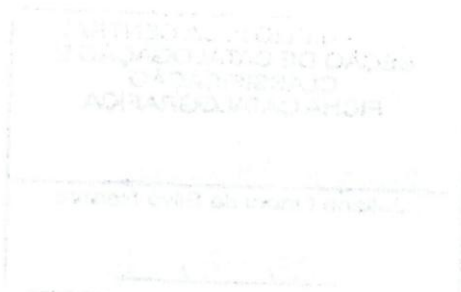


RAFAELLA PAOLA MENEGUETE DOS GUIMARÃES PEIXOTO

**INTERFACE DA CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE LESÕES  
CAUSADAS POR LARVAS DE *Taenia saginata* COM O DIAGNÓSTICO DA  
CISTICERCOSE BOVINA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS-BRASIL  
2012



Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

P379i  
2012

Peixoto, Rafaella Paola Meneguete dos Guimarães, 1986-  
Interface da caracterização morfológica de lesões causadas  
por larvas de *Taenia saginata* com o diagnóstico da  
cisticercose bovina / Rafaella Paola Meneguete dos Guimarães  
Peixoto. – Viçosa, MG, 2012.  
xv, 122f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Inclui anexos.

Orientador: Paulo Sérgio de Arruda Pinto.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Bovino. 2. Cisticercose. 3. *Taenia saginata*. 4. Zoonoses.  
5. Saúde pública. 6. Morfologia. 7. Sorodiagnóstico.  
8. Imunologia veterinária. I. Universidade Federal de Viçosa.  
II. Título.

CDD 22. ed. 636.20896964

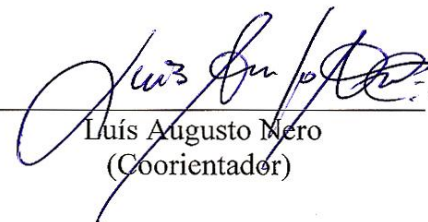
RAFAELLA PAOLA MENEGUETE DOS GUIMARÃES PEIXOTO

**INTERFACE DA CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE LESÕES  
CAUSADAS POR LARVAS DE *Taenia saginata* COM O DIAGNÓSTICO  
DA CISTICERCOSE BOVINA**


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 29 de maio de 2012.

  
\_\_\_\_\_  
Laércio dos Anjos Benjamin  
(Coorientador)

  
\_\_\_\_\_  
Luís Augusto Nero  
(Coorientador)

  
\_\_\_\_\_  
Ernani Paulino do Lago

  
\_\_\_\_\_  
Paulo Sérgio de Arruda Pinto  
(Orientador)

*"O único homem que está isento de erros, é aquele que não arrisca acertar."  
Albert Einstein*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a todos aqueles que de maneira direta ou indireta participaram na construção deste trabalho.

À minha mãe Dulcéia, por sempre acreditar em meu potencial, por todo o suporte e amor durante essa longa caminhada;

Ao meu pai Mauro, pelos sábios conselhos;

Ao meu irmão Philippe, pela amizade e companhia;

Ao meu namorado Frederico, por todo amor e dedicação;

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Veterinária, pela oportunidade;

Ao meu orientador Prof. Paulo Sérgio de Arruda Pinto, pelos ensinamentos e por me ajudar sempre que necessário;

Ao meu co-orientador Prof. Laércio dos Anjos Benjamin, pelo apoio e também ao auxílio concedido através de seu orientado Lucas Marcon;

Ao professor Leandro Licursi de Oliveira, do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa, pela ajuda;

Ao Prof. Romeu Sampaio, pelo belo exemplo de pessoa e profissional;

Às minhas companheiras de laboratório Tatiane O. Santos e Letícia F. Silva, por toda a ajuda, e claro, ótimas risadas;

A todos os funcionários do Departamento de Veterinária, em especial à Rosi e aos técnicos da Preventiva;

A todos os colegas que fiz durante esses anos em Viçosa, e em especial à Sanely Lourenço da Costa, pelo “ombro-amigo”;

Ao Servulo Lúcio Duarte, representando todo o pessoal do Abatedouro Escola da Universidade Federal de Viçosa;

Ao Médico Veterinário Anselmo Rivetti Júnior, pelo auxílio nas coletas de amostras;

Aos meus professores de graduação e amigos Luiz Augusto Gasparetto, Valmir Kowaleski de Sousa e Silvana Krychak Furtado, por todos os conselhos e amizade.

A todos muito obrigada!

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
LISTA DE FIGURAS .....	vii
LISTA DE TABELAS .....	ix
RESUMO .....	xii
ABSTRACT .....	xiv
INTRODUÇÃO GERAL .....	1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
1. Complexo teníase-cisticercose: histórico e caracterização .....	3
2. Prevalência da cisticercose bovina .....	6
2.1. Prevalência da cisticercose nas regiões do Brasil .....	7
2.1.1. Região Sul .....	7
2.1.2. Região Sudeste .....	8
2.1.3. Região Centro Oeste .....	9
2.1.4. Região Nordeste e Norte .....	9
3. Caracterização morfológica da <i>Taenia saginata</i> , forma adulta e larvar .....	10
4. Mecanismo de proteção do hospedeiro contra o cisticerco .....	12
5. Tecidos de implantação dos cisticercos e sua viabilidade .....	13
6. Diagnóstico, controle e medidas profiláticas .....	15
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	19
OBJETIVOS .....	31
Objetivo geral .....	31
Objetivos específicos .....	31
CAPÍTULO 1. Perfil da implantação de cisticercos em tecidos de bovinos infectados com ovos de <i>Taenia saginata</i> .....	32
Resumo .....	33

Abstract .....	34
1. Introdução .....	35
2. Material e Métodos .....	36
2.1. Preparo e inoculação experimental .....	36
2.2. Amostragem .....	37
2.3. Protocolo de abate e inspeção dos bovinos .....	37
2.4. Identificação e classificação dos cisticercos .....	38
2.5. Delineamento da pesquisa .....	38
2.6. Análise dos resultados .....	38
3. Resultados e discussão .....	39
4. Conclusões .....	48
5. Referências Bibliográficas .....	49
CAPÍTULO 2. Infecção experimental em bovinos: caracterização morfológica e evolução da resposta imune pela produção de imunoglobulinas da classe IgM, IgG total e IgG subclasses 1 e 2 .....	55
Resumo .....	56
Abstract .....	57
1. Introdução .....	58
2. Material e Métodos .....	59
2.1. Amostras de soro bovino .....	59
2.2. Avaliação <i>post-mortem</i> .....	60
2.3 Microscopia de luz .....	61
2.4. Análise estatística .....	62
3. Resultados e discussão .....	62
4. Conclusões .....	76
5. Referências bibliográficas .....	76

CAPÍTULO 3. Comportamento do teste ELISA no diagnóstico da cisticercose utilizando bovinos experimentalmente e naturalmente infectados com metacésteo de <i>Taenia saginata</i> .....	81
Resumo .....	82
Abstract .....	83
1. Introdução .....	84
2. Material e Métodos .....	86
2.1. Infecção experimental .....	86
2.2. Obtenção das amostras de soro .....	86
2.3 Técnica do ELISA .....	88
2.4. Critérios de interpretação e análise dos resultados .....	88
3. Resultados e discussão .....	89
4. Conclusões .....	95
5. Referências bibliográficas .....	96
CONCLUSÃO GERAL .....	99
ANEXOS.....	100
Anexo capítulo 1 .....	101
Anexo capítulo 2 .....	102
Anexo capítulo 3 .....	111

## LISTA DE FIGURAS

Página

### Revisão bibliográfica

Figura 1. Escólex *Taenia saginata*.....4

Figura 2. Presença da forma larvar da *Taenia saginata*, no tecido muscular de bovino  
.....5

