & DYKOVÁ (1978), de STERBA et al (1979) e de BLAZEK et al. (1986) o tecido cardíaco reage com resposta inflamatória mais intensa à infecção provocada pelo *C. bovis* alterando, portanto, o curso do PIP-H em lesões cisticercóticas com esta localização anatômica. Esta característica anátomo-patológica específica, observada pelos referidos autores, quando analisada em relação aos resultados obtidos no presente experimento, podem explicar o maior percentual de resultados negativos obtidos na PCR com as amostras de DNA extraídas de cisticercos localizados nos corações dos bovinos e classificados nas etapas EGN e ENC (FIGURA 6). Entretanto, não justificam o maior percentual de resultados negativos obtidos na PCR com as amostras de DNA extraídas de cisticercos localizados nos corações e classificados na etapa EGN em relação aos resultados negativos obtidos na

PCR com as amostras de DNA extraídas de cisticercos localizados nos corações e classificados na etapa ENC (FIGURA 7).

Esta constatação possibilita inferir que algumas lesões cisticercóticas localizadas no coração e classificadas na etapa EGN, apesar de apresentarem características histopatológicas semelhantes às evidenciadas nas lesões cisticercóticas provocadas pelo *C. bovis*, não o tinham como agente etiológico e, portanto, não iriam, sucessoriamente, assumir as características histopatológicas que definem as lesões cisticercóticas classificadas na etapa ENC, ou então, que o *C. bovis* estava presente em algumas destas lesões cisticercóticas localizadas no coração e classificadas na etapa EGN, mas foi combatido mais eficientemente pelo sistema imune do hospedeiro, pois o *C. bovis* teria sofrido, anteriormente, a ação de drogas antihelmínticas específicas que alterariam o padrão de reação aos cisticercos desta etapa classificatória, mas não interfeririam nos cisticercos que já se encontravam isolados nos tecidos do hospedeiro como os classificados na etapa ENC.

### **3.5 CONCLUSÕES**

1 - A técnica de biologia molecular de PCR pode ser aplicada na identificação molecular espécie-específica de cisticercos classificados em diferentes etapas do processo de interação parasito-hospedeiro bovino.

2 - A positividade nos resultados de PCR é maior nas amostras de DNA dos cisticercos classificados nas etapas iniciais do processo de interação parasito-hospedeiro (Etapa Vesicular - EV e Etapa Vesicular Coloidal - EVC) em relação à positividade nos resultados de PCR das amostras de DNA dos cisticercos classificados nas etapas finais do processo de interação parasito-hospedeiro (Etapa Granular Nodular - EGN e Etapa Nodular Calcificada - ENC).

3 - A negatividade nos resultados de PCR é maior nas amostras de DNA dos cisticercos localizados nos corações dos bovinos e classificados na Etapa Granular Nodular (EGN) em relação à negatividade nos resultados de PCR das amostras de DNA dos cisticercos localizados nos músculos mastigatórios dos bovinos e classificados na mesma etapa do processo de interação parasito-hospedeiro.

