

# INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE CÃES COM CORAÇÃO DE BOVINO PARASITADO POR SARCOCYSTIS SP. \*

Saemi OGASSAWARA\*\*  
Tamara NIKITIN\*\*\*  
Carlos Eduardo LARSSON\*\*\*  
Maria Helena M. Akao LARSSON\*\*\*  
Omar Jaques M. BARBUTO\*\*\*\*  
Mitika K. HAGIWARA\*\*\*

RFMV-A/7

OGASSAWARA, S.; NIKITIN, T.; LARSSON, C.E.; LARSSON, M.H.M.A.; BARBUTO, O.J.M.; HAGIWARA, M.K. *Infecção experimental de cães com coração de bovino parasitado por Sarcocystis SP.* Rev.Fac.Med.Vet.Zootec.Univ.S.Paulo, 15 (1): 51-58, 1978

**RESUMO:** Oito cães, sem raça definida, de ambos os sexos e de diferentes idades foram utilizados para a infecção experimental, por via digestiva, com coração cru de bovino, contendo *Sarcocystis sp.* Seis destes animais receberam apenas uma vez, corações de bovinos obtidos de matadouro, enquanto que os outros dois animais receberam, durante 6 dias consecutivos, corações de bovinos adquiridos de feiras livres. Cinco outros animais, foram mantidos como controles. A eliminação de esporocistos nas fezes dos cães alimentados com material de matadouro ou de feira livre, observada a partir do 10º dia, confirmou a infecção desses animais. O período de patência observado foi de 59 dias na infecção única e 73 e 89 dias na infecção múltipla (esta última observação feita somente em 2 animais). As dimensões máximas, mínimas e médias de 100 esporocistos foram de 14,1 – 16,7 x 9,3 – 11,1  $\mu\text{m}$  e  $\bar{x} = 15,0 \times 10,7 \mu\text{m}$ . Este resultado veio confirmar a observação anterior de que os esporocistos presentes em 5,8% de fezes dos cães na cidade de São Paulo eram esporocistos de *Sarcocystis*, espécie *Sarcocystis cruzi* (*S. fusiformis*).

**UNITERMOS:** *Sarcocystis sp.*; Infecção experimental, cães; coração, bovinos\*.

## INTRODUÇÃO

Os protozoários do gênero *Sarcocystis* spp., requerem obrigatoriamente 2 hospedeiros para completar o seu ciclo evolutivo<sup>2</sup>. Assim, os estádios sexuais, oocis-

tos e esporocistos, desenvolvem-se no intestino delgado de carnívoros (hospedeiros definitivos), quando estes ingerem as formas encistadas do *Sarcocystis* presentes na musculatura de hospedeiros intermediários<sup>17</sup>. Por outro lado, os estádios

\* Trabalho apresentado no XI Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, São Paulo, outubro de 1974.

\*\* Professor Assistente Doutor.  
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.

\*\*\* Professor Assistente.  
Departamento de Patologia e Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.

\*\*\*\* Professor Livre-Docente.  
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.

assexuais (esquizontes e sarcocystis), desenvolvem-se nos hospedeiros intermediários após a ingestão de esporocistos eliminados nas fezes de hospedeiros definitivos<sup>3,9</sup>.

O *Sarcocystis* spp., é comumente encontrado parasitando músculos esquelético e cardíacos de muitas espécies de mamíferos, aves e répteis<sup>28</sup>, sendo o cão considerado hospedeiro definitivo para *Sarcocystis* de várias espécies animais como bovinos<sup>3,10,17,27</sup>, ovinos<sup>3,27</sup>, suínos<sup>3,15,27</sup>, equinos<sup>4,26</sup> e bubalinos<sup>1</sup>.

Trabalhos recentes tem demonstrado a patogenicidade de algumas espécies de *Sarcocystis*. Assim, a infecção experimental de bovinos e de ovinos com esporocistos de origem canina tem resultado em doença com manifestações clínicas, aborto e morte<sup>13,14,19,20,24</sup>. A doença e consequente morte de bovinos por sarcocistose tem sido observada também em condições naturais<sup>12,23</sup>.

Em trabalho anterior (OGASSAWARA e cols.<sup>25</sup>) verificamos a ocorrência de esporocistos de *Sarcocystis* sp., nas fezes de cães de diferentes idades, raças, de ambos os sexos, provenientes de diferentes áreas da cidade de São Paulo. Foram encontrados esporocistos em 9 (5,8%) dos 155 exames de fezes de cães realizados.