### Capítulo 1

Figura 1. Cisticercos encontrados de acordo com sua viabilidade e período pós-  
infecção.....40

### Capítulo 2

Figura 1. Cinética de produção de anticorpos (DO) IgG (total), IgM, IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub> dos  
animais do grupo 1 (31, 32, 33, 38 e 39).....64

Figura 2. Cinética da produção de anticorpos (DO) IgG (total), IgM, IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub> dos  
animais do grupo 2 (35 e 37).....66

Figura 3. Cinética de produção de anticorpos (DO) IgG (total), IgM, IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub> dos  
animais do grupo 3 (36 e 40).....69

Figura 4. Cinética da produção de anticorpos IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub> a partir das médias das densidades  
ópticas dos nove bovinos experimentalmente infectados.....71

Figura 5. Bovino com 7 meses pós-infecção. Cisticerco vivo, onde é possível observar a  
cápsula de proteção do cisticercos e suas camadas (em destaque). HE. Barra: 100 µm  
.....74

Figura 6. Bovino com 9 meses pós-infecção. Cisticerco vivo. Presença maciça de  
eosinófilos (em destaque). HE. Barra: 10 µm .....74

Figura 7. Bovino com 12 meses pós-infecção. Cisticerco em processo de calcificação. HE.  
Barra: 500 µm .....74

Figura 8. Bovino com 12 meses pós-infecção. Cisticerco calcificado. Presença maciça de  
corpúsculos calcáreos (a) no centro do cisticerco e rico infiltrado celular na periferia (b).  
Von Kossa. Barra: 100 µm .....74

Figura 9. Bovino com 9 meses pós-infecção. Ao exame macroscópico apresentava cisticercos viável. Migração dos corpúsculos calcáreos (a) para o centro da lesão (b). Von Kossa. Barra: 50 $\mu$ m .....	75
Figura 10. Detalhe do corpúsculo calcáreo (em destaque). Von Kossa. Barra: 10 $\mu$ m .....	75

## LISTA DE TABELAS

Página

### Capítulo 1

Tabela 1. Densidade de cisticercos encontrados de acordo com período pós-infecção e região anatômica. ....	40
Tabela 2. Intensidade de infecção (média) de acordo com a região anatômica dos animais do grupo 1 e 2. ....	41
Tabela 3. Predileção por implantação de cisticercos de acordo com a região anatômica e o total de cisticercos recuperados no grupo 1. ....	42
Tabela 4. Presença ou não da cisticercose nos animais do grupo 1, de acordo com a região anatômica. ....	43
Tabela 5. Cisticercos encontrados de acordo com a região anatômica e viabilidade, nos animais do grupo 1. ....	44
Tabela 6. Presença ou não da cisticercose nos animais do grupo 2, por região anatômica. ....	45
Tabela 7. Frequência (n <sup>o</sup> ) e percentual de viabilidade (%) de cisticercos encontrados em animais experimentalmente (grupo 1) infectados de acordo com a região anatômica .....	45
Tabela 8. Frequência (n <sup>o</sup> ) e percentual de viabilidade (%) de cisticercos encontrados em animais naturalmente (grupo 2) infectados de acordo com a região anatômica. ....	46
Tabela 9. Frequência (%) de cisticercos em bovinos naturalmente infectados, de acordo com a categoria de idade, região anatômica e viabilidade. ....	47
Tabela 10. Presença e ausência de cisticercose de acordo com o sexo dos animais do grupo 2. ....	48

### Capítulo 2

Tabela 1. Resultados (n <sup>o</sup> , média) da contagem celular por meio de microscopia óptica de luz de cisticercos viáveis e cisticercos inviáveis, células contabilizadas de acordo com a viabilidade do cisticerco (viáveis e inviáveis) utilizando-se a objetiva de 100X. ....	73
---	----

### **Capítulo 3**

Tabela 1. Frequência de resultados positivos e negativos para cisticercose ao teste ELISA aplicado em bovinos infectados naturalmente de acordo com os resultados do exame anátomo-patológico realizado após o abate, considerando dois diferentes pontos de corte, utilizando-se de 2 e 3 desvios-padrão. ....	90
Tabela 2. Frequência de resultados positivos e negativos para cisticercose ao teste Elisa aplicado em bovinos infectados experimentalmente de acordo com os resultados do exame anátomo-patológico realizado após o abate, considerando dois diferentes pontos de corte, utilizando-se de 2 e 3 desvios-padrão. ....	91
Tabela 3. Número de amostras positivas no teste ELISA dos nove bovinos infectados experimentalmente, de acordo com o período pós-infecção (dias) e critério de ponto de corte. ....	93
Tabela 4. Resultado do teste ELISA em soros de bovinos infectados experimentalmente por animal, período pós-infecção (dias), número de cisticercos encontrados durante o abate e critério de ponto de corte. ....	94

#### **Anexo capítulo 1**

Tabela 1. Relação dos cisticercos recuperados dos nove bovinos experimentalmente infectados de acordo com o período pós-infecção, região anatômica e viabilidade. ....	101
--	-----

#### **Anexo capítulo 2**

Tabela 1. Evolução da resposta imunológica por determinação de imunoglobulinas da classe IgM de bovinos experimentalmente infectados, de acordo com o período pós-infecção (dias). ....	107
Tabela 2. Evolução da resposta imunológica por determinação de imunoglobulinas da classe IgG (total) de bovinos experimentalmente infectados, de acordo com o período pós-infecção (dias). ....	108
Tabela 3. Evolução da resposta imunológica por determinação de imunoglobulinas da classe IgG subclasse 1 (IgG <sub>1</sub> ) de bovinos experimentalmente infectados, de acordo com o período pós-infecção (dias). ....	109

Tabela 4. Evolução da resposta imunológica por determinação de imunoglobulinas da classe IgG subclasse 2 (IgG<sub>2</sub>) de bovinos experimentalmente infectados, de acordo com o período pós-infecção (dias). .....110

### **Anexo capítulo 3**

Tabela 1. Resultados do teste ELISA (DO) nas amostras de soro de bovinos naturalmente infectados, de acordo com a procedência da amostra, quantidade de cisticercos recuperados e sua viabilidade, utilizando diferentes pontos de corte adicionados de 2 ou 3 desvios-padrão. ....111

Tabela 2. Resultados do teste ELISA (DO) nas amostras de soro de bovinos experimentalmente infectados, de acordo com a procedência da amostra, quantidade de cisticercos recuperados e sua viabilidade, utilizando diferentes pontos de corte adicionados de 2 ou 3 desvios-padrão. ....119

## RESUMO

PEIXOTO, Rafaella Paola Meneguete dos Guimarães, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2012. **Interface da caracterização morfológica de lesões causadas por larvas de *Taenia saginata* com o diagnóstico da cisticercose bovina.** Orientador: Paulo Sérgio de Arruda Pinto. Coorientadores: Laércio dos Anjos Benjamin e Luís Augusto Nero.