### 3.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J. **Biologia Molecular da Célula**. 3.ed., Porto Alegre: Arte Médica, 1997. 1294p.
2. ALVAREZ, J. I.; LONDOÑO, D. P.; ALVAREZ, A. L.; TRUJILLO, J.; JARAMILLO, M. M.; RESTREPO, B. I. Granuloma formation and parasite disintegration in porcine cysticercosis: comparison with human neurocysticercosis. **Journal of Comparative Pathology**, v. 127, n. 2-3, p. 186-193, 2002.
3. BIONDI, G. F.; HENRIQUE, C. H.; OLIVEIRA, A. C.; CASTRO, A. P. Avaliação da eficiência da prova de evaginação em metacestódeos de *Taenia saginata*. **Revista de Educação Continuada - CRMV-SP**, São Paulo, v. 3, p. 49-54, 2000.
4. BLAZEK, K.; KIRICHEK, V. S.; SCHRAMLOVÁ, J. Pathology of experimental *Cysticercus bovis* infection in the reindeer (*Rangifer Tarandus* - Linné, 1758). **Folia Parasitologica**, v. 33, n. 1, p.39-44, 1986.
5. BOWLES, J.; McMANUS, D. P. Genetic characterization of the Asian *Taenia*, a newly described taeniid cestode of humans. **American journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 50, n. 1, p. 33-34, 1994.
6. BRASIL Leis, decretos, etc. Ministério da Agricultura. **Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**, aprovado pelo Decreto nº. 30.691, de 29.3.52, alterado pelo Decreto nº. 1.255, de 25.6.62. Brasília, 1997. 241 p.
7. CHUNG, W. C.; LIN, C. Y.; FAN, P. C. Ectopic locations of *Taenia saginata* asiatica cysticerci in the abdominal cavity of domestic pig and monkey. **The Journal of Parasitology**, v. 82, n. 6, p. 1032-1034, 1996.
8. COSTA, R. F. R. **Pesquisa de cisticercose e caracterização das reações inflamatórias em corações de bovinos comercializados na cidade de Nova Friburgo/RJ, inspecionados pelas técnicas de Santos (1976) e do fatiamento**. 2003. 63 f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) – Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro.
9. DEL BRUTTO, O. H. Neurocysticercosis. **Revista de Neurología**, v. 29, n. 5, p. 456-466, 1999.
10. ESCOBAR-IZQUIERDO, A. La patología de la neurocisticercosis. **Gaceta Médica de México**, v. 124, n. 5-6, p. 202-206, 1988.

11. FAN, P. C.; CHUNG, W. C.; LIN, C. Y., PALOWSKI, Z. S. Experimental infection with *Taenia saginata* (Poland strain) in Taiwanese pigs. **Journal of Helminthology**, v. 66, n. 3, p. 198-204, 1992.
12. FREITAS, M. G. **Helmintologia veterinária**. 4ed. Belo Horizonte: Editora Gráfica Rabelo LTDA. 1980. 396 p.
13. FUKUDA, R. T. **Contribuição ao estudo da epidemiologia da cisticercose bovina na região administrativa de Barretos. Aspectos ambientais e econômicos**. 2003. 127 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária de Jaboticabal, São Paulo.
14. GIBSON, T. E. The identification of *Cysticercus Bovis*, with special reference to degenerate cysticerci. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 53, n. 1, p. 25-26, 1959.
15. GONZÁLEZ, M. L.; MONTERO, E.; HARRISON, L. J. S.; PARKHOUSE, R. M. E.; GARATE, T. Differential Diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia solium* Infection by PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 2, p. 737-744, 2000.
16. GONZÁLEZ, M. L.; MONTERO, E.; PUENTE, S.; LÓPEZ-VELEZ, R.; HERNÁNDEZ, M.; SCIUTTO, E.; HARRISON, L. J. S.; PARKHOUSE, R. M. E. PCR tools for the differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia solium* taeniasis/cysticercosis from different geographical locations. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 42, n. 7, p. 243-249, 2002.
17. GONZÁLEZ, L. M.; MONTERO, E.; MORAKOTE, N.; PUENTE, S.; TUESTA, J. L. D.; SERRA, T.; LÓPEZ-VELEZ, R.; McMANUS, D. P.; HARRISON, L. J. S.; PARKHOUSE, M. E.; GÁRATE, T. Differential Diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia saginata asiatica* taeniasis through PCR. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 49, n. 3, p. 183-188, 2004.
18. GOTTSTEIN, B.; DEPLAZES, P.; TANNER, I.; SKAGGS, J. S. Diagnostic identification of *Taenia saginata* with the polymerase chain reaction. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 85, n. 2, p. 248-249, 1991.
19. GOTTSTEIN, B., MOWATT, M.R. Sequencing and characterization of *Echinococcus multilocularis* DNA probe and its use in the polymerase chain reaction. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 44, n. 2, p. 183-194, 1991.
20. GUSSO, R. L. F., MINOZZO, J. C., THOMAZ-SOCCOL, V., CAMARGO, N. J., LOPES, C. M. Experimental infection of cattle with eggs of *Taenia solium*. **Archives of Veterinary Science**, v.5, p.23-27, 2000.
21. HARRISON, L. J. S.; GÁRATE, T.; BRYCE, D. M.; GONZÁLEZ, L. M.; FOSTER-CUEVAS, M.; WAMAE, L. W.; ONYANGO-ABUJE, J. A.,

