

DIAGNÓSTICO DE *Sarcocystis gigantea* EM OVINOS NO SUL DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

GABRIELLE TORRES COTTA DE MELLO; SIMONE VIEGAS SALLIS; MARTA DE SANTOS MORAES; EDENARA ANASTÁCIO; JULIA LIGNON; FELIPE PAPPEN.

Universidade Federal de Pelotas - gabitem99@gmail.com
Universidade Federal de Pelotas - esvsallis@yahoo.com.br
Universidade Federal de Pelotas - vetmartamoraes@yahoo.com.br
Universidade Federal de Pelotas - edenara_anastacio@hotmail.com
Universidade Federal de Pelotas - julialignon@gmail.com
Universidade Federal de Pelotas - felipe.pappen@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

Sarcocystis spp. é um coccídio, intracelular obrigatório, de ciclo heteroxeno ou indireto, com necessidade de pelo menos dois hospedeiros. Existem mais de 100 espécies pertencentes à família Sarcocystidae que infectam mamíferos, aves, marsupiais e animais poiquilotérmicos (DUBEY et al., 2006), e apesar das diferenças no ciclo de vida e patogenicidade das mesmas, a formação de sarcocistos nos hospedeiros intermediários é uma característica comum no gênero. O tamanho dos sarcocistos pode variar e estes são frequentemente encontrados no esôfago, diafragma e músculo cardíaco. Em ovinos foram identificadas quatro espécies: *S. gigantea*, *S. medusiformis*, *S. tenella* e *S. arieticanis* (PIPIA et al., 2016).

Cabe destacar a importância de *S. gigantea* na ovinocultura, pois, mesmo com pequeno potencial patogênico a presença de cistos nos músculos e vísceras provoca perdas econômicas devido a condenação parcial ou total de carcaças em abatedouros (MARTINEZNAVALON et al., 2012). Esta espécie é conhecida também como *S. ovifelis*, onde os gatos são os hospedeiros definitivos, enquanto os ovinos são os hospedeiros intermediários (DAMBORIARENA et al., 2016).

O objetivo do presente trabalho é relatar a identificação morfológica e molecular, por meio de PCR, de *S. gigantea* em carcaças ovinas de criação extensiva, condenadas pela inspeção municipal no sul do estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

2. METODOLOGIA

Foram encaminhados ao Laboratório Regional de Diagnóstico, da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), fragmentos refrigerados de cabeça, língua, esôfago, coração, fígado e músculo provenientes de quatro carcaças ovinas condenadas no abatedouro municipal de Santa Vitória do Palmar, Rio Grande do Sul. Os animais eram criados de forma extensiva em campo nativo. Durante a inspeção foram observadas estruturas císticas nodulares, brancas, com formato oval a arredondado, disseminadas no esôfago (Figura 1). Amostras foram colhidas e enviadas ao laboratório do Grupo de Estudos em Enfermidades Parasitárias (GEEP) da UFPEL, para identificação. Para tanto, realizou-se a identificação molecular de *Sarcocystis* spp. por meio de PCR. As extrações de DNA foram efetuadas com o kit comercial ID Gene™ Spin Universal Extraction Kit para tecidos, de acordo com as instruções do fabricante. As amostras de DNA foram quantificadas em espectrofotômetro de luz UV (Thermo Scientific NanoDrop