A cisticercose bovina é uma doença de caráter zoonótico que acarreta prejuízos tanto de ordem sanitária quanto de ordem econômica. Essa pesquisa foi desenvolvida com o objetivo de conhecer melhor as características macroscópicas e microscópicas relacionadas à implantação dos cisticercos e a evolução imunológica da doença, bem como avaliar o desempenho do imunoensaio ELISA no diagnóstico de bovinos com infecção natural e experimental, através da administração oral de ovos de *Taenia saginata*. Os trabalhos de campo com os nove animais infectados experimentalmente envolveram coleta mensal de sangue nos intervalos de 30 dias, sendo que a partir de 120 dias pós-infecção um animal era abatido a cada 30 dias para realizar o exame anátomo-patológico e proceder com a coleta de cisticercos. As amostras dos animais naturalmente infectados foram obtidas através da coleta em matadouro-frigorífico comercial. Com relação à localização muscular dos cisticercos no grupo 1 (animais experimentalmente infectados), os sítios inspecionados rotineiramente predominantes de ocorrência foram o coração (37,7%), músculos mastigatórios (17,1%) e língua (2,3%). Em relação aos cortes comerciais estudados, foram encontrados os valores de 8,2% de cisticercos no acém, 6,6% na paleta, 6,2% no contra-filé e 5,8% na alcatra. Os outros tecidos não inspecionados rotineiramente que apresentaram cisticercos foram o diafragma, fígado e o esôfago, com 2,7%, 12,0% e 1,2% dos cisticercos totais. Houve predominância de cisticercos inviáveis nos músculos mastigatórios (77,3%), seguidos de 76,3% na musculatura do coração e 71,0% do fígado e na língua (50%). Os cisticercos viáveis predominaram na alcatra (80,0%), diafragma (71,4%) e esôfago (66,7%). Nos sítios de predileção dos animais naturalmente infectados, foram encontrados 61,78% dos cisticercos totais no coração, seguido dos músculos mastigatórios (38,21%) e fígado (10,19%). Em relação à viabilidade, o fígado apresentou 87,5% de cisticercos inviáveis, seguidos da língua com 66,7%, coração 63,2%, entretanto nos tecidos mastigatórios foi encontrada a maior frequência de cisticercos viáveis (68,3%). Dos nove animais estudados, cinco apresentaram a cinética

de produção de anticorpos contra os cisticercos de forma semelhante quando mensurados a produção de anticorpos da classe IgM e IgG, constituindo-se o grupo 1. O pico de produção de anticorpos do grupo 1 ocorreu no período de 0-30 dias pós-infecção seguido de um declínio natural, mantendo-se detectável até o final do estudo, no entanto os outros dois grupos contendo dois animais cada apresentaram a cinética de produção de anticorpos diferente do grupo 1, sendo que, o grupo 2 não apresentou resposta imunológica contra os antígenos secretados pelos cisticercos e o grupo 3 apresentou resposta tardia à presença dos cisticercos. Em relação à produção média de IgG<sub>1</sub> para todos os grupos, foi possível detectar elevação dos níveis de anticorpos a partir de 30 dias pós-infecção, tendo-se o pico de produção aos 270 dias e IgG<sub>2</sub> aos 60 dias. Já em relação à resposta celular hospedeiro-parasito, foi possível observar que no caso de cisticercos viáveis estavam presentes em sua maioria células inflamatórias, e no caso de cisticercos inviáveis a presença de células reparadoras de tecido, sendo também correlacionada a quantidade de corpúsculos calcáreos com o estágio de morte do parasito. Com relação ao desempenho do teste ELISA frente a animais infectados naturalmente e experimentalmente utilizando o ponto de corte 1 (calculado a partir de amostras de animais negativos para a cisticercose durante inspeção de rotina em matadouro-frigorífico) e ponto de corte 2 (amostras de animais negativos para a cisticercose criados em isolamento) adicionados de 2 desvios-padrão (SD), a sensibilidade do teste foi de 12% e 24,4%. Ao utilizar o ponto de corte 1 e 2 adicionados de 3 SD a sensibilidade ficou em 1,99% e 14,4%, respectivamente. Já para as amostras de animais experimentalmente infectados utilizando o ponto de corte 1 e 2 adicionados de 2 SD a sensibilidade ficou em 55,9% e 92,5% e, adicionando 3 SD foram encontrados os valores de 31,2% e 86%. A especificidade do teste em todas as situações testadas ficou em 100%. A combinação desses resultados deve ser valorizada no diagnóstico da cisticercose bovina por meio do teste ELISA sugerindo sua utilização em associação com o teste anátomo-patológico realizado rotineiramente em matadouros-frigoríficos.

## ABSTRACT

PEIXOTO, Rafaella Paola Meneguete dos Guimarães, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, May, 2012. **Interface of the morphological characterization of lesions caused by *Taenia saginata* larvae with the diagnosis of bovine cysticercosis.** Adviser: Paulo Sérgio de Arruda Pinto. Co-advisers: Laércio dos Anjos Benjamin and Luís Augusto Nero.

The bovine cysticercosis is a zoonotic disease that causes damage both in terms of health and in terms of economy. This research was developed in order to better understand the anatomical and microscopic characteristics related to the implantation of cysticerci and the immune evolution of the disease, and evaluate the performance of the immunoassay ELISA in the diagnosis of nine experimentally infected animals by oral administration of *Taenia saginata* eggs. Field work with the animals included the monthly collection of blood every 30 days, being that from 120 days post-infection an animal was slaughtered every 30 days to perform the anatomic-pathological examination and proceed with the collection of cysticerci. The samples from naturally infected animals were obtained by collecting in commercial slaughterhouse. Regarding muscular location of cysticercus in Group 1, the sites routinely inspected with predominance of occurrence were the heart (37.7%), head muscles (17.1%) and the tongue (2.3%). In relation to the assessed commercial cuts, 8.2% of cysticerci were found in the sparerib, 6.6% in the shoulder, 6.2% in the tenderloin and 5.8 in the rump. Other not-routinely inspected tissues that presented cysticerci were the diaphragm, the liver and the esophagus with 2.7%, 12.0% and 1.2% of the total cysticerci. Not viable cysticercus was the majority in head muscles (77.3%), followed by 76.3% in heart muscle and 71.0% in the liver and tongue (50%). Concerning viability, liver presented 87.5% of the not viable cysticerci, followed by the tongue 66.7%, and the heart with 63.2%, but the highest frequency of viable cysticerci was found in the head muscles (68.3%). Of the nine animals studied, five had the kinetics of antibody production against the cysticerci in a similar way when measured the production of antibodies of the IgM and IgG classes, once the peak of antibody production occurred in the period of 0-30 days post-infection followed by a natural decline and maintained detectable until the end of the study. However, the other two groups, each containing two animals, showed the kinetics of antibody production different from most animals, being that one group had a delayed response to the presence of cysticerci and the other group showed

no immune response against antigens secreted by cysticerci. For the production of IgG<sub>1</sub>, it was possible to detect increased levels of antibodies from 30 days post-infection, having the production peak at 270 days, and IgG<sub>2</sub> at 60 days. Regarding the cellular response observed against the cysticerci, it was possible to observe that in the case of viable cysticerci, inflammatory cells were present in the major part; and in the case of unviable cysticerci, the presence of repairing tissue cells, being also correlated the amount of calcareous corpuscles with the parasite's stage of death. With regard to the performance of the ELISA test against experimentally and naturally infected animals using a cut-off 1 and 2 added with 2 standard-deviation (SD), it was of 12% and 24.4%, respectively; and when using the cut-off 1 and 2 added with 3 SD the test sensitivity was at 1.99% and 14.4%, respectively. As for the samples from experimentally infected animals using the cut point 1 and 2 added with 2 SD the sensitivity was at 55.9% and 92.5%; and adding 3 SD the values found were 31.2% and 86%, respectively; the specificity of the test in all situations tested was at 100%. The combination of these results should be considered for diagnosis of bovine cysticercosis through the ELISA test, suggesting its use in combination with the anatomic-pathological test routinely performed in slaughterhouses.

## INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo. A produção e a qualidade da carne bovina merecem destaque principalmente no quesito exportação. De acordo com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação - FAO (2009), a produção da carne bovina no Brasil tem aumentado consideravelmente, abrindo assim maiores perspectivas para comércio da carne bovina, sendo que, de cada 3 kg de carne bovina comercializada no mundo, 1 kg é proveniente de gado brasileiro (Veríssimo, 2007).

