

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
TROPICAL

AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DE LESÕES MACROSCÓPICAS
CAUSADAS POR PARASITAS NA INSPEÇÃO DE BOVINOS EM
FRIGORÍFICOS

NÁDIA REGINA STEFANINE

Dissertação apresentado para obtenção do título de Mestre junto ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal Tropical da Universidade Federal do Tocantins.

Área de Concentração: Produção Animal

ARAGUAÍNA

2013

NÁDIA REGINA STEFANINE

**AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DE LESÕES MACROSCÓPICAS
CAUSADAS POR PARASITAS NA INSPEÇÃO DE BOVINOS EM
FRIGORÍFICOS**

**Dissertação apresentado para obtenção do
título de Mestre junto ao Programa de Pós-
graduação em Ciência Animal Tropical da
Universidade Federal do Tocantins.**

Área de Concentração: Produção Animal

Comitê de orientação

Orientador: Prof. Dr. Adriano Tony Ramos

Co-orientadora: Prof(a). Dr(a). Viviane

Mayumi Maruo

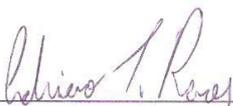
Co-orientador: Prof. Dr. Marcello Otake

Sato

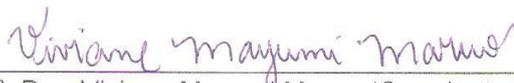
**ARAGUAÍNA
2013**

AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DE LESÕES MACROSCÓPICAS
CAUSADAS POR PARASITAS NA INSPEÇÃO DE BOVINOS EM
FRIGORIFICOS

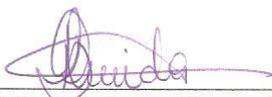
NÁDIA REGINA STEFANINE



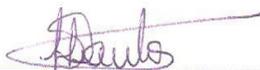
Prof. Dr. Adriano Tony Ramos (Orientador) - UFT



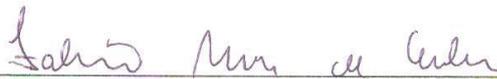
Prof.^a Dra. Viviane Mayumi Maruo (Co-orientadora) -UFT



Prof.^a Dra. Katyane Sousa Almeida - UFT



Prof.^a Dra. Helcileia Dias Santos - UFT



Prof. Dr. Fabiano Mendes de Cordova - UFT

ARAGUAÍNA
2013

*Dedico este trabalho a Deus, sempre presente em minha vida,
À minha mãe Elizabeth,
Às minhas irmãs Vanessa e Juliana,
Aos meus sobrinhos e sobrinhas Karoline, Giovana, Enzo e Igor e
Aos meus amigos (inúmeros).*

Agradecimentos

A Deus por mostrar o melhor da vida ainda nos piores momentos, por ser minha força e meu refúgio.

A minha família que mesmo distante sempre permaneceu compartilhando seu amor, seu carinho e seu apoio.

Aos professores do programa de Pós-graduação em Ciência Animal Tropical, por permitirem minha inserção no meio científico.

Ao meu orientador Dr. Adriano Tony Ramos pela sabedoria, bom senso e extremo companheirismo em todos os momentos, seu apoio foi fundamental neste trabalho, obrigada por tudo sempre.

Ao meu co-orientador Dr. Marcello Otake Sato e aos amigos e amigas de sua equipe em Palmas: Alessandra, Felipe, Rodolfo, Danuta, Kledir, Nivaldo, pelo apoio e ótimos momentos compartilhados.

A minha amiga Danielle Mendonça pelo companheirismo em horas infundáveis de estudo e Daniela Coimbra por momentos de apoio.

As minhas companheiras Gilzelle, Elis Regina, Liana, Obede, Laiane, Daiene e Nahuria do Laboratório de Patologia que se transformaram em família fora de casa, me dando apoio e sempre uma palavra amiga.

A Dr^a. Domenica Palomaris por sua orientação e compreensão em momentos difíceis.

As maravilhosas companheiras de iniciação científica: Katharine, Priscila, Juliana e Jayne que muito contribuíram para esse momento (trabalhadoras incansáveis).

Aos companheiros de caminhada Lázaro, Bruno e Leonardo.

Aos meus mais que amados amigos e companheiros do Colégio Santa Cruz que sempre apoiaram e compartilharam este sonho, além da compreensão dos meus amados alunos.

A todos os amigos da turma de mestrado 2011 pelos momentos que passamos juntos.

Aos médicos veterinários do serviço de inspeção federal Dr. José Josivaldo Antunes e Dr. Fredson Cândido pelo imprescindível apoio.

A todos que de alguma forma colaboraram com a realização deste trabalho.

OBRIGADA!

***“There’s no place like home “
Dorothy- O mágico de Oz***

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE TABELAS	10
CAPÍTULO I	11
Avaliação histopatológica de lesões macroscópicas causadas por parasitas na inspeção de bovinos em frigoríficos	11
RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.2 Esofagostomose	17
2.3 Cisticercose	20
2.4 Hidatidose	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
CAPÍTULO II	27
Alterações microscópicas observadas em infestações por <i>Oesophagostomum sp.</i> em bovinos.....	27
RESUMO.....	28
ABSTRACT.....	29
2.1 INTRODUÇÃO	30
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	32
2.2.1 Coleta de amostras	32
2.2.2 Processamento de amostras.....	32
2.2.3 Histoquímica da mucosa intestinal	32
2.2.4 Contagem de células mucosas (caliciformes).....	33
2.2.5 Caracterização do infiltrado inflamatório.....	33
2.2.6 Análise estatística	34
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
CAPÍTULO III	44
Diferenciação entre lesões de cisticercose e hidatidose com uso de histopatologia.....	44
RESUMO.....	45
ABSTRACT.....	46
3.1 INTRODUÇÃO	47
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	49
3.4 CONCLUSÃO	53
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II	27
Figura 1 – Células mucosas Alcian Blue pH 1,0 ,Alcian Blue pH 2,5,Azul de Toluidina,PAS,PAS e Alcian Blue 2,5 (A,C,E,G,I – grupo controle) e (B,D,F,H,J – grupo afetado) – M.O – objetiva 40X.....	36
Figura 2 – Infiltrado inflamatório na mucosa intestinal – H.E e Sirius Red Presença de linfócitos, macrófagos, eosinófilos, plasmócitos (A – grupo controle, B – grupo afetado) grânulos de proteína básica no interior dos eosinófilos (C- grupo controle, D - grupo afetado) – M.O – objetiva 40x.	37
CAPÍTULO III	44
Figura 1 - A – Corpúsculos mineralizados (C.M), necrose (N) e infiltrado inflamatório (I.I) em lesão de cisticercose em fígado bovino - HE obj. 40x. B – Membrana germinativa (M.G), restos de liquido hidático (L.H) em lesão de hidatidose em fígado bovino – PAS obj. 40x	51

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II	27
Tabela 1 – Número de células calciformes do grupo afetado (com <i>Oesophagostomum sp.</i>) e controle (sem <i>Oesophagostomum sp.</i>) em cada padrão histoquímico (PAS; alcian blue pH 1,0; alcian blue pH 2,5 e azul de toluidina).....	37
Tabela 2 – Número de células calciformes do grupo afetado (com <i>Oesophagostomum sp.</i>) e controle (sem <i>Oesophagostomum sp.</i>) para a coloração associada entre PAS e Alcian Blue pH 2,5	38
Tabela 3 – Correlação de Spearman dos grupos controle e experimental (n=146)	38
Tabela 4 – Correlação de Pearson dos grupos controle e experimental (n=146) ...	39
CAPÍTULO III	44
Tabela 1 – Valores totais de condenações macroscópicas de cisticercose e hidatidose por órgãos no período de coleta de 10/2011 a 12/2012.....	50
Tabela 2 – Distribuição de condenações macroscópicas de hidatidose e cisticercose por regiões administrativas.....	51
Tabela 3 – Relação entre condenação macroscópica e histopatológica das lesões de cisticercose e hidatidose período de coleta de 10/2011 a 12/2012 – 90 amostras.	52

CAPÍTULO I

**Avaliação histopatológica de lesões macroscópicas causadas por parasitas
na inspeção de bovinos em frigoríficos**

RESUMO

Avaliação histopatológica de lesões macroscópicas causadas por parasitas na inspeção de bovinos em frigoríficos

A pecuária de corte no Brasil enfrenta problemas que diminuem a produtividade do setor, dentre os fatores que mais afetam essa atividade produtiva destacam-se as parasitoses gastrintestinais com grande relevância. Além dos problemas que causam no campo, outro setor diretamente afetado são os frigoríficos que relatam perdas por lesões parasitárias e algumas com grande expressão como zoonose prevalente como é o caso da cisticercose – *Cysticercus bovis* e hidatidose *Echinococcus granulosus*, que comprometem vísceras e cortes de carne com relevante valor comercial. A esofagostomose dentro deste contexto constitui importância econômica e sanitária, pois afeta o ganho de peso dos animais e para o processo de Inspeção Sanitária os nódulos inflamatórios presentes nos intestinos delgado e grosso de animais acometidos por *Oesophagostomum* sp. obrigam o inspetor federal a direcionar essas vísceras a condenação ou aproveitamento condicional.

Palavras – chave: cisticercose, esofagostomose, hidatidose, histopatologia, parasitoses.

ABSTRACT

Histopathological evaluation of macroscopic lesions caused by parasites in the inspection of cattle in slaughterhouses

The beef cattle in Brazil faces problems that decrease the productivity of the sector, among the factors that affect this activity productive stand out gastrointestinal parasites with great relevance. Besides the problems that cause the field, another sector directly affected refrigerators are reporting losses and some parasitic lesions with great expression as prevalent zoonosis such as cysticercosis - *Cysticercus bovis* and hydatid *Echinococcus granulosus*, which compromise cuts of meat and viscera with significant commercial value. The esofagostomose within this context is an important economic and health as it affects the weight gain of the animals and the process of the Sanitary Inspection inflammatory nodules present in the small and large intestines of animals affected by *Oesophagostomum sp.* compel the federal inspector to direct these viscera to conviction or conditional use.

Key – words: cysticercosis, oesophagostomum infection, hydatid disease, histopathology, parasitosis.

1 INTRODUÇÃO

A pecuária é uma das principais atividades econômicas do Brasil que nos últimos anos, assumiu a posição de maior exportador de carne bovina, além de ser o detentor do maior rebanho bovino comercial do mundo, estimado em 209 milhões de cabeças (IBGE, 2010). No entanto, existem dificuldades econômicas e produtivas enfrentadas pela bovinocultura de corte, no que se refere à sua manutenção e expansão de mercado.

No Brasil, a produção de bovinos de corte é desenvolvida em sua maioria de maneira extensiva, em pastagens tropicais do gênero *Brachiaria* com produtividade sazonal (REZENDE et al. 2011) e alguns fatores são cruciais para perda de produtividade como o manejo inadequado, a alta incidência de parasitoses e a deficiência mineral (BIANCHIN, 1987).

Nesse contexto as infecções causadas por nematódeos gastrintestinais são um grande problema em sistemas de criação de ruminantes, principalmente nas regiões tropicais, podendo causar anemia, perda de peso, diminuição do potencial produtivo e reprodutivo, resultando em perdas na produção (BIANCHIN et al., 2007; LIMA, 1998).

Nesta situação o serviço de inspeção de carnes (*exame post mortem*) constitui uma atividade de extrema importância para detecção de vários tipos de parasitoses, incluindo a cisticercose em situações de infecções leves ou intensas (SOUZA et al., 2007), pois atuam como instrumentos de vigilância epidemiológica possibilitando o rastreamento de áreas incidentes de cisticercose (PARDI et al., 1991; RICCETI et al., 1989).