Lite Spectrophotometer, Waltham, Massachusetts, EUA), para avaliar a qualidade, medindo a sua pureza (260 nm/280 nm), utilizando amostras que variavam entre 1,8 e 2,2, e a concentração em nanogramas por microlitros (ng/μL), que foram armazenadas a -20°C até à realização da PCR. Para identificar a presença de DNA de *Sarcocystis*, os iniciadores utilizados foram os seguintes: SARCO F (CGCAAATTACCCAATCCTGA 5'-3') e SARCO R (ATTTCTCATAAGGTGCAGGAG 5'-3') amplificando um fragmento de aproximadamente 700 pb do gene 18S rRNA, de acordo com Ferreira (2018). Nas reações, foram utilizados 2,0 μL de DNA (50 ng) e a mistura contendo 2,0 μL de dNTP (2,5mM), 0,5 μL de cada primer (10mM), 2,5μL de solução tampão (10X), 1,25 μL de MgCl₂ (50 mM), 0,25 μL de Taq DNA polimerase (5U/μL) e 16,5 μL de água ultrapura, totalizando 25 μL. As amplificações, em termociclador convencional, foram: desnaturação inicial a 94°C por 2 minutos, seguida de 35 ciclos a 95°C por 45 segundos, 54°C por 30 segundos, 72°C por 1 minuto e extensão final a 72°C por 10 minutos. Como controle positivo, o DNA de sarcocistos de *Sarcocystis gigantea* foi gentilmente cedido pelo laboratório GEEP da UFPEL. Como controle negativo, foi utilizada água ultrapura. Foram avaliadas amostras duplicadas de cada fragmento de tecido coletado. Os produtos amplificados foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1,5%, corados com brometo de etídio (0,5μg/mL) e visualizados em luz ultravioleta. Foi utilizado um padrão de peso molecular de 100pb (Ladder 100 pb 500 μl, Ludwig Biotecnologia, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil).

Figura 1- Múltiplos cistos ovais e esbranquiçados presentes na musculatura esofágica de ovino proveniente de abatedouro do município de Santa Vitória do Palmar, Rio Grande do Sul.



Fonte: os autores.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da técnica de PCR, confirmou-se a identificação de sarcocistos de *Sarcocystis* spp. na musculatura dos animais. Morfometricamente, os sarcocistos localizados na musculatura esofágica eram compatíveis com *S. gigantea*. Os cistos encontrados apresentavam tamanho compatível com o descrito por Scott (2014), possuíam características ovaladas, com coloração e cápsula brancas, presença de material translúcido no interior, distribuídas aleatoriamente na musculatura do esôfago conforme citado por Damboriarena et al., (2016). Outro estudo realizado com nove ovinos mostra que as estruturas anatômicas com maior prevalência de cistos macroscópicos foi o esôfago totalizando 77,7% (GONÇALVES et al., 2020), o que é compatível com os achados do presente

estudo, já que foram encontrados macrocistos na musculatura esofágica dos animais.

Sarcocystis spp. normalmente é um parasito pouco patogênico para seus hospedeiros intermediários, sendo assim a maioria das infecções são crônicas e os ovinos acometidos não apresentam sinais clínicos (GUAL et al., 2017). Há relatos de alta prevalência de *S. gigantea* em ovinos adultos, com mais de três anos (BITTENCOURT et al., 2016), no entanto, não há diagnósticos em cordeiros (GUAL et al., 2017). As carcaças estudadas eram provenientes de ovinos adultos.

Os ovinos da amostra eram criados em campo nativo no extremo sul do Brasil e como citado por Silva et al., (2013). A ovinocultura gaúcha é majoritariamente baseada no sistema de produção extensivo e de subsistência. O que demonstra que essa atividade mantém padrões de sua origem, com pouca tecnificação em diversos aspectos. Com base na caracterização dessa cadeia produtiva se estabelece a relação com o ciclo biológico do *Sarcocystis* spp. que é indireto e requer um hospedeiro definitivo, tal como cães, gatos e canídeos silvestres em que ocorre a fase sexuada, enquanto no hospedeiro intermediário, ovino entre outros, a fase assexuada (LEGUÍA et al., 1989). O hospedeiro definitivo elimina grandes quantidades de esporocistos não esporulados nas fezes (LEVINE et al., 1978) e estas ficam viáveis no ambiente, esporulando e tornando-se infectantes. Os ovinos podem infectar-se ingerindo alimento e ou água contaminados com estes esporocistos.