Atualmente, a cisticercose é um dos grandes problemas para a saúde pública e também para pecuaristas, pois é a doença mais frequentemente diagnosticada em matadouros-frigoríficos, acarretando tanto prejuízos sanitários quanto econômicos.

Estimativas dos prejuízos acarretados pela cisticercose bovina chegam a valores próximos a 410.000 USD anuais com carcaças condenadas (Khaniki et al., 2010). Levando em consideração dados fornecidos pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010), em relação ao número de bovinos abatidos no ano de 2010 (29,6 milhões de cabeças), e em 2011 (28,8 milhões de cabeças), esses prejuízos tomam enormes proporções (IBGE, 2011), podendo chegar numa depreciação de até 50% no valor da arroba (Beef World, 2010). Santos et al. (2008) verificaram 31,53% (de um total R\$ 214.747,70) de prejuízos gerados dentro do frigorífico pela condenação de carcaças com cisticercose.

A cisticercose é uma doença de caráter zoonótico e distribuição mundial. No Brasil, a doença é considerada enzoótica, podendo muitas vezes ter um caráter epizootico, sendo seus dados publicados subestimados (Santos, 1993). De acordo com a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) a cisticercose representa uma doença de notificação obrigatória. No Brasil, o Ministério da Saúde, por meio da portaria 1100 de 24/05/96, recomenda a implantação da notificação compulsória do complexo teníase-cisticercose (TC) (Brasil, 1996), entretanto apenas os estados de Santa Catarina, Paraná, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul e o município de Ribeirão Preto (SP) implantaram programas de combate e controle da cisticercose (Agapejev, 2003).

Os fatores de risco associados à transmissão do complexo teníase-cisticercose estão intimamente ligados a hábitos higiênico-sanitários, socioeconômicos e culturais. Como a cisticercose não apresenta nenhuma sintomatologia clínica nos animais, passa despercebida durante a criação e somente é detectada no momento do abate, trazendo

prejuízos econômicos. Outro fator determinante para manutenção do complexo TC é o abate clandestino, onde as carnes não passam por nenhum tipo de inspeção higiênico-sanitário.

Usualmente, o controle da cisticercose é feito por meio do diagnóstico anátomo-patológico realizado durante a inspeção *post-mortem* nos matadouros. Consiste basicamente na observação macroscópica em cortes padronizados na carcaça em sítios considerados de predileção na implantação dos cisticercos. De acordo com as normas técnicas do Serviço de Inspeção Federal (SIF) deve-se realizar obrigatoriamente a inspeção sanitária dos músculos mastigatórios (masséter e pterigóide), língua, coração, diafragma e seus pilares, e musculatura esquelética em geral, especialmente os músculos do pescoço e peito (Brasil, 1971).

De acordo com o artigo 176 do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal – RIISPOA (Brasil, 1951), deve-se fazer condenação total da carcaça quando estiver parasitada por cisticercos de forma difusa, podendo fazer rejeição parcial quando se verifique infestação discreta ou moderada, após cuidadoso exame sobre os músculos inspecionados rotineiramente. Nestes casos, devem ser removidas e condenadas todas as partes com cistos, inclusive os tecidos circunvizinhos, as carcaças são recolhidas às câmaras frigoríficas ou desossadas e a carne tratada por salmoura, pelo prazo mínimo de 21 (vinte e um) dias em condições que permitam, a qualquer momento, sua identificação. Esse período pode ser reduzido para 10 (dez) dias, desde que a temperatura nas câmaras frigoríficas seja mantida sem oscilação e no máximo a 1°C.

As carcaças monocisticercósicas e aquelas parasitadas em sítios não convencionais podem passar despercebidas durante a inspeção de rotina, dificultando o seu correto destino. Contudo, Souza et al. (2007) relatam que, apesar das limitações, a inspeção ainda continua sendo um método importante e específico de identificação da infecção no animal. Essas observações também podem ser reforçadas por um modelo probabilístico desenvolvido por Kyvsgaard et al. (1991) mostrando que mais de 85% dos animais infectados podem passar despercebidos durante a inspeção de rotina.

Tendo em vista a importância do diagnóstico da cisticercose bovina, torna-se necessário o aperfeiçoamento de um teste complementar como o ELISA, que poderá ser utilizado concomitantemente ao exame anátomo-patológico, visando maior segurança na liberação das carcaças nos matadouros-frigoríficos, evitando assim a disseminação do complexo teníase-cisticercose.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1. Complexo teníase-cisticercose: histórico e caracterização

A cisticercose já era conhecida antes da Era Cristã. Os cestódeos *Taenia saginata* (bovinos) e *Taenia solium* (suínos) são os responsáveis pela teníase humana, doença que pode causar vômitos, cólicas, sinais neurológicos no caso da infecção por *T. solium* e outros sintomas, de acordo com a localização dos cistos (Hidalgo, 2008).

Georg Ebers, em 1872, no Egito descobriu um papiro de 1500 a.C. com referências aos cestóides. Na literatura chinesa e indiana foram encontradas citações sobre os mesmos parasitas. Também Aristóteles (384-322 a.C.) e Hipócrates (460-377 a.C.) tinham conhecimento sobre as tênia dos homens e algumas larvas como *Cysticercus bovis* (Ungar & Germano, 1991b).

Em pesquisas realizadas por Foster, em 1965, constata-se que a população que vivia às margens do Mar Mediterrâneo eram parasitadas por *Taenia solium* e *Taenia saginata*, sendo que a incidência maior era da segunda. Goeze, em 1782, foi o primeiro a distinguir as duas espécies de tênia humana. Du Jardim, em 1845, afirmou que os cistos eram formas de tênia jovens, resultantes de uma migração errática, por esta se encontrar em habitat que não fosse o intestino (Ungar & Germano, 1991b).

Com o passar dos anos, e com o aumento da densidade demográfica e urbanização, as parasitoses intestinais assolavam o homem incentivou a execução de diversas atividades dentre elas a inspeção de carnes. Entre 1860 e 1865 a pesquisa de cisticercos iniciou-se nos abatedouros, sendo que imediatamente em 1861, Rudolf Leuckar, professor de zoologia e de anatomia comparada, propôs a origem sobre cisticercos do boi, onde a forma adulta chamou de *Taenia mediocanellata*, denominada posteriormente de *Taenia saginata* (Theves, 2002). Finalmente, Leuckart, em 1861, comprovou o ciclo da *Taenia saginata* através de experimentos com bezerros obtendo a forma larvar. Oliver, em 1869, reverteu o procedimento de Leuckart infectando homens com cisticercos de bovinos, obtendo a forma adulta do parasito (Ungar & Germano, 1991b).

A *Taenia saginata* é um parasita pertencente à família *Taeniidae*, classe *Cestoidea* e a ordem *Cyclophyllidea*. Em sua forma larvar, o *Cysticercus bovis* (sem valor taxonômico) causa a cisticercose no bovino, tendo como único hospedeiro definitivo o homem. Já quando está na forma adulta, fica albergada no intestino delgado

dos seres humanos, causando a teníase. Acha & Szyfres (1986) relatam que a cisticercose humana por ingestão de ovos de *Taenia saginata* não ocorre ou então é extremamente rara.

De acordo com Geysen et al. (2007), a transmissão da doença para os animais ocorre a partir da ingestão de ovos da tênia decorrentes da contaminação de pastagens ou água por fezes humanas de indivíduos infectados.

A teníase humana é um problema de saúde pública prevalente tanto em áreas urbanas quanto rurais, quando as condições higiênico-sanitárias são precárias, favorecem a transmissão do complexo teníase-cisticercose. A transmissão ocorre quando o homem ingere carne parasitada por cisticercos, que não passaram por devida inspeção sanitária e/ou inadequado tratamento para inviabilização do cisticercos como o congelamento ou salga.