Dando continuidade a esta pesquisa, no presente trabalho objetivamos verificar se bovinos infectados com *Sarcocystis* sp. poderiam ser a fonte de infecção responsável pela presença dos esporocistos nas fezes de cães, tentando, desta maneira, estabelecer uma relação bovino - cão como hospedeiros intermediário e definitivo, respectivamente.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Animais utilizados no experimento:** no presente trabalho foram utilizados 13 cães, sem raça definida, de diferentes idades (cerca de 2-3 anos), de ambos os sexos, procedentes do Centro de Controle de Zoonoses da Prefeitura do Município de São Paulo. Esses animais foram alimentados desde a chegada ao nosso laboratório até o fim do experimento, com ração granulada comercial e suas fezes foram examinadas

semanalmente, durante 2 meses, a fim de se assegurar a ausência de infecção prévia por *Sarcocystis* sp..

**Material infectante:** foram utilizados corações de bovinos obtidos de matadouro e corações adquiridos de feiras livres, os quais foram administrados aos animais logo após a chegada ao nosso laboratório. A presença de *Sarcocystis* sp., nas fibras cardíacas foi confirmada através exames microscópico a fresco, após a coloração pelo método de Giemsa e exame de cortes histopatológicos de fragmentos de músculos cardíacos, corados pelo método de Hematoxilina Eosina. *Sarcocystis* sp. estava presente em todos os corações por nós adquiridos. O parasita nas fibras cardíacas era alongado e dividido em compartimentos apresentando uma delgada membrana cística (Fig. 1). As dimensões máximas e mínimas de 100 cistos foram de 172-500 x 50-131  $\mu$ m, em material a fresco. Quarenta cistos com as características descritas, porém mais arredondados mediram em exame a fresco, 112-425 x 62-181  $\mu$ m.

**Métodos de exame:** a infecção dos cães foi pesquisada pelo exame de fezes empregando-se as técnicas de concentração por flutuação em solução saturada de açúcar (d = 1,266) e pela técnica de centrifugação em água-éter (FERREIRA e cols.<sup>11</sup>).

**Inoculação experimental:** a 6 cães foram administrados uma única vez, cerca de 500 g de corações recém coletados de matadouro, moídos e homogeneizados. Igualmente, 2 outros animais receberam todos os dias, durante 6 dias, diferentes corações, recém adquiridos em diversas feiras livres.

Cinco cães foram mantidos como controles, recebendo apenas a ração granulada.

A comprovação da infecção nesses animais foi feita através o exame diário das fezes pelas técnicas já referidas.

## RESULTADOS

Os 6 cães que receberam somente uma vez corações de bovinos provenientes de matadouro começaram a eliminar esporocistos

nas fezes, a partir do 10º dia após a administração. Dois destes animais mantidos em observação eliminaram esporocistos em suas fezes por um período de 59 dias.

Os 2 cães que receberam durante 6 dias, corações de bovinos adquiridos nas feiras, também eliminaram esporocistos à partir do 10º dia após a primeira administração e continuaram a eliminar um deles por 73 dias e o outro por 89 dias.

Os 5 cães testemunhos não infectados mantiveram-se sempre negativos.

Os esporocistos observados nas fezes eram incolores, elípticos, esporulados, contendo 4 esporozoítas, sem corpúsculo de Stieda, sem micrópila e com um corpúsculo residual. Apresentavam-se como esporocistos livres ou aos pares, unidos por uma delgada membrana, sendo as formas de esporocistos livres as mais frequentes (Fig. 2).

As dimensões máximas e mínimas de 100 esporocistos eram de 14,1-16,7 x 9,3-11,1  $\mu\text{m}$  e a dimensão média foi de 15,0 x 10,7  $\mu\text{m}$ .

## DISCUSSÃO

Os cistos encontrados no músculo cardíaco eram alongados, divididos em compartimentos e de membranas delgadas, concordando com a descrição dada por TADROS e LAARMAN<sup>28</sup>, sugerindo ser a espécie *Sarcocystis cruzi* (Hasselman, 1926) Wenyon, 1926 (*S. fusiformis*, Railliet, 1897)<sup>21</sup>, para a qual o cão representa o hospedeiro definitivo.