A inspeção sanitária de carnes realizada em estabelecimentos abatedouros desempenha atividades preventivas de grande relevância para a saúde pública, pois afastam do mercado consumidor carnes impróprias para o consumo ou que possam prejudicar a saúde humana (SANTOS, 2001).

É possível que algumas lesões passem despercebidas levando a resultados falsos negativos, pois o exame não é realizado em áreas com cortes nobres (PINTO; MONTEIRO e MINOZZO, 2006), o que acarretaria mais perdas na lucratividade do frigorífico, por gastos adicionais com exames, tratamento pelo frio, pelo calor ou salga de tais carcaças, que normalmente poderiam ser destinadas ao consumo imediato, se não fossem encontradas tais lesões (COSTA, 2003).

Portanto, o uso de técnicas auxiliares para o diagnóstico de esofagostomose, cisticercose e hidatidose são necessárias e importantes para preparação de inspetores sanitários que desenvolvam um olhar apurado e contribuam para redução dos erros de condenação (ALMEIDA et al., 2006) e por serem importantes na determinação da incidência e prevalência do parasita (GONZALEZ et al. 2000).

O objetivo deste estudo foi avaliar através de técnica histopatológica a estrutura de lesões parasitárias de esofagostomose, hidatidose e cisticercose encontradas em vísceras de animais condenados por exame macroscópico, provenientes de estabelecimentos frigoríficos sob regime de Inspeção Federal.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O Serviço de Inspeção Federal e a detecção de parasitoses

Em relação ao fluxograma de abate de bovinos no Brasil, a inspeção sanitária é realizada por médicos veterinários oficiais na chegada, durante a permanência dos animais no curral (*ante-mortem*) e durante o abate (*post-mortem*). Nas linhas de inspeção de miúdos (coração, pulmões, fígado, pâncreas, baço e bexiga urinária) trabalham os auxiliares organizados em dez pontos estratégicos e os médicos veterinários do Serviço de Inspeção, julgando os órgãos adequados ou não ao consumo humano (PINTO, 1992). As causas de condenações de vísceras são determinadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) desde 1971, e permanecem as mesmas até os dias atuais (BRASIL, 1971).

O diagnóstico macroscópico é essencial para determinar o destino da carcaça, órgãos e vísceras nas linhas de inspeção, pois várias lesões podem ter aspectos semelhantes, provocando falhas de diagnóstico. Nesses casos, deve-se recorrer a exames complementares, como a histopatologia, que pode auxiliar o inspetor na confirmação do diagnóstico presuntivo, favorecendo assim o emprego de medidas sanitárias referentes à saúde humana e saúde animal (ALMEIDA, 2006).

2.2 Esofagostomose

Oesophagostomum sp. é um nematóide (RUDOLPHI, 1803; RAILLIET, 1898) da família Strongilydae, subfamília Oesophagostominae (RAILLIET, 1915).

O verme adulto desenvolve-se na luz do intestino grosso, enquanto que a forma larvária aloja-se na parede do intestino grosso ou delgado, levando à formação de nódulos. Possui características diferenciais como presença de sulco cervical, cápsula bucal curta e cilíndrica ou subglobosa. (FORTES, 2004).

O quadro clínico da esofagostomose bovina segundo Ashiazawa et al. (1985) caracteriza-se por edema na submucosa intestinal, hipersecreção de muco, infiltração de eosinófilos e células plasmáticas com vasculite na submucosa. A migração das larvas para o ceco e cólon é acompanhada pela subsequente muda da terceira para quarta fase, que são acompanhadas por infiltração de eosinófilos na parede intestinal, causando acúmulo deles ao redor e dentro das glândulas mucosas, principalmente na região do cólon com conseqüente formação de micro abscessos e de colite ulcerativa.

De acordo com a descrição de Mayhew (1948) o desenvolvimento da fase histotrófica do *Oesophagostomum* sp. é acompanhada de diarreia caracterizada pelo odor fétido, bem como, pela grande eliminação de muco sanguinolento. O quadro evolui entre a quinta e oitava semana do período de pós-infecção.

A saída de formas adultas do parasita está relacionada à irritação da mucosa intestinal desencadeada pelo mecanismo de hipersensibilidade tipo I, mediada por imunoglobulina E (BREMNER, 1961). Com o agravamento da diarreia tem-se o quadro de anemia, hipoproteinemia e perda de peso (BULMAN et al., 2001).

O organismo animal reage formando um tecido de granulação, fibrose e hiperplasia da mucosa intestinal na tentativa de isolar a lesão, caracterizada como reação de Arthus ou hipersensibilidade tipo III (DURIE; ELLECK, 1966).

Nos trabalhos de Gems e Maizels (1996) e Loukas et al. (1999) utilizando cães experimentalmente infectados com larvas de *Toxocara canis* observou-se que o parasita secreta glicoproteínas de superfície com grande quantidade de proteínas conjugadas a lecitinas do grupo C e que essa substância atua como ligante a carboidratos sinalizadores que induzem a resposta inflamatória ao redor do parasita.

Em um trabalho na Síria a infecção experimental de hamster dourado por *Strongylus venezuelensis* revelou hiperplasia intestinal e aumento de mucinas sulfatadas em relação a uma maior velocidade de expulsão destes vermes onde a estrutura do gel torna-se mais fluida (SHI, 1994).

Por outro lado em experimentos realizados com infecção experimental por *Trichinella spiralis* em ratos verificou-se que os parasitas induziram uma redução no nível de glicosilação e sialização das mucinas em resposta a infecção através do aumento da N-acetilgalactosamina (GalNAc) na região terminal da cadeia de mucina. Através desta adaptação o parasita diminui a resposta imune do seu hospedeiro e acaba por evitar sua expulsão da mucosa intestinal (MILLER, 1996), com isso, como descreveram Theodoropoulos et al. (2001) o parasita pode utilizar a mucina como mecanismo de proteção

O aumento na população de eosinófilos associado com helmintos gastrointestinais já foi relatado também por vários autores em diversas espécies animais (ALDAWEK et al., 2002; KLION e NUTMAN, 2004; ROTHWELL, 1993; STARKE, OAKS, WINTER, 1997).

Em búfalos, Neves e Starke (2005) verificaram que os eosinófilos começaram a aumentar em número já no início da infecção por *Toxocara vitulorum* tanto na cripta como no vilo do duodeno e do jejuno. Estas células continuaram sempre em número elevado durante o pico e durante a fase de expulsão dos parasitas pelos bezerros búfalos, para alcançar o nível do controle após a expulsão dos mesmos.

Nas infecções parasitárias na mucosa intestinal é comum observar-se a ocorrência de eosinofilia, modulada principalmente pela via efetora Th2 mediada pela interleucina-5 (KORENAGA; TADA, 1994; ROTHWELL, 1989), resposta também observada por macrófagos ativados pela mesma via e que nos hospedeiros acaba causando também modificação na resposta a outros parasitas (HOLLAND et al., 2000). Quando esse mecanismo falha na resposta há a atuação de outras células de defesa como neutrófilos, linfócitos e basófilos (CAPRON et al., 1982).

Segundo Nathan (1987), os macrófagos influenciam em muitos aspectos as respostas imunes e inflamatórias, da fase aguda à crônica, desde a primeira lesão do epitélio até o processo de reparação em que os macrófagos estão presentes no

pico da infecção, mas principalmente no período de pós-expulsão ou fase de recuperação da infecção parasitária.

Segundo Starke e Oaks (1999) alguns mastócitos foram visualizados sofrendo o processo de apoptose após o tratamento dos ratos infectados com *Hymenolepis diminuta* como os mastócitos começam a declinar após o pico da infecção, é possível que muitos mastócitos sofram apoptose e precisem ser removidos do local inflamado pelos macrófagos.

Mackenzie et al. (1980), utilizaram *Nippostrongylus brasiliensis* e *Trichinella spiralis* na infecção experimental de bovinos, com isso observaram aumento significativo de fagócitos mononucleares e aumento da morte larvária por ação direta do sistema complemento e eosinófilos dependentes de imunoglobulina G.

2.3 Cisticercose

A teníase é causada pela *Taenia saginata* pertencente à classe Cestoda, família Taeniidae e gênero Taenia, no intestino delgado do ser humano (FORTES, 2004).

O cestódeo adulto varia de 4 a 15m de comprimento e seus ovos entre 25 a 40µm, onde cada proglótide apresenta 100.000 ovos. Seu escólex não possui rostelo nem ganchos, porém é formado por 4 ventosas enquanto que o útero do segmento grávido apresenta de 15 a 35 ramos de cada lado do tronco central (LEITÃO, 1983).

Quando os ovos de tênia são ingeridos pelos bovinos, os embriões (oncosferas) se libertam do ovo no intestino delgado pela ação dos sucos digestivos e da bile. As oncosferas penetram na parede intestinal e, entre 24 a 72 horas, difundem-se no organismo através da circulação sanguínea (GEMMELL; LAWSON, 1983).

Ocorre então a formação de cisticercos nos músculos esqueléticos e cardíaco (GEMMELL et al., 1983). O cisticerco maduro pode ser encontrado em qualquer parte da musculatura estriada e No bovino, é branco acinzentado, com cerca de um centímetro de diâmetro e cheio de líquido, no qual o escoléx, em geral, é nitidamente visível, e também não possui rostelo e ganchos (URQUHART et al, 1998).

2.4 Hidatidose

Echinococcus granulosus é um helminto pertencente ao filo Platyhelminthes, a classe Cestoda, ordem Cyclophyllidea e família Taeniidae. É uma das menores espécies de tenídeos conhecidas. O escólex é subglobuloso e apresenta um rostro com dupla coroa de acúleos grandes e pequenos, seu estróbilo é constituído por três a quatro proglótides e a dimensão desta tênia é de 3 a 6 mm de comprimento por 1 mm de largura (FORTES, 2004; URQUHART et al., 1998).

A larva do *E. granulosus* é chamada de hidátide ou cisto hidático, possui formato mais ou menos esférico, de cor branca e de consistência elástica. A hidátide é uma das formas larvares mais volumosas que se conhece, contrastando com sua forma adulta, que é extremamente pequena quando comparada com outras tênia (FORTES 2004; URQUHART et al., 1998).

Os ovos são eliminados pelas fezes dos cães e contaminam o ambiente, como os pastos. Os hospedeiros intermediários, herbívoros, ingerem os ovos junto com a pastagem. Nestes animais, assim como no homem, há dissolução do embrióforo e a liberação da oncosfera por estímulo do suco gástrico. Assim, a oncosfera é liberada no duodeno do hospedeiro intermediário e com os acúleos atravessa a parede intestinal, caindo na circulação, migrando para os músculos, baço, sistema nervoso central (SNC) e pulmões (DOHMS, 2008).

No fígado, o embrião hexacanto, se transforma em cisto hidático e se aloja nos tecidos isso ocorre quando os cães se alimentam com as vísceras do hospedeiro intermediário e ingerem o cisto com escólex que no duodeno desenvagam-se e se transformam em parasitas adultos em dois meses (DOHMS, 2008).

Em bovinos, os metacestódeos estão localizados predominantemente nos pulmões e mais de 90% contém protoescólex viáveis e infecciosos (ECKERT; THOMPSON, 1995; WORBES, 1992).

A equinococose cística em humanos é descrita como a formação e crescimento de cistos contendo líquido fluido que pode desenvolver-se na cavidade abdominal, coração, ossos, músculos e sistema nervoso (KHURO et al., 2002; MCMANUS et al., 2003), onde o processo de crescimento do cisto é considerado lento e tolerável pelo organismo do hospedeiro (MCMANUS et al., 2003; MORO et al., 1999).