A *Taenia saginata* é um parasito de corpo acinzentado e achatado, podendo medir normalmente até 5m, existindo casos reportados na literatura de 25m (CDC, 2011). Possui cabeça (escólex) que serve para fixação, seguidas de pescoço (colo) e estróbilo que é formado por proglótides. A fixação da tênia no intestino delgado do humano é feita pelo escólex, a partir de quatro ventosas, exercendo o efeito de sucção na mucosa (Figura 1). O colo une o escólex ao estróbilo, sendo delgado e longo (Rey, 2001).



Figura 1. Escólex de *Taenia saginata*.  
(Fonte: Centers for Disease Control and Prevention- CDC)

De acordo com Rey (2001), na região posterior da tênia, denominada zona de crescimento, são originados as proglótes jovens. O estróbilo é considerado o corpo da tênia. Possui 1.200 a 2.000 proglótes que são as estruturas responsáveis pela atividade alimentar e reprodutiva, sendo esses hermafroditas. As tênicas possuem útero com

ramificações laterais com cerca de 80.000 ovos (Pfuetzenreiter & Ávila-Pires, 2000). Os proglótides grávidos se eliminam com as fezes do hospedeiro definitivo, ou saem espontaneamente pelo ânus, e os ovos se liberam por expulsão ou por desintegração dos proglótides. Os proglótides são móveis e migram uns poucos centímetros pelo corpo, roupa, cama ou solo, eliminando assim os ovos (Pawlowsky, 1972).

A cisticercose bovina é caracterizada pela presença da forma larvar da *Taenia saginata*, inserida na musculatura de bovinos (Figura 2). Quando os ovos de tênia são ingeridos pelos hospedeiros intermediários (bovinos), os embriões (oncosferas) se libertam do ovo no intestino delgado pela ação dos sucos digestivos e bile. As oncosferas penetram na parede intestinal e, em 24 a 72 horas, difundem-se no organismo através da circulação sanguínea (Gemmel et al., 1983).



Figura 2. Presença da forma larvar da *Taenia saginata*, no tecido muscular de bovino (corte comercial: contra-filé).

Ao chegar ao seu destino, os embriões saem dos capilares sanguíneos e se deslocam para o tecido conjuntivo que envolve as fibras musculares (Carlton & Avin, 1998), ficando ali até evoluir para a sua forma vesicular, o cisticerco. Ocorre um processo de vesiculização da oncosfera, ocorrendo perda de seus acúleos e esta se diferencia dando origem a um escólex invaginado. Este vai crescendo, ocupando o espaço e desviando as fibras musculares mecanicamente e bioquimicamente, provocando a lise do tecido perilarvar, por meio da ação de enzimas proteolíticas liberadas pelo parasito. Gera-se uma reação inflamatória subaguda que leva a um aspecto de um granuloma cístico, caracterizado por uma reação epitelióide, com

presença de células gigantes e eosinófilos, enquanto ao seu redor existe a formação de uma cápsula de fibras conjuntivas, formando o cisticerco (Pfuetzenreiter & Ávila-Pires, 2000). Os cisticercos têm uma longevidade de semanas a anos, sofrendo um processo de degeneração, estando ao final desse, calcificado e inviável (Urquhart et al., 1998; Rey 2001).

Os primeiros estágios macroscopicamente visíveis podem ser detectados nos músculos por volta de 6 a 12 dias após a infecção, e alcançam estrutura vesicular característica em aproximadamente seis semanas. Porém, só estará maduro a partir de 60 dias após a infecção (Rey, 2001).

O cisticerco é considerado viável quando está na etapa vesicular, isto é, com uma membrana transparente contendo líquido e a larva invaginada em seu interior, sendo que há áreas de tegumento do parasito histologicamente intacto, e outras áreas com infiltrado inflamatório do hospedeiro. Na primeira etapa, a resposta imune pode variar de tolerância até intensa resposta inflamatória. A próxima etapa é caracterizada por necrose da larva sendo que a vesícula fica mais espessa, chamada de etapa vesicular coloidal. O escólex apresenta sinais de degeneração hialina; no tegumento do parasito observam-se alterações tais como infiltrado inflamatório com linfócitos, neutrófilos, monócitos e células gigantes do tipo corpo estranho, além de fibroblastos e fibras colágenas. A terceira etapa é a granular nodular, caracterizada pela redução da vesícula do parasito, tornando seu conteúdo semi-sólido. Nessa etapa, o escólex é transformado em um grânulo mineralizado e o infiltrado inflamatório é composto por células mononucleares. Na etapa final ou etapa nodular calcificada, os constituintes do parasito não são identificados, constituindo em um nódulo sólido, mineralizado, rodeado totalmente por tecido conjuntivo denso não modelado (Robinson et al., 1997; Sotelo et al., 2000; Rey, 2001; Júnior et al., 2002).

## 2. Prevalência da cisticercose bovina

Para conhecimento da atual da situação do Brasil, é necessário delimitar regiões com maior prevalência da cisticercose, por levantamentos epidemiológicos realizados em matadouros, ou estudos realizados em campo.

No Brasil, os dados começaram a surgir nos anos de 1946 e 1947 na Região Central onde foram registradas incidências de 1,0% e 1,5% de cisticercose bovina

(Ribeiro, 1948 *apud* Fiterman, 2005), sendo classificada como disseminada por todo território nacional no ano de 1985 (Ungar & Germano, 1991).

De acordo com os resultados observados por diversos autores, a prevalência de cisticercose bovina em frigoríficos no Brasil, varia de 0,7% a 5,3% (Schen et al., 2002; Torres et al., 2002). Contudo os dados da inspeção de rotina podem não estimar a real prevalência da doença (Minozzo et al., 2002).

Reis et al. (1996) estudaram seis estados do Brasil (Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso, Pará, Tocantins e São Paulo), no período de 1979 a 1993, e constataram uma variação de frequência de 0,35% a 4,07%, pela análise de dados de 336.723 bovinos, com uma prevalência de 1,87% de casos de cisticercose.

Já Fernandes & Buzzeti (2001), ao analisarem 1.976.824 bovinos no período de janeiro de 1990 a junho de 2000, em estabelecimento com SIF em Araçatuba (SP) encontraram uma prevalência de 4,18%; nesse caso os animais eram procedentes de vários estados brasileiros, tais como: São Paulo, Paraná, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Goiás, Rondônia, Tocantins e Santa Catarina.

## 2.1. Prevalência da cisticercose nas regiões do Brasil

### 2.1.1. Região Sul

Em um estudo retrospectivo no Estado do Paraná, Zampini (1994) encontrou a prevalência de 2,79% de cisticercose bovina analisando dados do período de 1982 a 1988. Já no ano de 2000, através de um levantamento epidemiológico realizado em frigorífico sob inspeção federal Souza et al. (2007) encontraram um índice de 3,82% no Estado do Paraná, ao inspecionar 26.633 bovinos. Falavigna-Guilherme et al. (2006) realizaram um estudo observacional em matadouro de bovinos e suínos sob SIF, localizado em Sabáudia (PR) no ano de 2004 e encontraram 9,3% dos animais parasitados.

Alves (2000) observou, a partir dos relatórios do Serviço de Inspeção Municipal entre os anos de 1998 e 1999, que a prevalência total da cisticercose bovina no município de Camboriú (SC) foi de 14,76%, diferindo da frequência encontrada no Estado que em média é de 1,16%, talvez devido a persistência em abate clandestinos.