TADROS e LAARMAN<sup>28</sup> registraram a presença de 100% de *Sarcocystis* acima descrito, infectante para o cão, nos corações de bovinos na Holanda. Resultado similar tem sido observado por nós nos corações de bovinos abatidos em São Paulo. Da mesma forma, no presente trabalho foi verificado que esse *Sarcocystis* encontrado no coração bovino, é infectante para o cão. Foi observado também que tanto a administração única (coração procedente de matadouro), quanto a múltipla (coração procedente de feiras livres) revelaram que independentemente da forma de administração bem como de

conservação dos cistos, o período de pré-patência foi de 10 dias, concordando neste aspecto ao obtido por HEYDORN e ROMMEL<sup>17</sup>. Esta observação chama a atenção para o fato de que os corações adquiridos de feiras livres mantem-se infectantes por um período de tempo não definido, mesmo onde eventualmente não estejam sendo conservados em condições desejáveis. Desta maneira, verifica-se o alto potencial de infecção dos corações obtidos em feiras livres e fornecidos aos cães em condições naturais. Ainda, FAYER<sup>6</sup>, conseguiu infectar cães com carne moída adquirida de supermercados e com corações moídos de bovinos mantidos em condições de refrigeração por 3 dias.

Através as características morfológicas e dimensionais dos esporocistos observados no presente experimento, constatou-se a identidade com os encontrados em trabalho anterior (OGASSAWARA e cols.<sup>25</sup>) (13,0-16,7 x 10,4-11,1  $\mu\text{m}$  x = 15,0-10,8  $\mu\text{m}$ ) e com os de HEYDORN e ROMMEL<sup>17</sup> (13,9-17,0 x 6,2-10,8  $\mu\text{m}$  x = 15,9 x 8,3  $\mu\text{m}$ , MAHRT<sup>22</sup> (14,8-17,3 x 8,7-9,9  $\mu\text{m}$  x = 16,0 x 9,8  $\mu\text{m}$ ) e FAYER<sup>5</sup> (14,2-20,6 x 9,2-12,8  $\mu\text{m}$  x = 15,5 x 9,9  $\mu\text{m}$ ), demonstrando tratar-se do mesmo agente infectante.

O período de eliminação dos esporocistos, ou seja o seu período de transmissibilidade, manteve-se de acordo com os achados de HEYDORN e ROMMEL<sup>17</sup>, uma vez que foi de 59<sup>57</sup> dias na infecção única e 73 e 89 dias nas múltipla<sup>71</sup>. Embora não se tenha uma explicação definitiva para esta persistência na eliminação dos esporocistos, FAYER<sup>5</sup> sugere, baseando-se no seu experimento, diferença de linhagem e dose infectante de *Sarcocystis*. Todavia, TADROS e LAARMAN<sup>28</sup>, explicam afirmando que a localização profunda dos oocistos no tecido intestinal, faz com que haja um deslizamento gradual dos mesmos para o lumen intestinal, resultando conseqüentemente, no período de patência relativamente longo.

Embora o período de patência seja relativamente longo, a eliminação de esporocistos foi intermitente à partir do 10º a 12º dias após a infecção experimental, fato este observado também por FAYER<sup>7</sup>.

Verificou o mesmo autor que os cães que receberam cerca de 454 e 568 g de corações de bovinos naturalmente infectados, eliminaram cerca de 861.000 e 3.764.000 esporocistos por animal, respectivamente, durante os 40 dias de observação. Constatou também grande eliminação de esporocistos 15 - 30 dias após a ingestão do material infectante. Sugere ainda, que o período de patência longo pode conduzir a uma disseminação maior de esporocistos em uma dada área, se os cães perambulam, por outro lado, se os cães estão confinados, esse fato pode resultar em uma concentração maciça de esporocistos em uma área restrita.

Muito embora FAYER<sup>7</sup> em seu estudo surgira a possibilidade de uma contaminação alta do meio ambiente com esporocistos de *Sarcocystis* sp., responsável pela infecção de bovinos, estudos mais aprofundados seriam necessários a fim de esclarecer o real papel do cão e de outros animais na cadeia epidemiológica de transmissão da sarcocistose, particularmente no caso de sistemas de criação extensiva de bovinos, existentes nas nossas condições, onde praticamente 100% dos corações coletados em matadouro apresentaram-se parasitados.

## CONCLUSÃO

Os esporocistos eliminados pelos cães alimentados com coração de bovino parasitado por *Sarcocystis* sp. concordam com os observados em cães naturalmente infectados.

Dentre as vísceras, os corações com *Sarcocystis* sp., sob condições naturais de conservação pelo frio mantem a infectividade para os cães.