A infecção humana por hidatidose é desencadeada pela relação entre o abate clandestino de bovinos e o consumo das vísceras cruas por cães. Características socioeconômicas e culturais estão entre as principais causas do crescimento descontrolado da população canina e seu contato próximo à população humana (SCHANTZ et al., 1995).

Embora *E. granulosus* tenha sido encontrado em vários carnívoros silvestres na América do Sul, o cão doméstico é o principal responsável pela disseminação da infecção hidática para os demais animais domésticos e para o homem.

A frequência do cisto hidático pode ser diretamente relacionada com a prevalência da equinococose nos cães de determinada região (SANTOS, 1995).

Segundo Santos (1995) no Brasil, o Rio Grande do Sul é o estado que apresenta as maiores taxas da infecção hidática nas espécies animais e no homem, havendo um total de 470 casos de hidatidose cística em humanos reportado no período de doze anos (1973-1984), onde as condições para altas taxas de ocorrência tanto de equinococose como da hidatidose são propícias.

Na Medicina Veterinária a observação de ovos de *Echinococcus sp.* no exame de fezes de cães não possibilita a confirmação da infecção por este agente, pois as outras tênias que parasitam o intestino desses animais podem eliminar ovos com morfologia semelhante. A visualização de proglotes íntegras nas fezes e a análise de sua morfologia podem, por sua vez, confirmar o diagnóstico (MENDES et al., 1990).

Os cistos hidáticos podem ser encontrados em vísceras de animais abatidos para consumo humano e o diagnóstico é geralmente realizado por ocasião do abate ou necropsia (MORO et al., 1997).

Para Pastore (2003) o diagnóstico definitivo dessa enfermidade só pode ser obtido através de análise histopatológica das lesões, e da identificação da espécie.

O cisto hidático apresenta uma cápsula fibrosa fina ou membrana cuticular anista com estratificações (reação do hospedeiro-pericisto) com uma membrana germinativa interna rica em glicogênio (endocisto) e responsável pela formação de vesículas filhas contendo inúmeros escólices que podem se soltar e ficar livres no líquido hidático (areia hidática) (THOMPSON, 1995).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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. São Paulo. **Higiene Alimentar**,v.16,p.51-55,2002.

ALMEIDA, D. O; IGREJA, H. P.; ALVES, F. M. X.; SANTOS, I. F.; TORTELLY, R. Cisticercose Bovina em matadouro frigorífico sob inspeção sanitária no município de Teixeira de Freitas – BA: prevalência da enfermidade e análise anatomopológica de diagnósticos sugestivos de cisticercose. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 13, n. 3, p. 178-182, set./dez. 2006.

ALMEIDA, P. L.; MOREIRA, D. M.; REIS, O. D. Cisticercose Bovina: um estudo comparativo entre animais abatidos em frigoríficos com serviço de inspeção federal e com inspeção municipal. **Higiene Alimentar**. Minas Gerais, v. 19, p. 51- 55. 2006.

ASHIAZAWA, H., MORITOMO, Y.,TATEYAMA, S.,MIYOSHI, M. Pathological findings of oesophagostomiasis in domestic animals. 1: Lesions of field infections of cases in cattle. **Faculty of Agriculture Kyushu Tokei University**.v.4; p.55-64 ,1985.

BIANCHIN, I. Controles estratégicos dos nematódeos gastrintestinais em bovinos de corte no Brasil. **Hora Veterinária**,v.39, p.49-53, 1987.

BIANCHIN, I.; CATTO, J. B.; KICHEL, A. N.; TORRES, R. A. A.; HONER, M. R., The effect of the control of endo-and ectoparasites on weight gains in cross breed cattle (*Bos taurus taurus* X *Bos taurus indicus*) in the central region of Brazil. **Animal Healthy Production**, v. 39, p. 287-296, 2007.

BULLMAN, M.A., PIMENTEL NETO, M. ,FONSECA, A.H. Oesofagostomose experimental em bezerros. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 8.p.47-50, 2001.

BREMNER, K.C. Study of pathogenic factors in experimental bovine Oesophagostomosis. 1: An assessement of the importance of anorexia. **Australian Journal of Agriculture Research**,v.12.p.498-512.1961.

COSTA, R. F. R. **Pesquisa de cisticercose e caracterização das reações inflamatórias em corações de bovinos comercializados na cidade de Nova Friburgo/RJ, inspecionados pelos técnicos de Santos (1976) e do fatiamento. 2003.** 63 f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2003.

DOHMS, M. *Echinococcus granulosus*. Disponível em:
<<http://www.portalfarmacia.com.br/farmacia/principal/conteudo.asp?id=463>>.
Acesso em: 14 dez. 2012.

DURIE, P.H., ELLECK, J., The reaction of calves to helminth infection under natural grazing conditions. **Journal of Agriculture Research**, v.17n.1.p.91-103, 1966.

ECKERT J., THOMPSON R.C.A. *Echinococcus* strains in Europe: a review. **Parasitological Medicine and Parasitology**, v.19, p.1–8, 1988.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**, 4.ed-São Paulo, p.266 – 269, 2004.

GEMMELL, M.A., LAWSON, J.R. Ovine cysticercosis: an epidemiological model for the cysticercosis. I. Free-living egg fase. In: FLISSER, A. et al. **Cysticercosis: present state of knowledge and perspectives**. New York : Academic, p.87-98, 1982.

GEMMELL, M., MATYAS, Z., PAWLOWSKI, Z. et al. **Guidelines for surveillance prevention and control of taeniasis/ cysticercosis**. Geneva - World Health Organization, ed. 207, 1983.

GEMMELL, M.A. A critical approach to the concepts of control and eradication of echinococcosis/hydatidosis and teniasis/cysticercosis. **International Journal of Parasitology**, v.17, n.2, p.465- 472, 1987.

GONZALEZ, L.M., ESTRELLA, M., HARRISON, L.J.S., PARKHOUSE, R.M.E. , ARATE T. Differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia solium* infection by PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v.38.n.2, p.737-744, 2000.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE.
Levantamento sistemático da produção agrícola, indicadores agropecuários, 2011.

KHURROO, M.S. Hydatid disease: current status and recent advances. **Annals Saudi Medicine**, v.22.p.56–64, 2002.

LEITÃO, J. L. S. **Parasitologia Veterinária**, Lisboa, Portugal, 3 ed., v. 2, p. 43-54, 118-122. 1983.

LIMA, W. S. Seasonal infection pattern of gastrointestinal nematodes of beef cattle in Minas Gerais State- Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.74, p.203-214, 1998.

MAYEW, R.L. Studies on bovine gastrointestinal parasites. X. The effects of nodular worm *Oesophagostomum radiatum* on calves during the prepatent period. **American Journal of Research**, v.9.p.30-34, 1948.

MCMANUS, D.P., ZHANG, W., LI, J., BARTLEY, P.B. Echinococcosis. **Lancet**, v.362, p.1295–304, 2003.

MORO, P.L., GILMAN, R.H., VERASTEGUI, M., BERN, C., SILVA, B., BONILLA, J.J. Human hydatidosis in the central Andes of Peru: evolution of the disease over 3 years. **Clinical Infection Disease**, v.29, p.807–12, 1999.

PARDI, M.C., SANTOS, I.F., SOUZA, E.R., PARDI, H.S. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. Editora da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, v.1, ed.2, p.623, 2001.

PINTO, P.S.A., MONTEIRO, L.L., MINOZZO, J.C.A. Influência de diferentes grupos de soros-controle no diagnóstico da Cisticercose Bovina pelo teste Elisa. **Revista Ceres**, v.53, p.574-579, 2006.

REZENDE, P.L.P., RESTLE, J., FERNANDES, J.J.R., PÁDUA, J.T., NETO, M.D.F., ROCHA, F.M. Desempenho e desenvolvimento corporal de bovinos leiteiros mestiços submetidos a níveis de suplementação em pastagem de *Brachiaria brizantha*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 8 p. 231-242, 2011.

RICCETTI, R. V. et al. Investigação epidemiológica sobre as zoonoses de maior constatação em matadouros. I 1. Bovinos. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP**- São Paulo, v. 26, n. 1, p. 61-68. 1989.

SANTOS, F. S., MANO, S. B., TORTELLY, R., SANTOS, M. L. S., SILVA, D. A. S. Estuda da localização do *Cysticercus bovis* em corações de bovinos abatidos sob Inspeção. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.15, n.89, p. 37-44, 2001.

SCHANTZ, P.M., CHAI, J., CRAIG, P.S., ECKERT, J., JENKINS, D.J., MACPHERSON, C.N.L. et al. Epidemiology and control of hydatid disease. In: Thompson R.C.A., Lymbery A.J., editors. **Echinococcosis and Hydatid Disease**. Oxon' CAB publishing.p. 233– 331. 1995

SOUZA, V.K. et. al. Prevalência da cisticercose bovina no estado do Paraná, sul do BRASIL: avaliação de 26.469 bovinos inspecionados no SIF 1710. Seminário de ciências agrárias, Londrina, v.28,n.4,p.675-684, 2007.

THOMPSON, R.C.A. **Biology and a sitematics of Echinococcus**. In: *Echinococcus* and hydatid disease.CAB International, Wallingford,United Kingdom, p 1-50,1995.

URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; DUNN, A. M.; JENNINGS, F. W. **Parasitologia Veterinária**.Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2. ed., p. 106-108, 1998.

WORBES, H. Zum Vorkommen von *Echinococcus granulosus* and *E. multilocularis* in Thuringen. **Angew Parasitology**, v.33, p.193–204, 1992.

CAPÍTULO II

**Alterações microscópicas observadas em infestações por
Oesophagostomum sp. em bovinos**

RESUMO

Alterações microscópicas observadas em infestações por *Oesophagostomum sp.* em bovinos

A identificação da esofagostomose bovina em frigoríficos sob o Serviço de Inspeção Federal é realizada no exame *post mortem* onde se observa as lesões nodulares na superfície de intestinos delgado e grosso. Neste estudo foram avaliados 95 fragmentos de intestinos delgado e grosso condenados pela inspeção macroscópica por possuírem nódulos indicativos da presença do parasita *Oesophagostomum sp.* e 51 fragmentos de intestinos de animais que não apresentaram o parasita como grupo controle. As lesões foram analisadas através da histopatologia com diferentes métodos histoquímicos (alcian blue, azul de toluidina, ácido periódico de Schiff) para avaliação da mucosa intestinal e a atividade secretora das células mucosas, também foi avaliada a natureza do infiltrado inflamatório nas diferentes camadas do epitélio intestinal com o uso de H.E (hematoxilina-eosina) e a presença e distribuição de eosinófilos na mucosa intestinal, pelo método de Sirius Red. Os dados foram correlacionados pelos métodos de Spearman e Pearson e submetidos ao teste t (Student) com significância de $p \leq 0,05$. Os animais do grupo afetado apresentaram maior média de células marcadas para mucina ácida com diferença significativa entre os dois grupos com alcian blue pH 1,0 ($35,09 \pm 11,21$) e alcian blue pH 2,5 ($33,37 \pm 8,82$) quando comparadas ao controle e aos demais tipos de coloração. Já o grupo controle apresentou o valor de ($16,83 \pm 5,20$; $17,54 \pm 3,97$), o que sugere que a presença do parasita induz a uma maior secreção de mucinas ácidas, provavelmente como parte do mecanismo de defesa do hospedeiro.

Palavras-chave: célula mucosa, histologia, mucina, *Oesophagostomum sp.*.