### 2.1.2. Região Sudeste

Santos (1993) estudou a prevalência dessa zoonose durante cinco anos (1988 a 1992) a partir de 520.973 animais oriundos do Brasil Central pecuário e inspecionados com procedimentos padronizados. As taxas de prevalência encontradas foram de 4,19%, 4,68%, 4,97%, 3,54% e 3,24%, para os anos de 1988, 1989, 1990, 1991 e 1992, respectivamente. Segundo o autor, a situação do complexo teníase-cisticercose parece ser pouco conhecida no Brasil, em virtude, possivelmente, da escassa ou falha na divulgação dos dados obtidos, tanto pelos serviços de inspeção quanto pelos laboratórios de saúde coletiva, contribuindo, também a ausência de um programa de controle, os autores admitiram ainda, que a ocorrência da cisticercose no país é superior aos dados publicados.

Reis et al. (1996) analisaram a ocorrência de cisticercose bovina entre os anos de 1979 a 1993, a partir de dados obtidos do serviço de inspeção federal (SIF) em Uberlândia (MG) e dos 336.723 animais abatidos e inspecionados, 6.314 ou 1,87% estavam com cisticercose. Porém Moraes et al. (2009) analisaram dados de bovinos abatidos entre os anos de 2003 a 2007 em um matadouro-frigorífico sob Serviço de Inspeção Municipal localizado em Uberlândia (MG) e constataram que dos 222.743 bovinos abatidos nesse período 2.981 eram portadores de cisticercose, estabelecendo uma prevalência de 1,34%.

Fukuda (2003) em um estudo epidemiológico retrospectivo abrangendo o período entre os anos de 1980-2001, constatou que a média de ocorrência da cisticercose bovina em abatedouros sob inspeção federal no estado de São Paulo foi de 4,28%. O estudo envolveu 33.840.531 bovinos. Em contrapartida Manhoso & Prata (2004) registraram uma prevalência média de 7% para o mesmo estado no período de janeiro de 1999 a julho de 2001.

No estado do Rio de Janeiro, Pereira et al. (2006) ao realizarem um levantamento a partir de 494.620 animais abatidos no período de 1997 a 2003 a prevalência de 1,95%.

Fonseca et al. (2001) desenvolveram um estudo no matadouro frigorífico do município de Três Rios (RJ) com o intuito de calcular a prevalência da cisticercose em bovinos abatidos no referido matadouro. Foram inspecionados 3840 bovinos, encontrando 14 animais infectados, estabelecendo uma prevalência de 0,36%. Dos 14 bovinos infectados, três eram do Município de Barra Mansa, quatro de Valença, um de

Rio Bonito, dois de Petrópolis, três de Três Rios e um do Município de Xiador (Minas Gerais).

No Estado do Espírito Santo, Galvão (2008) estabeleceu a prevalência de cisticercose em 2,18%, analisando dados de ocorrência da cisticercose em 12 abatedouros sob inspeção estadual no ano de 2007.

### 2.1.3. Região Centro Oeste

Ao analisar o período de 1974 a 1979, no Estado do Mato Grosso do Sul, foi encontrado uma prevalência de 1% (Schenk, 2000). Tornando-se constante quando comparado ao período de 1986 a 1993, onde Carmo (1997) constatou prevalência média de 1,04% de casos de cisticercose.

Em Mato Grosso, durante o período de 1996 a 2000, 0,69% dos bovinos abatidos em frigoríficos com Inspeção Federal apresentaram lesões compatíveis com cisticercose (Schein et al., 2004).

### 2.1.4. Regiões Nordeste e Norte

Os estudos epidemiológicos encontrados para as regiões Nordeste e Norte são escassos e, em sua maioria, refletem somente dados provenientes de pesquisas em matadouros, não demonstrando a real prevalência da cisticercose nessas regiões.

Fiterman (2005) estudou casos de condenação por cisticercose em cinco matadouros frigoríficos sob regime de inspeção federal no período de 1999 a 2005. Foram abatidos 1.330.923 bovinos e a prevalência média de casos positivos variou de 0,82% a 1,23 %. Já Arçari (2008) investigou os casos de cisticercose bovina em matadouro-frigorífico com inspeção federal no município de Teixeira de Freitas (BA). No estudo, foram inspecionadas 92.944 carcaças durante o ano de 2007, apresentando 0,91% de carcaças parasitadas por cisticercose.

Santos et al. (2008) determinaram a prevalência de cisticercose analisando 142.579 bovinos abatidos em estabelecimento com SIF no município de Jequié (BA). O período analisado foi de agosto de 2004 a julho de 2006 e foi possível constatar uma prevalência de 1,74%.

Freitas & Palermo (1996) por meio de estudo retrospectivo no Estado do Pará, encontraram prevalência de 0,0097% para a cisticercose bovina e 0,03657% para teníase humana provocada por *Taenia saginata*.

Oliveira et al. (2011) fizeram um levantamento da prevalência de cisticercose bovina no Estado de Alagoas no período de 2000 a 2005, a partir dos bovinos abatidos em matadouros-frigoríficos sob Inspeção Federal determinando-se a prevalência de 0,32% a 0,65% no Estado.

### 3. Caracterização morfológica da *Taenia saginata*: formas adulta e larvar

A formação do cisticerco gera uma reação inflamatória subaguda na musculatura do bovino, que leva a um aspecto de um granuloma cístico, caracterizado por uma reação epitelióide, com presença de células gigantes e eosinófilos, enquanto em seu redor existe a formação de uma cápsula de fibras conjuntivas. Ocorre também produção de anticorpos por parte do hospedeiro, que só se consegue detectar sua presença na fase inicial da infecção, ou seja, antes que a cápsula fibrosa isole o parasito (Carlton & Avin, 1998).

De acordo com Urquhart et al. (1998), o cisticerco começa a ser macroscopicamente visível cerca de duas semanas após a ingestão do ovo pelo animal, como um ponto pálido semitransparente de aproximadamente 1mm de diâmetro; mas só será infectante para o homem cerca de 10 a 12 semanas de evolução (Flisser et al., 2005) quando já terá atingido o seu tamanho máximo de 1cm.

Quando o desenvolvimento dos cisticercos completa 14 dias, os mesmos apresentam-se esférico e transparente medindo 0,4 a 0,6 mm de diâmetro, apresentando um amplo núcleo, com nucléolos visíveis no citoplasma. As células contem dois ou três nucléolos. Aos 21 dias mostra-se oval, medindo 1mm de diâmetro e marcação do futuro lugar do escólex. Aos 23 dias a vesícula oval mede 1mm e apresenta as células do futuro escólex que se encontram acumuladas em volta do tegumento invaginado. Aos 28 dias mede 2,2 x 1,9 mm, apresentando o escólex invaginado piriforme medindo 0,6 mm e mostrando existência de corpos calcáreos. Com 34 dias mede 2,5 – 3,0 X 3,0 – 4,0 mm e tem o escólex longo, apresentando ganchos visíveis no tegumento do cone rostellar. Aos 42 dias, a vesícula mede 4,0 X 3,0 mm e possui corpos calcáreos mais numerosos. Aos 55 dias, mede 5,0 X 3,0 mm e o escólex totalmente invaginado sendo que os ganchos não são observados nesse estágio. Os cisticercos podem ser de vários

tamanhos e apresentar várias diferenciações do estágio morfológico ao mesmo tempo depois da infecção e no mesmo hospedeiro (Schramlová & Blazek, 1983).