- PARKHOUSE, R. M. E. Ag-ELISA and PCR for monitoring the vaccination of cattle against *Taenia saginata* cysticercosis using an oncospherical adhesion protein (HP6) with surface and secreted localization. **Tropical Animal Health and Production**, v. 37, n. 2, p. 103-120, 2005.
22. JARDIM, E. A. G. V. Diferenciação específica entre *Taenia saginata* e *Taenia solium* por ensaio de PCR e Duplex-PCR. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 36, p. 166-172, 2006.
23. JEON, H. K.; EOM, K. S. *Taenia asiatica* and *Taenia saginata*: genetic divergence estimated from their mitochondrial genomes. **Experimental Parasitology**, v. 113, n. 1, p. 58-61, 2006.
24. LINO JÚNIOR, R. S.; RIBEIRO, P. M.; ANTONELLI, E. J.; FALEIROS, A. C. G.; TERRA, S. A.; REIS, M. A.; TEIXEIRA, V. P. Características evolutivas do *Cysticercus Cellulosae* no encéfalo e no coração humanos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, n. 6, p. 617-622, 2002.
25. LOGT, P. B.; GOTTSTEIN, B. Unidentified parasitic cysts in cattle. **Veterinary Record**, v. 20, n. 146, p. 610-612, 2000.
26. LONDOÑO, D. P.; ALVAREZ, J. I.; TRUJILLO, J.; JARAMILLO, M. M.; RESTREPO, B. I. The inflammatory cell infiltrates in porcine cysticercosis: immunohistochemical analysis during various stages of infection. **Veterinary Parasitology**, v. 109, n.3-4, p. 249-259, 2002.
27. MACMANUS, P. D. Molecular Discrimination of *taeniid* cestodes. **Parasitology International**, v. 55, supplement 1, p. S31-S37, 2006.
28. MAYTA, H.; TALLEY, A.; GILMAN, R. H.; JIMENEZ, J.; VERASTEGUI, M.; RUIZ, M.; GARCIA, H. H.; GONZALEZ, A. E. Differentiating *Taenia solium* and *Taenia saginata* infections by simple hematoxylin-eosin staining and PCR-restriction enzyme analysis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 1, p. 133-137, 2000.
29. MERI, T.; JOKIRANTA, T. S.; GRANAT, S.; COLLANDER, F.; VALTONEN, M.; MERI, S. Diagnosis of atypical neurocysticercosis by polymerase chain reaction analysis: case report. **Clinical Infectious Diseases**, v. 28, n.6, p. 1331-1332, 1999.
30. MINOZZO, J. C.; GUSSO, R. L. F.; CASTRO, E. A.; LAGO, O.; SOCCOL, V. T. Experimental bovine infection with *Taenia saginata* eggs: recovery rates and cysticerci location. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n. 4, p. 451-455, 2002.
31. MONTERO, E.; GONZÁLEZ, L. M.; PUENTE, S.; GÁRATE, T. Diagnóstico de teniasis humanas mediante PCR-multiplex. **Medicina Clínica**, Barcelona, v. 120, n. 1, p. 37-39, 2003.

32. NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 7 ed. São Paulo: Livraria Atheneu, 1990. 462p.
33. NEVEU-LEMAIRE, M. **Traité d'helminthologie médicale et vétérinaire**. Paris: Vigot Frères, 1936. 1514 p.
34. NUNES, C. M.; DIAS, A. K. K.; DIAS, F. E. F.; AOKI, S. M.; PAULA, H. B.; LIMA, L. G. F.; GARCIA, J. F. *Taenia saginata*: differential diagnosis of human taeniasis by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay. **Experimental Parasitology**, v. 110, n. 4, p. 412-415, 2005.
35. NUNES, C. M.; LIMA, L. G. F.; MANOEL, C. S.; PEREIRA, R. N.; NAKANO, M. M.; GARCIA, J. F. *Taenia saginata*: polymerase chain reaction for diagnosis in human fecal samples. **Experimental Parasitology**, v. 104, n. 1-2, p. 67-69, 2003.
36. OIE - WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. Manual of standards diagnostic tests and vaccines [on line], 2004. Disponível em: [http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A\\_00127.htm](http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00127.htm) Acesso em: 26 de nov. 2006.
37. PESSOA, S. B.; MARTINS, A. V. **Parasitologia médica**. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 872p.
38. REY, L. **Parasitologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 695p.
39. SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 2 ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989.
40. SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221 p.
41. SANTOS, I. F. O *Cysticercus bovis* (forma larvar da *Taenia saginata*) pode infectar o homem? **Higiene Alimentar**, v.10, n.44, p.13-14, 1996.
42. SILVA, A. C.; SILVEIRA, L. S.; SANTOS, A. S. O.; LEMOS, L. S.; MATOS, W. R.; MOREIRA, L.; CARVALHO, E. C. Q. Cisticercose (*Cysticercus cellulosae*) canina generalizada. **Ciência Animal Brasileira**, v. 5, n. 4, p. 195-198, 2004.
43. SILVA, A. V. M. Teníase e Cisticercose. In: NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 8.ed. São Paulo: Livraria Atheneu, 2005. 462p.
44. SINGH, B. Molecular methods for diagnosis and epidemiological studies of parasitic infections. **International Journal for Parasitology**, v. 27, n. 10, p.1135-1145, 1997.

45. SOMERS, R.; DORNY, P.; NGUYEN, V. K.; DANG, T. C. T.; GODEERIS, B.; CRAIG, P. S.; VERCRUYSSSE, J. *Taenia solium* taeniasis and cysticercosis in three communities in north Vietnam. **Tropical Medicine and International Health**, v. 2, n. 1, p. 65-72, 2006.
46. STERBA, J.; DYKOVÁ, I. Tissue reaction of the skeletal muscles of cattle both to a spontaneous and experimental infection with *Cysticercus bovis*. **Folia Parasitologica** (Praha), v. 25, n. 4, p. 347-354, 1978.
47. STERBA, J.; DYKOVÁ, I.; MACHNICKA, B. Tissue reaction in the heart of cattle with a spontaneous and artificial *Cysticercus bovis* infection. **Folia Parasitologica** (Praha), v. 26, n. 1, p. 27-33, 1979.
48. THEIS, J. H.; CLEARY, M.; SYVANEN, M.; GILSON, A.; SWIFT, P.; BANKS, J.; JOHNSON, E. DNA-confirmed *Taenia solium* cysticercosis in black bears (*Ursus americanus*) from California. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 4, n. 55, p. 456-458, 1996.
49. VARGAS-PARADA, L.; MERCHANT, M. T.; WILLMS, K.; LACLETTE, J. P. Formation of calcareous corpuscles in the lumen of excretory canals of *Taenia solium* cysticerci. **Parasitology Research**, v. 85, n.2, p. 88-92, 1999.
50. YAMASAKI, H.; ALLAN, J. C.; SATO, M. O.; NAKAO, M.; SAKO, Y.; NAKAYA, K.; QIU, D.; MAMUTI, W.; CRAIG, P. S.; ITO, A. DNA differential diagnosis of taeniasis and cysticercosis by multiplex PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 2, p. 548-553, 2004.