ABSTRACT

Microscopic alterations observed in infections by *Oesophagostomum sp.* in cattle

The identification of bovine esofagostomose slaughterhouses under Federal Inspection Service is held at the post-mortem examination where it is observed nodular lesions on the surface of small and large intestines. This study evaluated 95 fragments of small and large intestines condemned by macroscopic inspection by having nodules indicative of the presence of the parasite *Oesophagostomum sp.* 51 fragments intestines of animals that did not show the parasite as a control group. Lesions were analyzed by histopathology with different histochemical methods (alcian blue, toluidine blue, periodic acid-Schiff) for evaluation of the intestinal mucosa and secretion of mucous cells was also evaluated the nature of the inflammatory infiltrate in the different layers of the intestinal epithelium using HE (hematoxylin-eosin) and the presence and distribution of eosinophils in the intestinal mucosa by the method of Sirius Red data were correlated by the methods of Pearson and Spearman subjected to t-test (Student) with significance at $p \leq 0,05$. The animals in the affected group had higher average of labeled cells for acid mucin with a significant difference between the two groups with alcian blue pH 1.0 (35.09 ± 11.21) and alcian blue pH 2.5 (33.37 ± 8.82) when compared to the control and other types of staining. The control group showed the value (16.83 ± 5.20 , 17.54 ± 3.97), suggesting that the presence of the parasite induces an increased secretion of acid mucins, probably as part of the defense mechanism the host.

Keywords: mucous cell, histology, mucin, *Oesophagostomum sp.*

2.1 INTRODUÇÃO

A esofagostomose é uma doença que se desenvolve preferencialmente no intestino grosso e eventualmente no intestino delgado, este órgão possui amplo contato com substâncias tóxicas e organismos potencialmente patogênicos. Sua defesa inclui vários tipos de barreiras naturais. O epitélio intestinal das porções jejuno e íleo são compostos por uma camada de células de epitélio colunar que se originam da base da cripta (GODLEWSKI et al.,2005).

Esta camada epitelial possui funções específicas: as células absortivas possuem microvilosidades em sua superfície luminal, formando uma borda em escova que amplia a superfície absortiva das células; as células de Paneth possuem grandes grânulos eosinofílicos apicais contendo proteínas microbidas; as células caliciformes estão envolvidas na secreção de muco e as células M facilitam a captura de antígenos (CUVELIER et al., 2001).

Acima da camada epitelial está o glicocálice composto de um complexo de glicoproteínas e mucinas. Esta camada de muco é uma importante barreira física para os patógenos, onde estes organismos ficam presos e são eliminados juntamente com as fezes (THOMPSON et al., 2001).

A submucosa contém tecido conjuntivo juntamente com pequenos vasos sanguíneos, linfáticos e células nervosas do sistema nervoso autônomo do intestino ou plexo de Meissner; as glândulas de Brünner estão presentes na submucosa do duodeno proximal e são glândulas mucosas que secretam íons de bicarbonato, glicoproteínas e pepsinogênio II (CUVELIER et al., 2001; THOMPSON et al., 2001).

O muco com sua textura gel é importante como barreira protetora e com ação lubrificante para o trânsito intestinal (FORSTNER; OLIVER; SYLVESTER , 1995; CORFIELD et al. 2000; GAUDIER et al., 2008). Ele é secretado pelas células caliciformes localizadas nas criptas intestinais ao longo da superfície mucosa, onde forma uma camada gelatinosa que, aderida ao epitélio mucoso, confere uma proteção química contra a agressão ocasionada por antígenos, toxinas e enzimas digestivas existentes no interior da luz intestinal (FINNIE et al.,1995;PRAVDA, 2005; SWIDSINSKI et al., 2007). Possui também propriedades lubrificantes e favorece o trânsito do bolo fecal nos segmentos distais do cólon e reto (FINNIE et al., 1995).

As mucinas são glicoproteínas de alto peso molecular e principal constituinte do muco cuja função é formar uma camada de muco com efeito protetor da mucosa intestinal contra agentes infecciosos e não infecciosos (LESUFFLEUR et al., 1994).

Fostner; Oliver; Sylvester (1995) relataram que as células calciformes podem eliminar mucinas por exocitose simples que se desloca da base para o ápice celular, ou através de um mecanismo composto onde as mucinas ocupam a região mediana da célula e sua liberação é modulada por vários fatores como: hormônios, neuropeptídeos e mediadores inflamatórios derivados de citocinas e lipídios.

As mucinas são glicoproteínas de aspecto visco-elástico, compostas por um esqueleto peptídico com cadeias glicosiladas e não glicosiladas, sendo que as regiões glicosiladas compõem a maior parte do polímero. Ligadas à cadeia são encontradas frações de N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina, fucose, galactose e terminadas em ácido siálico (sialomucinas) ou grupos sulfato (BROCKHAUSEN et al,1998;FOSTNER et al,1995; THORNTON et al., 2008).

O padrão de coloração de mucinas é descrito em: mucinas com radical aldeídico coram-se de vermelho pelo Ácido Periódico de Schiff, já as mucinas carboxiladas ou com radicais sulfatados coram-se fracamente de azul pelo azul de alcian (BANCROFT; STEVENS, 1996; McMANUS, 1946; MOWRY, 1956).

Em trabalho realizado com bovinos infectados experimentalmente com larvas de *Ostertagia ostertagi* as mucinas são as principais glicoproteínas presentes na mucosa intestinal, com o papel de primeira linha de defesa contra infecção do hospedeiro (LI e GASBARRE, 1998).

Dessa forma a caracterização das alterações de mucosa (padrão de secreção de mucinas) e a existência de infiltrado eosinofílico podem associar-se ao diagnóstico macroscópico da esofagostomose, e tornar-se uma importante ferramenta auxiliar para a avaliação da eficiência da inspeção (*post mortem*) em frigoríficos com Serviço de Inspeção Federal.

O objetivo deste estudo foi determinar através de método histológico a correlação entre a presença de nódulos atribuída ao *Oesophagostomum sp.* com alterações na estrutura mucosa intestinal como, por exemplo, enterite e a presença do parasita, com foco na sua localização e estado das larvas nos nódulos e na atividade secretora das células calciformes.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Coleta de amostras

Foram coletadas 95 amostras de fragmentos de intestino delgado e grosso com condenação macroscópica por esofagostomose (grupo experimental) e 51 amostras sem condenação (grupo controle) em frigoríficos-matadouros da microrregião de Araguaína - TO todos sob Serviço de Inspeção Federal. As coletas foram realizadas semanalmente no período de 08/2010 a 04/2011.

Os fragmentos seccionados de 15 centímetros que continham lesões nodulares características de *Oesophagostomum sp.* (grupo afetado) e fragmentos sem lesões (grupo controle) de intestino delgado (duodeno, jejuno, ileo) e grosso (ceco e cólon) foram separados, acondicionados em recipientes contendo solução de formol salino a 10% tamponado e encaminhado ao Laboratório de Patologia Animal da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Tocantins – Campus de Araguaína.

2.2.2 Processamento de amostras

No laboratório cada fragmento foi clivado em formato de meia lua em cortes de aproximadamente 2 mm de espessura totalizando 146 amostras subdivididas em 95 amostras para animais afetados (com a presença do parasita) e 51 animais controle (sem a presença do parasita) e acomodadas em cassetes para histologia, sendo previamente identificados.

Em seguida os cassetes com os materiais foram processados e emblocados rotineiramente. Após desbaste cada bloco foi cortado em micrótomo obtendo-se cortes com 3 µm de espessura, para confecção de lâminas histopatológicas.

2.2.3 Histoquímica da mucosa intestinal

Os cortes em lâminas de microscopia foram encaminhados ao processamento histoquímico com o objetivo de corar os cortes para visualização do infiltrado inflamatório e a natureza das mucinas secretadas pelo epitélio intestinal. Para cada bloco de tecido foram preparadas sete laminas e posteriormente foram executadas as respectivas colorações: Hematoxilina-Eosina, Ácido Periódico de Schiff (PAS), Alcian Blue pH 1,0; Alcian Blue pH 2,5 ; Azul de Toluidina e PAS conjugado a Alcian Blue pH 2,5. Seria bom citar qual o uso de cada coloração.

A técnica de Sirius Red usada para demonstração de grânulos citoplasmáticos em eosinófilos foi modificada de Wehrend et al. (2004) onde as lâminas foram mantidas por 24 horas no corante.

2.2.4 Contagem de células mucosas (caliciformes)

Para contagem de células caliciformes da mucosa intestinal foi utilizada uma ocular milimetrada com uma escala graduada em unidades de 1 / 100 (1 divisão = 0,01 milímetros), acoplada a um microscópio binocular Leica DM 500 em aumento de 40X. Foram selecionadas aleatoriamente dez vilosidades de cada animal representado por uma lâmina. Para a contagem das células analisadas a escala graduada era colocada sobre a vilosidade e, fazia-se a contagem do número de células coradas na região de sobreposição da régua utilizada.

Para cada método de coloração as células foram contadas de acordo com sua marcação histoquímica específicas. Nas lâminas com coloração associada foram contadas de acordo com o padrão diferencial de coloração em: azul (secretoras de mucinas ácidas), vermelha (secretoras de mucinas neutras), roxa e mistas de azul e vermelho (ambas secretoras de mucinas ácidas e neutras).

2.2.5 Caracterização do infiltrado inflamatório

Para caracterização do infiltrado inflamatório foi utilizada a técnica de H.E (Hematoxilina-Eosina) para identificação da reação inflamatória pelo tipo de célula presente (linfócito, plasmócitos, neutrófilo, macrófago); pelo grau de inflamação no tecido (1-discreto, 2-moderado, 3-acentuado); pela localização do parasita no tecido (mucosa, submucosa, muscular ou serosa) e o estado do parasita presente no tecido (íntegro sem formação de abscesso, formação de abscesso e calcificação). Outra técnica utilizada para análise do processo inflamatório foi à marcação de eosinófilos pelo corante Sirius Red (SR), onde os grânulos citoplasmáticos são evidenciados através da reação do radical sulfônico do corante e da proteína básica citoplasmática (MPB) (BOGOMOLETZ, 2005; WEHREND et al.,2004).

Para cada lâmina de eosinófilos marcados por Sirius Red foram feitas cinco fotografias em microscópio ocular Leica (modelo DM 500), com câmera acoplada em aumento de 400x, abrangendo regiões da mucosa na base das criptas, na região média entre vilosidade e cripta e apenas na área da vilosidade. As imagens

foram gravadas em formato Tiff, sem compressão e com dimensões de 2048x1536 (96dpi). Foram estabelecidas as médias de área marcada dos eosinófilos em relação à área de mucosa e as medidas de área foram comparadas entre as imagens do grupo controle e grupo afetado e correlacionados com os demais dados.

2.2.6 Análise estatística

Foi utilizado o programa SAS (Statistical Analysis System) Versão 9.0, o teste de Qui-quadrado e exato de Fisher foram usados para avaliação da dispersão de frequência dos grupos experimentais relacionados ao grau de inflamação no tecido, estado do parasita, localização do parasita e presença de células de defesa. Já o efeito desses grupos experimentais sobre os padrões histoquímicos foi avaliado por análise de variância e teste t-Student a um nível de significância ($p < 0,05$).

Foram utilizadas as correlações de Pearson e Spearman para avaliar o grau de associação de todas as variáveis obtidas nas lâminas experimentais.

Em relação às variáveis não paramétricas na contagem de células de coloração mista PAS e Alcian Blue pH 2,5 submetidos ao teste de normalidade, os valores dos grupos controle e experimental foram submetidos à transformação radicial por não apresentarem normalidade.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir das análises estatísticas das variáveis os resultados foram expressos na correlação da marcação de células e suas respectivas marcações histoquímicas. Na tabela 2 a relação entre dois métodos histoquímicos revelou a marcação diferencial de células mucosas em quatro padrões distintos: mucina neutra (vermelho), mucina ácida (azul), mistura de mucina acida e neutra (roxo) e presença concomitante de mucina acida e neutra (vermelho e azul)

A partir da análise da marcação histoquímica da mucosa do intestino grosso e delgado dos bovinos do grupo controle e afetado pelo *Oesophagostomum sp.* havia célula positiva para a marcação de mucinas ácidas (sulfatadas, sializadas e carboxiladas) na utilização dos corantes Alcian Blue (pH 1,0 e pH 2,5) bem como para mucinas neutras (PAS e Azul de Toluidina).