Siddiqui (1963), ao estudar as estruturas do *Cysticercus bovis*, constatou que a espessura da cutícula do cisticercos parece ser independente do tamanho da vesícula. Sua espessura variou de 4mm a 7mm. Esta variação no tamanho reflete diferenças no estágio de desenvolvimento alcançado, uma vez que os cistos maiores estavam completamente desenvolvidos. Existem três camadas distintas que são facilmente distinguíveis na cutícula dos cortes corados com tricômio de Mallory, em relação às cores da camada externa e basal. A camada externa é muito fina e está solta ou ausente ao longo da cabeça nos cistos maiores. A camada média é homogênea na aparência e constitui a parte espessa da cutícula; é esta camada que varia consideravelmente de espessura e assim produz as diferenças descritas na espessura da cutícula total. Abaixo dessa camada há uma camada basal de fibras finas.

Barriga (1985), numa revisão bibliográfica a respeito dos eosinófilos em infecções parasitárias, afirmou que eosinofilia local e periférica é uma característica comum em muitas infecções helmínticas que apresentam superfícies parasitárias grandes, não fagocitáveis pelo sistema imune. No estágio inicial da infecção é causada uma inflamação inespecífica, rica em macrófagos, linfócitos e neutrófilos que antecedem o estágio de uma resposta imunológica. Os mastócitos produzem quimiotaxia para os eosinófilos e concentram anticorpos e fatores de complemento ao redor do parasito.

Yan et al. (2007) ao infectarem suínos com ovos de *Taenia saginata* (asiática) encontraram cisticercos somente no fígado dos animais. Foram feitas observações sobre as alterações histopatológicas no tecido hepático em microscópio de luz. Nos fígados do grupo controle, os lóbulos hepáticos apresentaram estruturas intactas, houve uma ligeira formação de tecido conjuntivo fibroso entre os lóbulos e os hepatócitos se mostraram na forma poligonal sem degeneração. No quarto dia pós-infecção, os cisticercos não foram detectados em cortes histológicos, mas alguns hepatócitos mostraram leve degeneração, muitos eosinófilos e neutrófilos estavam infiltrados no tecido hepático e em vasos sanguíneos, houve leve hiperplasia das células de Kupffer também foi observada. Posteriormente, observou-se hiperplasia dos tecidos conjuntivos fibrosos nos tecidos, progressão na degeneração hidrópica de hepatócitos, apresentando vacuolização, estruturas celulares danificadas, e desapareceram em alguns lóbulos hepáticos; além disso, a necrose em hepatócitos foi observada, pequenos vasos sanguíneos

encontravam-se dilatados, sinusóides hepáticos congestionados. O infiltrado inflamatório era evidente com muitos neutrófilos e eosinófilos, sendo que, a maioria das larvas estavam degeneradas ou mortas sendo circundadas por células inflamatórias. Do 40 ao 60 dia, mostrou-se a clara presença de cisticercos e protoescólices com ventosas. Entre os dias 70 e 80 a maioria dos cisticercos estavam completamente degenerados ou calcificados, e granulomas foram observados; a fibrose ficou evidente em torno das zonas de reação inflamatória.

Costa (2008) analisou 253 amostras de cisticercos classificados como mortos ao exame macroscópico, e através do exame microscópico observou granulomas que comumente são representados por centro necrótico e/ou mineralizado envolto por histiócitos dispostos em paliçada, células gigantes multinucleadas, infiltrado misto predominantemente de mononucleares, e fibrose. A periferia das lesões tinha características de tecido de granulação e mineralização em forma de lâminas lineares. Os restos parasitários foram identificados como um material hialino acelular, contendo elementos ovais e circulares, basofílicos, acidófilos e incolores, denominados corpúsculos calcários. Em algumas lesões foram observados raros corpúsculos, soltos em meio à reação inflamatória. Nódulos fibrosos, ricos em infiltrado linfóide ou crônico ativos, foram frequentemente visualizados.

#### 4. Mecanismo de proteção do hospedeiro contra o cisticerco

O cisticerco é revestido por uma parede, que é uma estrutura membranosa composta de três camadas. Além disso, algumas das proteínas dos cisticercos têm propriedades antigênicas e estimulam a produção de antígenos específicos. No entanto, estes antígenos não têm maior efeito na proteção contra a doença já que os cisticercos desenvolvem uma série de mecanismos evasores que lhe permitem sobreviver ao ataque imunológico do hospedeiro (Pawlowsky, 1972).

Smith et al. (1991) demonstraram que o nível de anticorpos anti-*Taenia saginata* detectado pelo teste ELISA esteve diretamente relacionado à dose de desafio com ovos infectantes e ao número de cisticercos estabelecidos em animais infectados experimentalmente. Apesar da relação direta entre dose infectante e absorvância descritas, observou-se um aumento definido no nível de IgG detectável entre 40 e 60 dias após a infecção na maioria dos grupos testados. Contudo Gallie & Sewell (1974), em infecção experimental em bezerros neonatos com dose única e dose seriada,

verificaram que a resistência à reinfecção em bovinos não está necessariamente relacionada com uma forte reação sorológica por anticorpos, relatando ainda que a infecção precoce não interferiu com a habilidade de desenvolver resistência à reinfecção. No entanto, segundo os autores, essa falha no desenvolvimento poderia dificultar o diagnóstico sorológico de bezerros no campo.

Bogh et al. (1996) infectaram experimentalmente bovinos com 30.000 ovos de *Taenia saginata* e utilizaram no teste ELISA, anticorpo conjugado de imunoglobulina G de subclasse 1 (IgG<sub>1</sub>). Foi possível detectar os níveis de anticorpos circulantes somente após seis semanas, e com dez semanas notou-se um decréscimo.

Segundo White (2000), o parasito secreta um inibidor de serina protease chamado de *taeniaestatina* que inibe a ativação do complemento, de linfócitos e a produção de citocinas. A superfície do parasito é recoberta por uma camada de polissacarídeo, que afasta a ativação do complemento da parede do cisto. A *paramiosina* presente no parasito também inibe a via clássica de ativação do complemento. O parasito produz também prostaglandinas e proteínas de baixo peso molecular que diminuem a inflamação e alteram a produção de citocinas nos linfócitos Th<sub>2</sub> auxiliares. O cisticerco secreta proteases que podem degradar interleucinas e imunoglobulinas. Os cisticercos viáveis estimulam a produção de imunoglobulinas, que paradoxalmente aumentam o tamanho do cisto e degradam aminoácidos.

Minozzo et al. (2004) inocularam experimentalmente  $2 \times 10^4$  ovos de *Taenia saginata* em bovinos e verificaram que os animais infectados apresentaram um aumento nos títulos de anticorpos a partir de 36 dias da infecção, com o pico de anticorpos nos animais positivos ocorrendo entre 30 e 60 dias pós-infecção.

## 5. Tecidos de implantação dos cisticercos e viabilidade

Fukuda et al. (2003) relatam que o cisticerco tem predileção pelos músculos mastigatórios e pelo músculo cardíaco do bovino; entretanto, cisticercos podem ser encontrados em outros locais, os quais não são de eleição de implantação. Atribuído-se o tropismo dos cisticercos por estes órgãos em decorrência do maior aporte sanguíneo (Almeida et al., 2002).

Os cisticercos degenerados de maneira geral ocorrem com maior frequência que cisticercos vivos como foi relatado por diversos autores entre eles Santos et al. (2001) que encontraram 83,5% de cisticercos degenerados; Almeida et al. (2002) encontraram

64,12%; Costa (2003) encontrou 88,46% e Almeida et al. (2006) 93,92%. Contudo, estes achados estão em desacordo com os de Minozzo et al. (2002), que relataram uma maior ocorrência de cisticercos viáveis após a inspeção muscular (81,2%), tratando-se, entretanto, de um trabalho experimental cuja contagem foi feita 90 dias após a inoculação.