O cão desempenha no nosso meio o papel de hospedeiro definitivo para uma das espécies de *Sarcocystis* encontrada em bovinos, o *Sarcocystis cruzi* (*S. fusiformis*).

## AGRADECIMENTO

Agradecemos aos Professores Adayr Mafuz Saliba, Mario Mariano, do Departamento de Patologia e Clínica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Jorge Guerrero Ramirez, Professor Colaborador do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, pela cooperação prestada na realização do presente trabalho.

RFMV-A/7

OGASSAWARA, S.; NIKITIN, T.; LARSSON, C.E.; LARSSON, M.H.M.A.; BARBUTO, O.J.M.; HAGIWARA, M.K. *Experimental infection of dogs with Sarcocystis sp. infected heart of bovine*. Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 15 (1): 51-58, 1978

**SUMMARY:** Eight mongrel of both sexes and different ages were used for experimental infection by digestive route with heart containing *Sarcocystis* sp. Six animals received once raw bovine heart obtained at the slaughter house. The other two animals received during six days bovine heart acquired at open markets. Five other dogs in the same conditions were kept as non-infected controls. Shedding of sporocysts in the faeces of the experimentally infected dogs starting on the tenth day confirmed the infection of the animals. In the single infection the patent period was 59 days and in the multiple infection was 73 and 89 days (in this case the observation was made only in 2 animals). One hundred sporocysts measured 14, 1-16, 7  $\mu$ m x 9,3-11,1  $\mu$ m ( $\bar{x}$  = 15,0 x 10,7  $\mu$ m). This result confirmed our prior observation demonstrating that sporocysts present in 5,8% of dogs faeces in the city of São Paulo were sporocysts of *Sarcocystis*, species *Sarcocystis cruzi* (*S. fusiformis*).