Na comparação do número de células mucosas, os animais do grupo afetado apresentaram maior média de células marcadas para mucina ácida, com diferença significativa entre os dois grupos ($p < 0,05$) com Alcian Blue pH 1,0 ($35,09 \pm 11,21$) e Alcian Blue pH 2,5 ($33,37 \pm 8,82$) ao grupo controle ($16,83 \pm 5,20$; $17,54 \pm 3,97$), o que sugere que a presença do parasita induz a uma maior secreção de mucinas ácidas provavelmente como parte do mecanismo de defesa do hospedeiro (DEPLANCKE et al., 2000; READ et al., 2005).

Os resultados encontrados sobre aumento na secreção de mucina ácida pelo grupo afetado (Tabela 1) está de acordo com MANJILI et al. (1998), que observou o mesmo aumento significativo de sulfomucinas em porcos infectados com *Trichostrongylus colubriformis*, o mesmo achado foi relatado por NEULANDS, MILLER e JACKSON (1990) em um trabalho com ovelhas previamente imunizadas para *Haemonchus contortus*, demonstrando redução de mucinas neutras e o aumento de mucina ácida.

Um maior número de células mucosas (Azul de toluidina $24,44 \pm 6,67$) em resposta a parasitose intestinal também foi relatada por (NAWA et al., 1994) em um trabalho com infecção experimental de ratos por *Nyponstrongylus brasiliensis* e *Trichinella spiralis*, além do relato de ISHIKAWA, HORII e NAWA, (1993) e ISHIKAWA et al. (1995) ao descrever alterações nas propriedades físico química das mucinas secretadas pelas células mucosas.

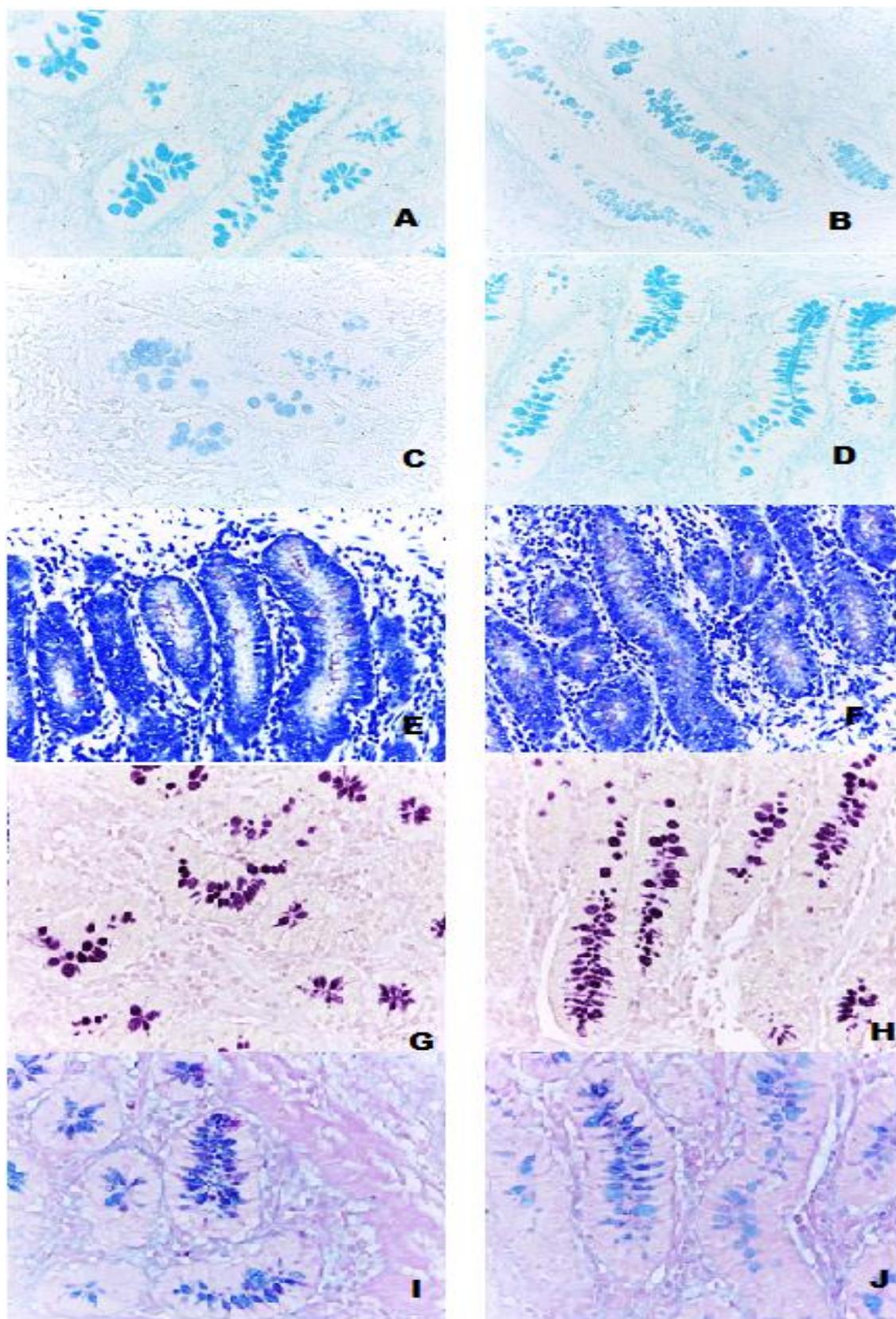


Figura 1 – Células mucosas Alcian Blue pH 1,0 ,Alcian Blue pH 2,5,Azul de Toluidina,PAS,PAS e Alcian Blue 2,5 (A,C,E,G,I – grupo controle) e (B,D,F,H,J – grupo afetado) – M.O – objetiva 40X.

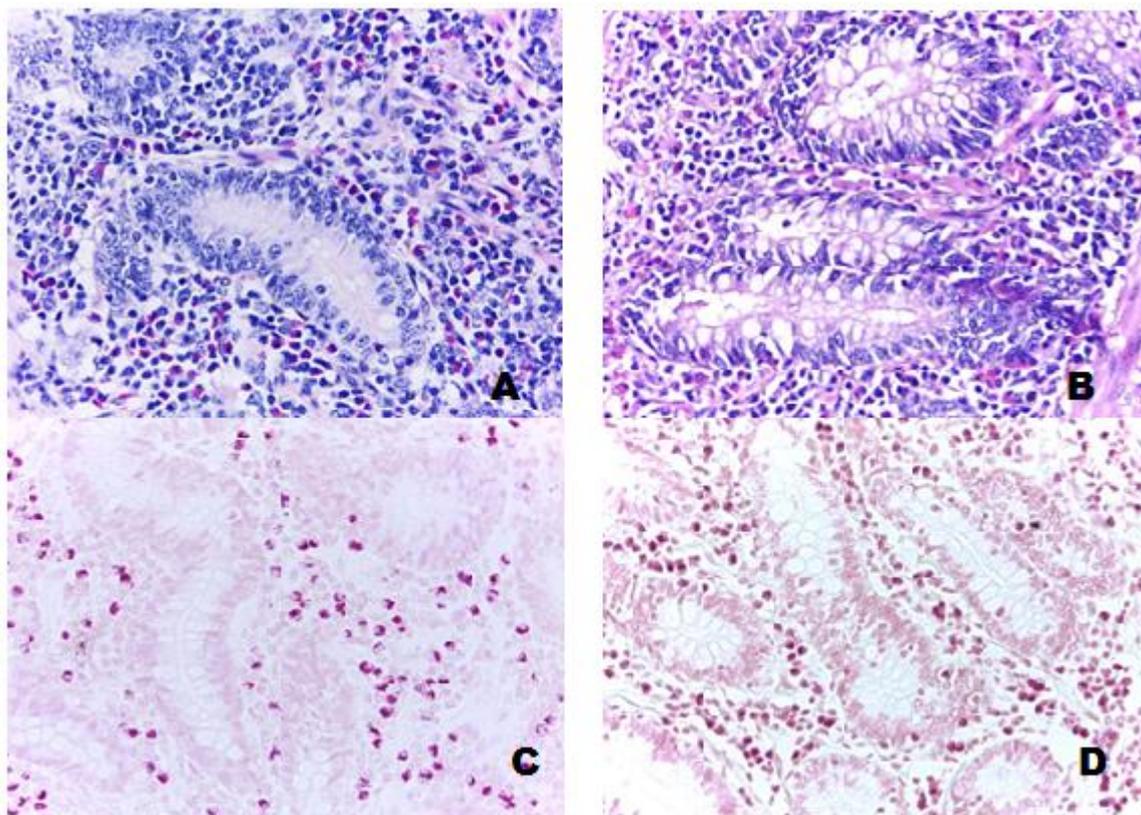


Figura 2 – Infiltrado inflamatório na mucosa intestinal – H.E e Sirius Red ; presença de linfócitos, macrófagos, eosinófilos, plasmócitos (A – grupo controle, B – grupo afetado) grânulos de proteína básica no interior dos eosinófilos (C- grupo controle, D - grupo afetado) – M.O – objetiva 40x.

Tabela 1 – Número de células caliciformes do grupo afetado (com *Oesophagostomum sp.*) e controle (sem *Oesophagostomum sp.*) em cada padrão histoquímico (PAS; Alcian Blue pH 1,0; Alcian Blue pH 2,5 e azul de toluidina)

	Controle	Afetado
PAS	27,99± 5,58 ^a	30,72±7,78 ^b
AB 1,0	16,83±5,20 ^a	35,09±11,21 ^b
AB 2,5	17,54±3,97 ^a	33,37±8,82 ^b
AT	14,40±4,22 ^a	24,44±6,67 ^b

Letras diferentes na mesma linha são estatisticamente diferentes pelo teste t ($p < 0,05$). PAS (Ácido Periódico de Schiff); AB (Alcian Blue); AT (Azul de Toluidina)

Tabela 2 – Número de células caliciformes do grupo afetado (com *Oesophagostomum sp.*) e controle (sem *Oesophagostomum sp.*) para a coloração associada entre PAS e Alcian Blue pH 2,5

	Controle	Afetado
Mucina neutra	5,03 (4,19)*±2,98 ^a	3,70 (20,73)* ±7,68 ^b
Mucina ácida	6,30 (5,38)*±3,24 ^a	20,54 (1,31)*±2,62 ^b
Mucina mista	7,41 (7,07) *±3,59 ^a	6,65 (5,02)*±4,85 ^b
Mucinas ácidas e neutras associadas	5,64 (5,25)*±2,50 ^a	7,71 (1,66)*±5,12 ^b

Letras diferentes na mesma linha são estatisticamente diferentes pelo teste F(p <0,05). * Dados transformados por radiciação $\sqrt{x+1}$

Na comparação entre grupo controle e afetado (tabela 1) observa-se a predominância de mucina ácidas marcadas com Alcian Blue pH 1,0 e pH 2,5 do grupo afetado, enquanto que no grupo controle predominaram as mucinas neutras marcadas com PAS. Quando foram associados dois métodos histoquímicos (tabela 2) foram observados quatro padrões de coloração e a predominância da marcação de células com mucina ácida em azul para o grupo afetado foi novamente observada. Já no grupo controle houve predominância de células caliciformes marcadas em roxo, que secretam mucina ácida e neutra em proporções semelhantes.