A presença de *Sarcocystis* em ovinos é um empecilho para a indústria da carne e produtores, já que carcaças com presença de cistos macroscópicos devem ser condenadas parcial ou totalmente, pois estes tornam a carne inapta para comercialização e consumo humano (CARLETTI et al., 2013). Apesar da relevância econômica da Sarcocistose em ovinos ainda se tem poucos dados sobre sua epidemiologia. Acredita-se que muitos casos não sejam diagnosticados, o que mostra que o assunto tem sido pouco investigado.

4. CONCLUSÕES

As amostras analisadas estavam infectadas por *S. gigantea*, demonstrando a presença do parasito na região estudada.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARLETTI, T.; MARTINA, M.; ROMERO, S.; MORRISON, DA.; MARCOPPIDO, G.; FLORIN-CHRISTENSEN, M.; SCHNITTGER, L. Molecular identification of *Sarcocystis aucheniae* as the macrocyst-forming parasite of llamas. **Veterinary Parasitology**, Buenos Aires, v.198, n.3-4, p.396-400, 2013.

DAMBORIARENAI, P.; SILVA, C.; MOREIRA, R.; LEITE, B. Natural *Sarcocystis gigantea* infection in sheep from Southern Brazil. **Ciencia Rural**, Santa María, v.46, p.1229-1232, 2016.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. Neosporosis, Toxoplasmosis, and *Sarcocystis* in Ruminants. **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**, Beltsville v.22, p.645-671, 2006.

FAYER, R. *Sarcocystis* spp. in human infections. **Clinical microbiology reviews**, Beltsville, v.17, n.4, p.894-902, 2004.

FERREIRA, M.S.T. **Diagnóstico laboratorial de *Sarcocystis* spp. em bovinos.** 2018. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria.

GONÇALVES, A.P. **Caracterização e distribuição das lesões parasitárias causadas por *Sarcocystis* spp. em uma linha de abate de ovinos.** 2020. Dissertação (Graduação em Medicina veterinária) - Curso de Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

GUAL, I.; BARTLEY, P.; KATZER, F., INNES. E.; CANTÓN, G.; MOORE, D. Molecular confirmation of *Sarcocystis gigantea* in a naturally infected sheep in Argentina: A case report. **Veterinary Parasitology**, Buenos Aires, v.248, p. 25-27, 2017.

LEGUÍA, G.; GUERRERO, C.; SAM, R.; CHÁVEZ, A. Infección experimental de perros y gatos con micro y macroquistes de *Sarcocystis* de alpacas (*Lama pacos*). **MV Rev Cienc Vet**, Lima, v.5, n.3, p.10-13, 1989.

LEVINE, N.D. **Tratado de Parasitología Veterinaria.** Zaragoza: Acribia, 1978.

MARTÍNEZ-NAVALÓN, B.; ANASTASIO, B.; CANO, M.; SANCHEZ, P.; LLOPIS, A.; PEREZ, B.; GOYENA, E.; BERRIATUA, E. *Sarcocystis* infection: a major cause of carcass condemnation in adult sheep in Spain. **Spanish Journal of Agricultural Research**, Alzira, v.10, n.2, p.388-392, 2012.

PIPIA, A.; VARCASIA, A.; ZIDDA, A.; DESSI, G.; PANZALIS, R.; TAMPONI, C.; MARROSU, R.; TOSCIRI, G.; SANNA, J.; DORE, F.; CHIESA, F.; SCALA, A. Cross-sectional investigation on sheep Sarcoporidiosis in Sardinia, Italia. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, Sassari, v. 3, p. 13-17, 2016.

SCOTT, P. Sarcocystosis in sheep. **Livestock**, Reino Unido v.19, n.6, p. 356-359, 2014.

SILVA, A. P. S. P.; SANTOS, D. V.; KOHEK JR, I.; MACHADO, G.; HEIN, H. E.; VIDOR, A. C. M.; CORBELLINI, L. G. Sheep industry in the State of Rio Grande do Sul, Brazil: Description of the production system and the main health and reproductive aspects. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Porto Alegre, v.33, p.1453-1458, 2013.