**UNITERMS:** *Sarcocystis* sp.; Infection, dogs\*; Heart, bovines\*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - DISSANAIKE, A.S.; KAN, S.P.; RETNABA-PATHY, S.; BASKARAN, G. Demonstration of the sexual phases of *Sarcocystis fusiformis* (Railliet, 1897) and *Sarcocystis* sp. of the water buffalo (*Bubalus bubalis*) in the small intestines of cats and dogs. *Trans.Roy.Soc.Trop.Med.Hyg.*, 71 (3): 271, 1977.
- 2 - DUBEY, J.P. A review of *Sarcocystis* of domestic animals and other Coccidia of cats and dogs. *J.Amer.Vet.Med.Assoc.* 169 (10): 1061-78, 1976.
- 3 - DUBEY, J.P. & STREITEL, R.H. Shedding of *Sarcocystis* in feces of dogs and cats fed muscles of naturally infected food animals in the Midwestern United States. *J. Parasitol.*, 62 (5): 828-30, 1976.
- 4 - DUBEY, J.P.; STREITEL, R.H.; STROMBERG, P.C.; TOUSSANT, M.J. *Sarcocystis fayeri* sp.n. from the horse. *J. Parasitol.* 63 (3): 443-7, 1977.
- 5 - FAYER, R. Development of *Sarcocystis fusiformis* in the small intestine of the dog. *J.Parasitol.*, 60 (4): 660-5, 1974.
- 6 - FAYER, R. Effects of refrigeration, cooking, and freezing on *Sarcocystis* in beef from retail food stores. *Proc.Helminthol.Soc. Wash.*, 42 (2): 138-40, 1975.
- 7 - FAYER, R. Production of *Sarcocystis cruzi* sporocysts by dogs fed experimentally infected and naturally infected beef. *J. Parasitol.*, 63 (6): 1072-5, 1977.
- 8 - FAYER, R. & JOHNSON, A.J. Development of *Sarcocystis fusiformis* in calves infected with sporocysts from dogs. *J. Parasitol.*, 59 (6): 1135-7, 1973.
- 9 - FAYER, R. & JOHNSON, A.J. *Sarcocystis fusiformis*: development of cysts in calves infected with sporocysts from dogs. *Proc. Helminthol.Soc. Wash.*, 41: 105-8, 1974.
- 10 - FAYER, R.; JOHNSON, A.J.; HILDEBRANDT, P.K. Oral infection of mammals with *Sarcocystis fusiformis* bradyzoites from cattle and sporocysts from dogs and coyotes. *J.Parasitol.*, 62 (1): 10-4, 1976.
- 11 - FERREIRA, L.F.; MORTEO, R.E.; SILVA, J.R. Padronização de técnicas para exame parasitológico das fezes. *J.Bras.Med.*, 6: 241-57, 1962.
- 12 - FRELIER, P.; MAYHEW, I.G.; FAYER, R.; LUNDE, M.N. Sarcocystosis: a clinical outbreak in dairy calves. *Science*, 195: 1341-2, 1977.
- 13 - GESTRICH, V.R.; SCHMITT, M.; HEYDORN, A.O. Pathogenität von *Sarcocystis tenella* Sporozysten aus den fäzes von Hunden für Lammer. *Berl.Münch. Tierärztl. Wschr.*, 87: 362-3, 1974.
- 14 - GESTRICH, R.; HEYDORN, A.O.; BAYSU, N. Experimental differentiation of various species of *Sarcocystis fusiformis* and *Sarcocystis tenella*. *Berl.Münch. Tierärztl. Wschr.*, 88: 201-4, 1975.
- 15 - GOLUBKOVAN, D.I. & KISLIAKOVA, Z.J. The sources of infection for swine *Sarcocystis*. *Veterinariia*, 11: 85-6, 1974.
- 16 - HEYDORN, A.O. & GESTRICH, R. Contributions to the life - cycle of the Sarcosporidia. VII. Developmental stages of *Sarcocystis ovis* in sheep. *Berl.Münch. Tierärztl. Wschr.*, 89 (1): 1-5, 1976.
- 17 - HEYDORN, A.O. & ROMMEL, M. Contributions to the life-cycle of the Sarcosporidia. II. Developmental stages of *S. fusiformis* in the alimentary tract and in the faeces of dogs and cats. *Berl.Münch. Tierärztl. Wschr.*, 85 (7): 121-3, 1972.
- 18 - JOHNSON, A.J.; HILDEBRANDT, P.K.; FAYER, R. Experimentally induced *Sarcocystis* infection in calves: pathology. *Amer.J.vet.Res.* 36: 995-9, 1974.
- 19 - LEEK, R.G. & FAYER, R. Studies on ovine abortions and intra-uterine transmission following experimental infection with *Sarcocystis* from dogs. Fourth Congreso Latino-americano de Parasitologia, 4º San José, Costa Rica, Dec. p.8-11, 1976.
- 20 - LEEK, R.G.; FAYER, R.; JOHNSON, A.J. *Sheep experimentally infected with Sarcocystis* from dogs. I. Disease in young lambs. *J.Parasitol.*, 63 (4): 642-50, 1977.
- 21 - LEVINE, N.D. Nomenclature of *Sarcocystis* in the ox and sheep and of fecal coccidia of the dog and cat. *J.Parasitol.*, 63 (1): 36-51, 1977.
- 22 - MAHRT, J.L. *Sarcocystis* in dogs and its probable transmission from cattle. *J.Parasitol.*, 59 (3): 588-9, 1973.
- 23 - MEADS, E.B. Dalmeny disease - another outbreak - probably Sarcocystosis. *Can Vet.J.*, 17 (10): 271, 1976.

- 24 - MUNDAY, B.L.; BARKER, I.K.; RICKARD, M.D. The developmental cycle of a species of *Sarcocystis* occurring in dogs and sheep, with observations on pathogenicity in the intermediate host. *Z.Parasitenk.*, 46: 111-23, 1975.
- 25 - OGASSAWARA, S.; LARSSON, C.E.; LARSSON, M.H.M.A.; HAGIWARA, M.K.; GOUVEIA, G. Ocorrência de esporocistos de *Sarcocystis* sp., em cães na cidade de São Paulo. *Rev.Microbiol.*,(São Paulo), 8 (1): 21-3, 1977.
- 26 - ROMMEL, M. & GEISEL, O. Research into the incidence and the life cycle of a *Sarcocystis* species of the horse (*Sarcocystis equicanis* n.spec.). *Berl.Munch. Tierarztl. Wschr.*, 88: 468-71, 1975.
- 27 - ROMMEL, M.; HEYDORN, A.O.; GESTRICH, R. Contributions to the life - cycle of the Sarcosporidia. V. Additional final hosts for the Sarcosporidia of cattle, sheep and pigs and the significance of the intermediate host for the epizootiology of this parasitosis. *Berl.Munch. Tierarztl. Wschr.*, 87: 392-6, 1974.
- 28 - TADROS, W. & LAARMAN, J.I. *Sarcocystis* and related coccidian parasites: a brief general review, together with a discussion on some biological aspects of their life cycles and a new proposal for their classification. *Acta Leidensia*, 44: 1-107, 1976.