Tabela 3 – Correlação de Spearman dos grupos controle e experimental (n=146)

Dados correlacionados	Spearman	ρ
Presença de plasmócitos x presença de macrófago	-0,19	0,0161
Presença de plasmócitos x PASAB2,5AZ	-0,19	0,0166
Local x Estado	0,82	<.0001
Local x PASAB2,5V	0,64	<.0001
Estado xPASAB2,5V	0,62	<.0001
Estado x AZTOL	0,60	<.0001
Estado x AB 2,5	0,62	<.0001

Tabela 4 – Correlação de Pearson dos grupos controle e experimental (n=146)

Dados correlacionados	Pearson	ρ
Número de eosinófilos x área ocupada pelos eosinófilos na mucosa intestinal	0,72	<.0001
PAS AB 2,5V x AB 1,0	0,61	<.0001
AZTOL x AB 10	0,62	<.0001
AB 2,5 x AB1,0	0,61	<.0001

PAS (Acido Periódico de Schiff); AB (Alcian Blue pH 1,0 e pH 2,5); AZTOL (Azul de Toluidina)

Os testes de correlação (tabelas 3 e 4) entre dados paramétricos como número de células mucosas coradas em cada método histoquímico, e dados não paramétricos como presença de plasmócitos e macrófagos no infiltrado inflamatório ao redor da lesão, estado do parasita no tecido e o local do tecido onde o parasita foi encontrado (mucosa, submucosa, muscular ou serosa).

2.4 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados pode-se concluir que a infecção por *Oesophagostomum sp.* no intestino de bovinos estimula o aumento da secreção de mucinas ácidas e aumento do número de eosinófilos na mucosa intestinal em resposta a presença do parasita.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALDAWEK, A.M.; LEVKUT, M.; REVAJOVÁ, V.; KOLODZIEYSKI, L.; SEVEIKOVÁ, Z. DU BINSKY, P. Larval toxocariosis in sheep: the immunohistochemical characterization of lesions in some affected organs. **Veterinary Parasitology**, v.105, n.3, p.207-214, 2002.

BALIC, A. et al. Immunology of gastrointestinal nematode infections in ruminants. **Advances in Parasitology**, n. 45, p.181–241, 2000.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento- MAPA, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, DIPOA, Inspeção de Carnes. Padronização de Técnicas, Instalações e Equipamentos I: Bovinos: currais e seus anexos, sala de matança. Brasília, 1971.**

BOGOMOLETZ, W. Avantages de la coloration par le rouge Sirius de l'amyloïde et des éosinophiles. **Archives of Anatomy and Cytology Pathology**, ed.28, v.4, p. 252-253, 1980.

BROCKHAUSEN, I., SCHUTZBACH, J., KUHNS, W. Glycoproteins and their relationship to human disease. **Acta Anatomy**, v.161, p.36–78, 1998.

CARVALHO, A. T. P.; ELIA, C. C. S.; DE SOUZA, H. S. P. et al. Immunohistochemical study of intestinal eosinophils in Inflammatory Bowel Disease. **Journal of Clinical Gastroenterology**, n.36, v.2, p.120-125, 2003.

CORFIELD, A.P., MYERSCOUGH, N., LONGMAN, R., SYLVESTER, P., ARUL, S., PIGNATELLI, M. Mucins mucosal protection in the gastrointestinal tract: new prospects for mucins in the pathology of gastrointestinal disease. **Gut**, v.47, p.589-594, 2000.

DEPLANCKE, B., HRISTOVA, K.R., OAKLEY, H.A., et al. Molecular ecological analysis of the succession and diversity of sulfate-reducing bacteria in the mouse gastrointestinal tract. **Applied Environment Microbiology**, ed.66, v. 2, p.166–174, 2000.

EGESTEN, A.; CALAFAT, J.; JANSSEN, H. et al. Granules of human eosinophilic leucocytes and their mobilization. **Clinical and Experimental Allergy**, v.31, p.1173-1188, 2001.

FINNIE I.A., DWARAKANATH, A.D., TAYLOR, B.A., RHODES, J.M. Colonic mucin synthesis is increased by sodium butyrate. **Gut**, v.36, p.93-99, 1995.

FORSTNER, J.F, OLIVER, M.G, SYLVESTER, F.A. **Production, structure, and biologic relevance of gastrointestinal mucins.** In: Blaser M.J., Smith P.D.,

Ravdin J.I., Greenberg H.B., Guerrant R.L. Infections of the gastrointestinal tract. New York: Raven Press, p.71–88, 1995.

GANESSUNKER, D., GASKINS, H.R., ZUCKERMANN, F.A., DONOVAN, S.M. Total parenteral nutrition alters molecular and cellular indices of intestinal inflammation in neonatal piglets. **Journal Parenteral and Enteral Nutrition**, v.23, p.337–44, 1999.

GODLEWSKI, M.M., SŁUPECKA, M., WOLIŃSKI, J., SKRZYPEK, T., SKRZYPEK, H., MOTYL, T., ZABIELSKI, R. Into the unknown--the death pathways in the neonatal gut epithelium. **Journal of Physiology and Pharmacology**, n.56, v.3, p.7-24, 2005.

HARRISON, G.B., PULFORD, H.D., GATEHOUSE, T.K., SHAW, R.J., PFEFFER, A., SHOEMAKER, C.B. Studies on the role of mucus and mucosal hypersensitivity reactions during rejection of *Trichostrongylus colubriformis* from the intestine of immune sheep using an experimental challenge model. **International Journal of Parasitology**, v.29, p.459–468, 1999.

HOGAN, S. P. et al. Eosinophils: biological properties and role in health and disease. **Clinical and Experimental Allergy**, Inglaterra, v. 38, p. 709–750, 2008.

KLION, A.D., NUTMAN, T.B. The role of eosinophils in host defense against helminth parasites. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.113, n.1, p.30-37, 2004.

KORENAGA, M., TADA, I. The role of IL-5 in the immune responses to nematodes in rodents. **Parasitology Today**, p.234-236, 1994.

LESUFFLEUR, T., ZWEIBAUM, A., REAL, F.X. Mucins in normal and neoplastic human gastrointestinal tissues. **Critical Review of Oncology and Hematology**, v.17, p.153–180, 1994.

LI, R. W., LI, C., ELSASSET, H., LIU, G., GARRE, T W. M., GASBARRE, L. C. Mucin biosynthesis in the bovine goblet cell induced by *Cooperia oncophora* infection. **Veterinary Parasitology**, v.165, p.281–289, 2009.

LOUKAS, A. C., MULLIN, N. P., TETTEH, K. K. A., MOENS, L., MAIZELS, R. M. A. novel C-type lectin secreted by a tissue-dwelling parasitic nematode. **Current Biology**, v.9, p.825-828, 1999.

LOUKAS, A. C., DOEDENS, A., HINTZ, M. AND MAIZELS, R. M. Identification of a new C-type lectin, TES-70, secreted by infective larvae of *Toxocara canis*, which binds to host ligands. **Parasitology**, v.121, p.545-554, 2000.

MANJILI, M. H., FRANCE, M. P., SANGSTER, N. C., ROTHWELL, T. L. W. Quantitative and qualitative changes in intestinal goblet cells during primary infection of *Trichostrongylus colubriformis* high and low responder guinea pigs. **International Journal for Parasitology**, v.28, p.761-765, 1998.

MCMANUS D.P., BOWLES J. Asian (Taiwan) *Taenia*: species or strain? **Parasitology Today**, ed.10, v.7, p.273-275, 1994.

MCMANUS D.P., ZHANG W., LI J., BARTLEY P.B. Echinococcosis. **Lancet** , v.362, p.1295–1304, 2003.

MILLER, H.R.P. Mucosal mast cells and the allergic response against nematode parasites. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.54, p.331 - 336, 1996.

NAWA, Y., ISHIKAWA, N., TSUCHIYA, K., HORII, Y., ABE, T., KHAN, A. I., BING-SHI, ITOH, H., IDE, H. ,UCHIYAMA, F. Selective effector mechanisms for the expulsion of intestinal helminths. **Parasite Immunology**, v.16, p.333-338, 1994.

NATHAN, C.F. Secretory products of macrophages. **Journal of Clinical Investigation** ,v. 79, p. 319-326, 1987.

NEVES, M.F.; STARKE BUZETTI ,W.A. Alteração populacional de células da camada intraepitelial e alterações morfológicas da parede intestinal causada pela infecção de *Toxocara vitulorum* em bezerros búfalos (*Buballus bubalis*). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.14, n.4, p.133-140, 2005.

NEWLANDS, G. F. J., MILLER, H. R. P., JACKSON, F. Immune exclusion of *Haemonchus contortus* larvae in the sheep: effects on gastric mucin of immunization, larval challenge and treatment with dexamethasone. **Journal of Comparative Pathology**, v.102, p.433-442, 1990.

PINTO, P.S. A.; História e política da inspeção de carnes no Brasil: desafio para as autoridades sanitárias. **Higiene Alimentar**, Belo Horizonte, v. 6, n. 21, p.11-13, 1992.

PRAVDA J. Radical Induction Theory of ulcerative colitis. **World Journal of Gastroenterology**, v.11, p. 2371-2384, 1994.

READ, R. et al. Splendore-Hoeppli phenomenon in the conjunctiva: immunohistochemical analysis. **American Journal of Ophthalmology**, Estados Unidos, v. 140, n. 2, p. 262, 2005.

ROTHWELL, T. L. W. Immune expulsion of parasitic nematodes from the alimentary tract. **International Journal for Parasitology** **19**, 139 -168, 1989.

ROTHWELL, T.L.W. Relationship between eosinophilia an responsive to infection with *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. **Journal for Parasitology**, v.23, n.2, p.203-211, 1993.

SHARMA R.,SCHUMACHER, U. Morphometric analysis of intestinal mucins under different dietary conditions and gut flora in rats.**Digestive Diseases and Science** ,v.40,p.2532–2539, 1995.

SHI, B-B. et al. *Strongyloides venezuelensis* infection in Syrian golden hamster, *Mesocricetus auratus*, with reference to the phenotype of intestinal mucosal mast cells. **Parasite Immunology**, v.16,p.545–551,1994.

STARKE, W.A.;OAKS,J.A. *Hymenolepis diminuta*: Praziquantel removal of result tapeworm in followed by apoptotic down regulation of mucosal mastocytosis. **Experimental Parasitology**, v.92,n.3,p.171-181, 1999.

SWIDSINSKI, A., LOENING-BAUCKE, V., THEISSIG, F., ENGELHARDT, H., BENGMARK, S., KOCH, S., LOCHS, H.,DORFFEL, Y. Comparative study of the intestinal mucus barrier in normal, inflamed colon. **Gut**, v.56, p. 43-350, 2007.

THEODOROPOULOS, G., HICKS, S.J.,CORFIELD, A.P.,MILLER, B.G.,CARRINGTON, S. D. The role of mucins in host–parasite interactions: Part II – helminth parasites. **Trends in Parasitology**, v.17, p.130-135, 2001.

THORNTON, D.J., ROUSSEAU, K., MCGUCKIN, M.A. Structure and function of the polymeric mucins in airways mucus. **Annual Review of Physiology**,v.70 , p.459-486, 2008.

URQUHART,G. M.,ARMOUR, J.,DUNCAN, J. L.,DUNN, A. M.,JENNINGS, F. W. **Parasitologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2. ed., p. 106-108,1998.

WARDLAW, A. J.; MOQBEL, R.; KAY, A. B. Eosinophils: Biology and role in disease. **Advances Immunology**, v.60, p.151-266, 1995.

WEHREND, A. Sirius red is able to selectively stain eosinophil granulocytes in bovine, ovine and equine cervical tissue. **Anatomia, Histologia, Embryologia**, Alemanha, v. 33, p. 180-182, 2004.