## **CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A classificação dos cisticercos em etapas relativas ao processo de interação parasito-hospedeiro bovino pode contribuir para o conhecimento da patogenicidade da cisticercose bovina, assim como, poderá possibilitar o estabelecimento de parâmetros mais criteriosos para aplicação nos estudos epidemiológicos sobre a infecção provocada experimentalmente ou em infecções naturais em animais inspecionados ou em estudos que verificam a viabilidade infecciosa dos cisticercos nos animais abatidos de acordo com o tratamento empregado, seja ele baseado na concentração salina, no congelamento de carcaças e suas partes ou na avaliação da ação de drogas antihelmínticas específicas, como também, nos trabalhos que visam o diagnóstico da cisticercose fundamentados na resposta imunológica do hospedeiro ou na presença do DNA nas lesões cisticercóticas.

Acredita-se que o critério de classificação dos cisticercos fundamentado na ausência, na presença e na intensidade de alterações histopatológicas, como executado no presente trabalho, atenda à sistematização que se faz necessária aos preceitos da patologia veterinária. Entretanto, se houver interesse que a classificação dos cisticercos atenda, reciprocamente, aos postulados biológicos que permeiam os estudos epidemiológicos, seria conveniente que o critério patológico que classifica os cisticercos em quatro etapas do processo de interação parasito-hospedeiro, seja reformulado para cinco etapas, subdividindo-se a Etapa Vesicular (EV) em: Etapa Vesicular Imatura (EVI) e Etapa Vesicular Madura (EVM), para que assim, todas as fases macroscopicamente identificáveis possam ser categorizadas. Este novo modelo de sistematização classificatória dos cisticercos encontrados em bovinos permitiria que a viabilidade infecciosa dos cisticercos fosse contemporizada às características morfológicas e que as etapas classificatórias sejam relacionadas de modo a compreender melhor os eventos ocorridos durante um determinado surto de cisticercose.

Os resultados obtidos no presente estudo quanto à identificação por PCR dos cisticercos de bovinos revelaram que, embora na maioria das vezes os diagnósticos parasitológicos executados pelos fiscais federais agropecuários do

SIF estejam corretos, atenção especial deve ser empregada nos casos de cisticercos que são encontrados em etapas relativamente mais adiantadas do processo de interação parasito-hospedeiro bovino (EGN), principalmente, quando os cisticercos estejam localizados nos corações.

Apesar da praticidade incontestável do diagnóstico parasitológico macroscópico, há de se reconhecer que este tipo diagnóstico tem suas limitações. Além disso, as exigências crescentes em relação às questões de segurança alimentar determinam que a modernização tecnológica ultrapasse o âmbito dos equipamentos e dos serviços de controle de qualidade das indústrias frigoríficas e alcance a qualificação dos serviços prestados à saúde pública pelo SIF. Desta forma, a exemplo do que já existe em outros países, sugere-se que o Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA) (ou a divisão técnica-administrativa de maior competência) busque estabelecer um programa com o objetivo de monitorar a precisão e a especificidade do diagnóstico parasitológico da cisticercose bovina através de classificação anátomo-histopatológica mais abrangente em relação às etapas classificatórias e de identificação espécie-específica por PCR dos cisticercos considerados como suspeitos ou atípicos.

Esta sugestão pode parecer inadequada quando se analisa somente a finalidade precípua do serviço de inspeção no controle da cisticercose, ao tentar impedir que as pessoas sejam infectadas pela *T. saginata* através da ingestão de carne bovina infectada pelo *C. bovis*. No entanto, o estabelecimento de um programa como este poderá subsidiar com dados importantes o controle epidemiológico da cisticercose, não só nas fronteiras do serviço de inspeção de carnes dentro dos estabelecimentos de abate, mas porque, poderá também beneficiar indiretamente aos produtores, que constituem importante elo neste complexo epidemiológico, pois excetuando as pessoas portadoras de teníase que laboram em outras atividades, seriam eles, os produtores e os seus funcionários, o segmento da sociedade mais prejudicado por esta enfermidade, que além do risco à saúde ao qual eles também estão expostos são também atingidos economicamente ao dividirem, de forma injusta, todo o ônus do controle sanitário desta zoonose com o MAPA. Zoonose esta, cujo pivô epidemiológico é o homem.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)