Aprovado para publicação em 04.09.1978.

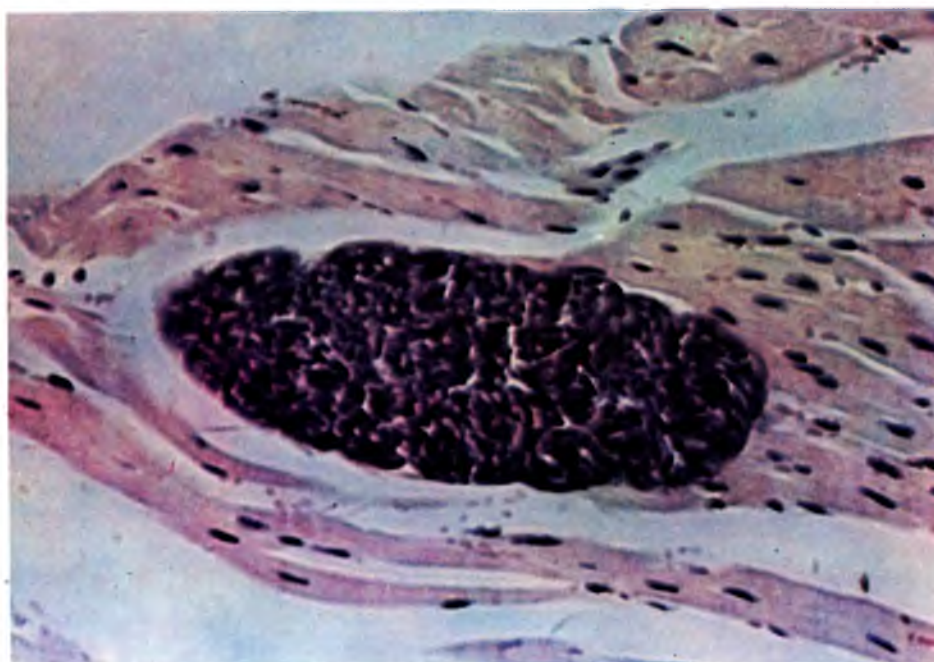


FIGURA 1 – Cisto de *Sarcocystis* sp., na musculatura cardíaca de bovino; corte histológico corado pelo H.E. (Objetiva 16).

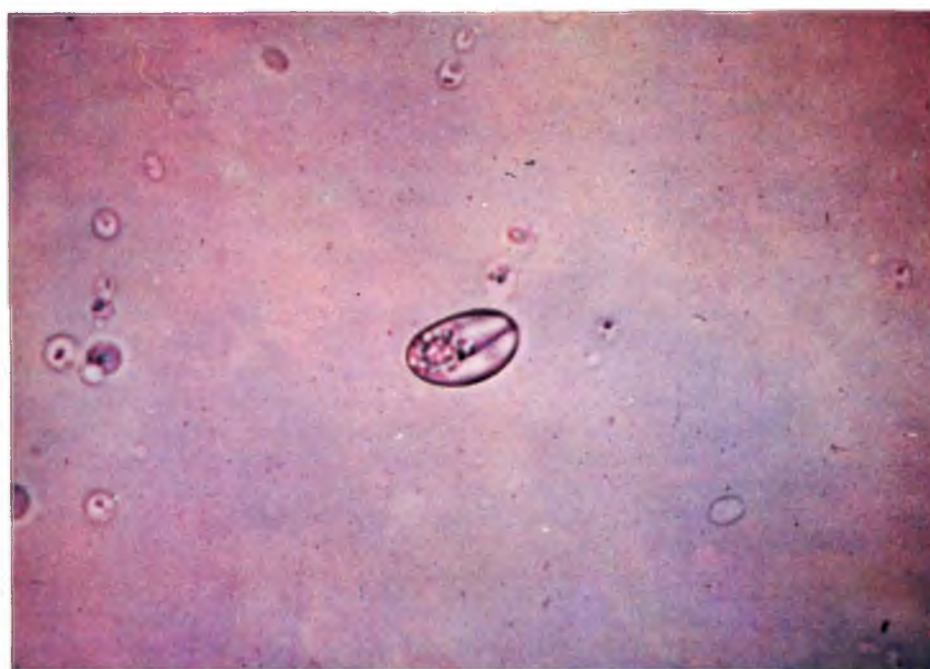


FIGURA 2 – Esporocisto de *Sarcocystis* sp. nas fezes de cães (Objetiva 40).