CAPÍTULO III

Diferenciação entre lesões de cisticercose e hidatidose com uso de histopatologia

RESUMO

Diferenciação entre lesões de cisticercose e hidatidose com uso de histopatologia

Cisticercose e equinococose são doenças recorrentes em várias partes do mundo e tem impacto na indústria de carne por serem lesões detectadas pelo Sistema de Inspeção Federal que determina as diretrizes para abordagem destas parasitoses no frigorífico. Em algumas situações as condenações de vísceras ou corte cárneos em decorrência destas lesões pode acarretar perdas significativas na indústria de carne, mas há situações em que devido a semelhanças morfológica dos cistos de *Cysticercus bovis* e *Equinococcus granulosus* o inspetor sanitário poderá ter sua determinação dificultada e com isso o destino da carcaça ou víscera pode sofrer alteração. Neste estudo foram avaliados 90 fragmentos de órgão condenados por cisticercose ou hidatidose através de duas técnicas histoquímicas hematoxilina eosina e ácido periódico de Schiff para confirmação ou reclassificação das lesões de cisticercose e hidatidose através de estruturas diferenciais. Entre as 90 lesões: 10 condenações de cisticercose viva foram reclassificadas em duas cisticercoses calcificadas e oito hidatidose, dentre as lesões de cisticercose calcificado oito foram reclassificadas em hidatidose e um caso inconclusivo. Entre as cinquenta e duas lesões atribuídas a hidatidose, seis foram reclassificadas em cisticercose calcificada e duas foram lesões inconclusivas. Como critérios de diferenciação foram atribuídos elementos diferenciais, para cisticercose a presença de corpúsculos calcários ou restos do parasita, e para a hidatidose a presença de membrana germinativa com reação positiva ao PAS e a areia hidática. Métodos histoquímicos e microscopia são ferramentas importantes para uma caracterização precisa e barata de lesões císticas com semelhança macroscópica.

Palavras-chave: lesões císticas, parasitos, inspeção, vísceras.

ABSTRACT

Differentiation between cysticercosis and hydatidosis lesions using histopathology

Cysticercosis and echinococcosis are recurrent disease in many parts of the world and have an impact on the meat industry because these lesions detected by Federal Inspection System that determines the guidelines for addressing these parasites in the refrigerator. In some situations the convictions of viscera or meat cut due to these injuries can cause significant losses in the meat industry, but there are situations where due to morphological similarities of cysts of *Cysticercus bovis* and *Equinococcus granulosus* and the sanitary inspector may have its inaccurate determination and that the fate of the carcass or viscera can be altered. This study evaluated 90 fragments organ convicted of cysticercosis or hydatidosis through two histochemical hematoxylin eosin and periodic acid-Schiff for confirmation or reclassification of lesions of cysticercosis and hydatid disease differentials through structures. Among the 90 lesions: 10 condemnations of living cysticercosis, cysticercosis were reclassified into two eight calcified hydatid disease, cysticercosis among the calcified lesions eight were reclassified in hydatid disease and one case inconclusive. Among the fifty-two lesions attributed hydatidosis, cysticercosis six were reclassified in calcified lesions and two were inconclusive. As differentiating criteria were assigned differential elements, cysticercosis the presence of calcareous corpuscles or leftover of the parasite, and for the presence of hydatid germinative membrane with positive reaction to PAS and hydatid sand. Histochemistry and microscopy are important tools for a precise characterization and inexpensive cystic lesions with macroscopic similarity.

Key words: cystic lesions, parasites, inspection, viscera.

3.1 INTRODUÇÃO

A hidatidose e cisticercose são zoonoses de caráter cosmopolita, com ampla distribuição na América do Sul, leste da África e Europa, Austrália (ACHA e SZYFRES, 1986; QUEIROZ et al., 2000; SCHANTZ et al., 2001) e são responsáveis por condenação de vísceras e cortes no frigorífico, acarretando prejuízos econômicos.

A cisticercose bovina no Brasil é a zoonose de maior ocorrência no exame *post mortem* de bovinos com grande relevância socioeconômica e de Saúde Pública (SANTOS, 1984) e além de envolver vultosos gastos com o tratamento e as condenações de carnes infectadas com *Cysticercus bovis*, acarreta prejuízos para o pecuarista e restringe a comercialização dos frigoríficos, particularmente em relação ao mercado externo (FUKUDA, 1996). Os cistos hidáticos podem ser encontrados em vísceras de animais abatidos para consumo humano; e o diagnóstico é geralmente realizado por ocasião do abate ou necropsia, para Pastore (2003) o diagnóstico definitivo dessa enfermidade só pode ser obtido através de análise histopatológica das lesões e a identificação da espécie.

O cisto hidático (hidatidose) apresenta uma cápsula fibrosa fina membrana cuticular anista com estratificações (reação do hospedeiro-pericisto) com uma membrana germinativa interna rica em glicogênio (endocisto) e responsável pela formação de vesículas filhas contendo inúmeros escólices que podem se soltar e ficarem livres no líquido hidático (areia hidática) (THOMPSON, 1995).

As lesões císticas de cisticercose podem apresentar padrões distintos em relação ao estágio em que se encontra o cisto, em casos de cisticercose viva é possível observar na descrição microscópica a presença do escólex invaginado e líquido preenchendo o cisto (OGUNREMI et al., 2004), em cistos mortos (degenerados) e calcificados o padrão histológico pode ser variável de acordo com o sítio anatômico. Porém a presença de corpúsculos calcários e reação inflamatória granulomatosa (SANTOS, 1984), bem como, áreas de necrose no centro do cisto (abscedação) e presença de histiócitos e linfócitos ao redor da lesão (COSTA et al., 2006).

O exame *post mortem* na inspeção de carnes é um recurso de maior expressão no julgamento e saneamento adequado das carcaças parasitadas (SOUZA et al., 2007).

É possível que algumas lesões possam passar despercebidas, pois o exame não é realizado em áreas com cortes nobres levando a resultados falso negativos (PINTO et al., 2006), o que acarretaria mais perdas na lucratividade do frigorífico, por gastos adicionais com exames, tratamento pelo frio, pelo calor ou salga de tais carcaças, que normalmente poderiam ser destinados ao consumo imediato, se não fossem encontradas tais lesões (COSTA, 2003).

Outros métodos de diagnóstico conferem importância ao serem associadas a lesões macroscópicas que induzam erro de julgamento por parte do inspetor veterinário como actinobacilose (GRACEY & COLLINS, 1992), tuberculose (REIS et al., 1995) e abscessos de origem infecciosa e não infecciosa.

Nestas circunstâncias, o apoio do exame histopatológico pode ser de grande valia na diferenciação de patologias assemelhadas (COSTA et al., 2006), como por exemplo, lesões provocadas pela migração de larvas de helmintos, que não o cisticerco, e até mesmo a tuberculose (KELLY 1997; MONLUX & MONLUX 1972).

O objetivo deste estudo foi determinar através de técnicas histopatológicas comuns (Ácido Periódico de Schiff e Hematoxilina-Eosina) o padrão histológico de cada tipo de lesão parasitária e estabelecer um diagnóstico diferencial entre elas e com isso comparar as causas de condenação macroscópica com os achados histopatológicos.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Tocantins – Campus de Araguaína entre os meses de Outubro de 2011 a Dezembro de 2012, as amostras foram enviadas pelo Serviço de Inspeção Federal (S.I.F) de municípios que compõem seis regiões administrativas na região médio norte do Tocantins e um município da região sudeste do estado do Pará .

Os animais abatidos foram inspecionados pelo médico veterinário responsável e o diagnóstico macroscópico foi realizado pela equipe do SIF durante o exame da língua, masseter, coração, fígado, diafragma, esôfago, pulmão e rim. Os dados de condenação eram anotados em uma planilha própria com a origem do animal, guia de trânsito, município de origem, número de lote e carcaça, órgão condenado e data da condenação.

Os fragmentos congelados de fígado, coração, masseter, rim e pulmão foram acondicionados em caixas de isopor envolvidos em saco plástico transparente com suas respectivas etiquetas de identificação.

Cada cisto nos respectivos órgãos foi seccionado e foram retirados fragmentos de 2-5 mm, posteriormente transferido para pote plástico de 50 ml com tampa em álcool 70%, após três dias de fixação os fragmentos foram encaminhados para processamento e montagem dos blocos em parafina, de cada bloco foram efetuados dois cortes de três micrômetros e estes passaram pelo método histoquímico de hematoxilina eosina e ácido periódico de Schiff separadamente.

Após o processamento histoquímico cada lâmina foi examinada em microscópio de luz para descrição das estruturas formadoras dos cistos e diagnóstico diferencial entre cisticercose e hidatidose, baseado no padrão histológico do cisto. Todos os dados foram submetidos à estatística descritiva.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 90 amostras 52 (57,78%) foram condenadas por hidatidose, 38 (42,22%) por cisticercose, sendo dessas 11,11% vivas e 31,11% calcificadas (Tabela 3). Em relação ao total de órgãos condenados o fígado apresentou maior número de lesões incidentes (90%) seguidos pelo coração (5,55%) e com menor expressão pulmões e rins (2,22%).

Tabela 1 – Valores totais de condenações macroscópicas de cisticercose e hidatidose por órgãos no período de coleta de 10/2011 a 12/2012

Condenação macroscópica (SIF)	Total Geral	%
Fígado	81	90%
Coração	5	5,55%
Pulmão	2	2,22%
Rim	2	2,22%
Total Geral	90	100%

No trabalho de Costa et al. (2012) que em uma pesquisa com 22.043 bovinos, onde foram descritos os valores de cisticercos no seguintes órgãos: coração foi o sitio anatômico mais afetado, com 1,90% (420/22.043), seguido da cabeça, 1,11% (245/22043), do esôfago, 0,08% (18/22043), da carcaça 0,07% (15/22043), do diafragma 0,03% (7/22043), do fígado 0,02% (5/22043) e da língua 0,01% (3/22043).

A discordância de entre os sítios anatômicos pode ser explicada por vários fatores como o fato de que exame do fígado, do esôfago, do diafragma e de seus pilares em relação à cisticercose, não faz parte da rotina de inspeção da maioria dos matadouros de bovinos, pois não constam nas exigências regulamentares.

Observa-se, ainda, a falta de uniformidade nos procedimentos de inspeção *post mortem* e a de técnicas de diferenciação definitiva de lesões nodulares de aspecto arredondado e esbranquiçado, onde várias patologias estão assemelhadas macroscopicamente (COSTA et.al., 2012).

Dentre os 75 municípios de sete regiões que abrangem a região norte do Tocantins e região sudeste do estado do Pará, 15 municípios do Tocantins e um do Pará tiveram condenações por cisticercose, já para nas condenações de hidatidose 7 municípios apenas do Tocantins tiveram relatos de condenação e quando

considera-se as duas parasitoses 15 municípios tocaninenses e 1 paraense tiveram casos reportados. Alguns fatores podem estar relacionados a esta maior incidência nestes municípios de falhas no controle de parasitoses e problemas de infraestrutura nas propriedades rurais que acarretem riscos potenciais de contaminação para os bovinos e humanos.

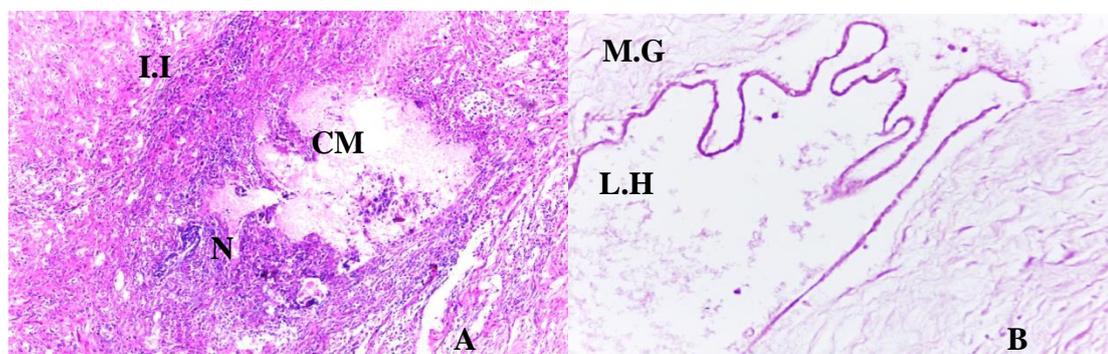


Figura 1- A – Corpúsculos mineralizados (C.M), necrose (N) e infiltrado inflamatório (I.I) em lesão de cisticercose em fígado bovino - HE obj. 40x. B – Membrana germinativa (M.G), restos de líquido hidático (L.H) em lesão de hidatidose em fígado bovino – PAS obj. 40x

Tabela 2 – Distribuição de condenações macroscópicas de hidatidose e cisticercose por regiões administrativas

Regiões Administrativas	MPR	MRCH	MCC	MCH
ARAGUAÍNA - REGIÃO V	10	4	1	3
COLINAS DO TOCANTINS - REGIÃO VI	12	7	0	1
GUARAÍ - REGIÃO VIII	9	2	0	0
SÃO GERALDO - PARÁ - REGIÃO SUDESTE I	22	1	0	0
PEDRO AFONSO - REGIÃO X	7	0	0	1
TOCANTINÓPOLIS - REGIÃO III	10	0	0	2
XAMBIOÁ - REGIÃO IV	5	2	0	0
TOTAL	75	16	1	7

MPR - municípios por região administrativa; MRCH - municípios por regiões administrativas com registro de condenação macroscópica para cisticercose e hidatidose; MCC - municípios com condenação macroscópica por cisticercose; MCH - municípios com condenação macroscópica por hidatidose.

Na descrição microscópica (Tabela 3) percebeu-se nas lesões no fígado à predominância lesões císticas relativas à hidatidose, através da observação da membrana característica germinativa (Figura 2) com reação positiva ao PAS (GOTTSTEIN; REICHEN, 1996), nos resultados obtidos para lesões hepáticas dentre as 52 condenações por hidatidose 44 amostras apresentaram marcação positiva para membrana germinativa com glicogênio (figura 1B) e 6 não reagiram

ao PAS, o que pode estar ligado ao fato que 4 destes cistos apresentavam centro abscedado com infiltração inflamatória moderada ou intensa, 2 cistos continham a membrana anista, mas não a membrana germinativa e 2 cistos apresentaram quadro de necrose, o que poderia ser a causa da degeneração da membrana germinativa resultando como lesão inconclusiva, nenhuma das amostras apresentou o quadro de areia hidática, é possível que a não evidenciação de protoescólices livres no líquido hidático tenha sido prejudicada pelo processamento e pela ruptura do cisto com consequente liberação do seu conteúdo na etapa de processamento, esses resultados são semelhantes aos encontrados por Guo et al.(2011) na descrição do padrão de lesão em bovinos importados da Austrália.

Tabela 3 – Relação entre condenação macroscópica e histopatológica das lesões de cisticercose e hidatidose período de coleta de 10/2011 a 12/2012 – 90 amostras.

CONDENAÇÃO MACROSCÓPICA	DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA					TOTAL
	TOTAL	CV	CC	H	I	
CV	10 (11,11%)	0 (0,0%)	2 (2,22%)	8 (8,88%)	0 (0,0%)	10 (11,11%)
CC	28 (31,11%)	0 (0,0%)	19 (21,11%)	8 (8,88%)	1 (1,11%)	28 (31,11%)
H	52 (57,78%)	0 (0,0%)	6 (6,66%)	44 (48,88%)	2 (2,22%)	52 (57,78%)
TOTAL						90 (100%)

CV (cisticercose viva); CC (cisticercose calcificada), H (hidatidose), I (inconclusivo)

Como a cisticercose, a prevalência da hidatidose no país é conhecida através dos dados registrados pelos Serviços de Inspeção Sanitária. Sendo assim, seu diagnóstico indiscriminado pode superestimá-la em certo local ou momento. Nesta situação o exame histopatológico pode esclarecer dúvidas quanto à natureza e a etiologia dessas lesões, pela visualização de estruturas características: membrana germinativa na hidatidose e corpúsculos calcários na cisticercose (Figura 1A e 1B).

Entretanto, pode haver problemas em determinar o diagnóstico (Tabela 3) neste caso foram reclassificados como inconclusivo, pela evolução do processo de interação parasita-hospedeiro culminando com a não evidenciação dos elementos diferenciais (COSTA et al ,2012), métodos de imunodiagnóstico não são usuais em animais de produção, devido a inúmeras rações cruzadas interespecies, portanto,

a identificação da equinococose só ocorre no momento da evisceração no abate ou ocasionalmente em uma necropsia (YONG ,HEATH ,KNAPEN , 1984).

Em relação à perda ou aproveitamento condicional a condenação de vísceras por hidatidose pode acarretar em maior perda econômica, porém em casos de cisticercose o julgamento do inspetor veterinário determina o destino da víscera ou corte.

3.4 CONCLUSÃO

O uso de técnicas histopatológicas na diferenciação de lesões de cisticercose e hidatidose mostraram-se eficiente a partir da observação de elementos diferenciais e pode tornar-se uma importante ferramenta na determinação da incidência destas parasitoses a partir de avaliação dos animais pelo Serviço de Inspeção.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHA, P. N. SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comuns al hombre y a los animales**. 2. ed.. Washington: OPAS, 1986. 989 p.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Regulamento da 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, 1980. 174p
- CARLTON, W. W.;McGAVIN, M. D. **Patologia Veterinária Especial de Thomson**. Porto Alegre, RS. Artes Médicas Sul Ltda., ed.4, p. 438,1998..
- COSTA, R. F. R. Pesquisa de cisticercose e caracterização das reações inflamatórias em corações de bovinos comercializados na cidade de Nova Friburgo/RJ, inspecionados pelos técnicos de Santos (1976) e do fatiamento. 2003. 63 f. **Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal)** - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2003.
- COSTA R.F.R., SANTOS I.F., NASCIMENTO E.R.,TORTELLY R. Caracterização das reações inflamatórias em corações de bovinos comercializados na cidade de Nova Friburgo/RJ. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**. v.13, n.2, p.76-79, 2006.
- COSTA R.F.R.,SANTOS I. F., SANTANA A. P., TORTELLY R., NASCIMENTO E.R., FUKUDA R.T., CARVALHO E.C.Q., MENEZES R. C. Caracterização das lesões por **Cysticercus bovis**, na inspeção *post mortem* de bovinos, pelos exames macroscópico, histopatológico e pela reação em cadeia da polimerase (PCR). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32,n.6.p.477-484, 2012.
- ECKERT J, SCHANTZ P, GASSER R. Geographic distribution and prevalence. In: Eckert J., Gemmell M.A, Meslin F.X, Pawlowski Z.S, editors. **WHOI/OIE Manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern**. Paris: World Organization for Animal Health; pp. 100–141., 2001.
- FUKUDA, R. T.; SANTOS, I. F.; ANDRADE, C. R. Estudo comparativo entre técnica de inspeção do diafragma para o diagnóstico de cisticercose bovina: documento de trabalho. São Paulo, 1996.
- GRACEY J., COLLINS D.S. **Meat hygiene**,Ballie`reTindall, London, UK..9.ed., 1992.
- GOTTSTEIN B, REICHEN J. Echinococcosis/hydatidosis. In: Cook GC, ed. **Manson's tropical diseases**, 20th ed. London: Saunders; p. 1486-1508, 1996.
- GUO Z. H.; KUBO M.; KUDO M.; NIBE K.; HORII Y.; NONAKA N. Growth and genotypes of **Echinococcus granulosus** found in cattle imported from Australia and fattened in Japan. **Parasitology International**, v.60, p.498–502, 2011.

KELLY W.R. The liver and biliary system: helminthic infections of liver and bile ducts, p.319-406. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (Eds), **Pathology of Domestic Animals**, v.2, ed.4, Academic Press, San Diego. p. 747, 1997.

MINOZZO, J. C., GUSSO, R. L. F., CASTRO, E. A., LAGO O., SOCCO V. T. Experimental bovine infection with *Taenia saginata* eggs: recovery rates and cysticerci location. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, Tecpar. v. 45, n. 4, dez. 2002.

MONLUX S.W., MONLUX A.W. **Atlas of Meat Inspection Pathology**. Department of Agriculture, Washington, DC. 1972.

OGUNREMI O., MACDONALD G., GEERTS S., BRANDT J. Diagnosis of *Taenia saginata* - Cysticercosis by Immunohistochemical Test on Formalin-Fixed and Paraffin-Embedded Bovine Lesions. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, n.16,v.438, 2004.

PASTORE, R. et al. Hidatidose policística: relato de dois casos procedentes de Sena Madureira, Acre, na Amazônia brasileira. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 36, n. 1, jan. 2003.

PINTO P.S.A., MONTEIRO L.L.; MINOZZO J.C.A. Influência de diferentes grupos de Soros-controle no diagnóstico da Cisticercose Bovina pelo teste Elisa. **Revista Ceres**. v.53, p.574-579, 2006.

QUEIROZ, R. P. V.; SANTOS, W. L. M.; BARBOSA, H. V. et al. A importância do diagnóstico da cisticercose bovina. **Revista Higiene Alimentar**, v. 14, p. 12-15, 2000.

REIS D.O.; ALMEIDA L.; FARIA A.R. Estudo comparativo entre linfossarcoma, tuberculose e linfadenites inespecíficas ocorridas em bovinos abatidos e a confirmação histológica. **Higiene Alimentar**, n.35, p.28-30, 1995.

SANTOS I.F. **Diagnóstico da cisticercose bovina em matadouros: novas técnicas de exame de esôfago e diafragma**. Tese de Doutorado, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, 127p, 1984.

SCANDRETT, W. B., HAINES, D. M., PARKER, C. S. E., Y. ROBINSON, Y., FORBES, L. B., BRAND, T J., GEERT, S S., DORNY, P., GAJADHAR, A. A., Validation of an immunohistochemical assay for bovine cysticercosis, with comparison to a standard histological method. **Veterinary Parasitology**, v.186, p.301– 311, 2012.

SCHANTZ, P.M., CRUZ, M., SARTI, E. et al. La erradicabilidad potencial de la teniasis y la cisticercosis. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana** , v.116, n.5, p.465-469, 1994.

SCHANTZ P.M, CHAI J., CRAIG P.S., ECKERT J., JENKINS D.J., MACPHERSON C.N.L., et al. Epidemiology and control of hydatid disease. In: THOMPSON R.C.A,

LYMBERY A.J, editors. **Echinococcosis and Hydatid Disease**. Oxon' CABI publishing, p. 233– 331, 1995.

SOUZA, V.K. et. al. Prevalência da cisticercose bovina no estado do Paraná, sul do BRASIL: avaliação de 26469 bovinos inspecionados no SIF 1710. Seminário de ciências agrárias, Londrina, v.28, n.4, p.675-684, out./dez.2007.

THOMPSON R.C.A. Biology and a systematics of *Echinococcus*. In: ***Echinococcus and hydatid disease***.CAB International, Wallingford, United Kingdom, p 1-50, 1995.

YONG W., HEATH D., KNAPEN F.V. Comparison of cestode antigens in an enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of *Echinococcus granulosus*, *Taenia hydatigena* and *Taenia ovis* infections in sheep. **Research in Veterinary Science**,v. 36, p.24–31. 1984.