Moreira et al. (2002) observaram as localizações preferenciais de implantação dos cisticercos de acordo com a viabilidade. Em relação aos cistos vivos, a maioria foi encontrada nos músculos da cabeça (61,5%), seguidos de coração (27,2%), carcaça (6,4%), língua (2,2%), diafragma (2,2%) e fígado (0,5%). Já a ocorrência de cisticercos degenerados registrou coração (63,7%), cabeça (32,4%), diafragma (1,9%), carcaça (1,0%), língua (0,6%) e fígado (0,2%). Na cisticercose viva, a cabeça foi o tecido mais afetado em mais de 50% dos casos, seguida do coração.

Almeida et al. (2006) analisaram as carcaças de 2.778 bovinos em matadouro sob inspeção federal localizado no município Teixeira de Freitas (BA); foram encontrados 115 casos de cisticercose, e destes 69% se alojaram no fígado, seguidos pelo coração (16%) e masseteres (13%), diferindo dos resultados de Santos et al. (2008) que, ao analisarem dados provenientes de 142.570 bovinos abatidos em matadouro com SIF localizado no município de Jequié (BA), constataram que 1,11% dos cisticercos estavam presentes nos músculos da cabeça, 1,7% no coração e 1,1% na língua e 1,74% na carcaça.

Souza et al. (2007) realizaram um estudo no Estado do Paraná, a partir da análise de 26.633 bovinos abatidos sob Inspeção Federal no período de julho a dezembro de 2000; sendo possível verificar que em 4,1% das carcaças detectadas como infectadas, 57,77% apresentavam cisticercos nos músculos da cabeça e 39,65% no coração. A prevalência dos cisticercos conforme sua classificação foi de 66,97% inviáveis e 33,02% viáveis nos sítios de inspeção de rotina. Dos cistos viáveis, 81% deles estavam alojados nos músculos da cabeça, e 17% nos do coração. Já os cisticercos inviáveis, 52,11% encontravam-se no músculo cardíaco e 47,88% nos músculos da cabeça. Do total das carcaças parasitadas com *C. bovis*, 94% delas eram monocisticercósicas, e 6% pluricisticercósicas aos exames de inspeção *post-mortem* de rotina.

Lopes et al. (2011) analisaram carcaças de 25 bovinos experimentalmente infectados e abatidos após 90 dias; Houve a inspeção de 26 regiões anatômicas, padronizada por cortes de 5mm. Foram recuperados 9.258 cisticercos no total. Desses, 12,55% encontravam-se na paleta, seguidos do coração (11%), fígado (9,48%) e

masseter (8,51%). Em contrapartida foi verificado um baixo grau de parasitismo no baço, cérebro, músculos da cauda, rins, esôfago e diafragma, representando 3,9% do número total de cisticercos, os demais cisticercos foram distribuídos em outras regiões anatômicas.

## 6. Diagnóstico, controle e medidas profiláticas

A cisticercose bovina é a doença de maior ocorrência em matadouros-frigoríficos sob Inspeção Federal. Além de sua importância em Saúde Pública, torna-se, a cada dia, motivo de maior preocupação para frigoríficos e produtores, pois os prejuízos que acarreta apresentam tendências de elevação (Fukuda et al., 2003).

O diagnóstico tradicionalmente é realizado durante a inspeção *post-mortem* que ocorre durante o abate nos matadouros e consiste basicamente na avaliação visual macroscópica de cisticercos nos tecidos e órgãos da carcaça, conforme normas técnicas do Serviço de Inspeção Federal (SIF) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Brasil, 1971).

De acordo com o artigo 176 do RIISPOA deve-se obrigatoriamente inspecionar a musculatura do coração, músculos da mastigação, língua, diafragma e seus pilares, bem como músculos facilmente acessíveis, quando for encontrada infestação leve ou moderada. O destino adequado será dado à carcaça após minuciosa pesquisa por cisticercos de acordo com grau de parasitismo encontrado, sendo que carcaças que apresentem somente um cisticercos calcificado nos locais de inspeção rotineiros são liberadas, não necessitando passar por nenhum tratamento térmico.

Por razões de natureza estética e comercial, o inspetor normalmente não retalha todos os órgãos, vísceras e carcaças submetidas à inspeção de rotina ou posteriormente a ela, o que pode permitir subestimação da real prevalência da doença (Fernandes, 2002).

A sensibilidade da inspeção varia de acordo com o número de cistos encontrados nos músculos examinados, bem como a fase de cistos. A medida também é muito subjetiva e pode variar dependendo do operador. Em alguns casos a sensibilidade pode ser tão baixa quanto 10-20% (Abuseir et al., 2006; Geysen et al., 2007), Sendo importante ressaltar que, quanto mais leve o grau de infecção, maior é a possibilidade de não detectar cisticercos através dos procedimentos rotineiros da inspeção (Santos, 1993), tornando-se necessário aumentar a área e o número de locais inspecionados, baseando-se na procedência do animal (Wanzala et al., 2003).

Na tentativa de aumentar a sensibilidade do exame *post-mortem*, Fukuda et al. (1998) fizeram estudo comparativo do método de análise do diafragma, sendo possível constatar que quando retirado o diafragma da carcaça, a análise era mais criteriosa aumentando em 15,48% a detecção de cisticercos. Já Eichenberger et al. (2010) propuseram realizar cortes adicionais na musculatura cardíaca para detectar maior quantidade de cisticercos, analisando coração de 1.088 bovinos oriundos de fazendas da Suíça. Do total de animais abatidos e inspecionados de acordo com os padrões da União Européia, foi encontrado 1,8% de parasitismo; já ao realizar os cortes adicionais proposto pelos autores foi possível constatar a prevalência de 4,5%.

Segundo Geerts et al. (1981), para o diagnóstico da cisticercose é necessária uma técnica de elevada sensibilidade, devido ao alto grau de adaptação da larva de *Taenia saginata* ao hospedeiro, que resulta em uma baixa produção de anticorpos.

Nesse âmbito, Dorny et al. (2000) realizaram um estudo na Bélgica o que tornou possível observar que do total de 1164 amostras sorológicas coletadas, 36 amostras (3,09%) eram positivas para cisticercose, enquanto que na inspeção foram detectadas somente três carcaças (0,26%), demonstrando que a técnica de inspeção detecta menor quantidade de carcaças infectadas com cisticercos. Corroborando Rodriguez-Hidalgo et al. (2003) que encontraram sensibilidade de 0,37% para a inspeção visual e 4,03% para o ELISA.

Monteiro (2004) ainda ressalta que o teste ELISA poderá atuar como exame complementar ao *post-mortem* e também contribuir para a precisão dos dados oficiais em estabelecimentos inspecionados, servindo de instrumento para a colheita de dados sanitários da situação atual do abate, onde não existe estrutura para inspeção ou quando existe, é pouco explorada.

A associação de testes diagnósticos com alta sensibilidade e especificidade poderão melhorar a eficiência do diagnóstico convencional, alcançando os animais ainda vivos (Minozzo et al., 2004; Giroto et al., 2009; Ogunremi & Benjamin, 2010).

As medidas de prevenção e controle do complexo teníase-cisticercose bovina devem abranger desde o diagnóstico *post-mortem* realizado junto aos estabelecimentos frigoríficos até o destino adequado das carcaças e vísceras comprometidas, evitando assim a transmissão da doença. Entretanto, sabe-se que a inspeção da carne bovina não é suficiente para eliminação da *Taenia saginata*. Esta técnica, apesar da grande contribuição epidemiológica, apresenta limiar de detecção limitado quando os animais são levemente infectados (Kyvsgaard et al., 1990; Abuseir et al., 2006).

O Ministério da Saúde (2006) preconiza que seja realizado um bloqueio de foco onde serão identificados indivíduos eliminando proglótides, animais com cisticercose e familiares envolvidos, dessa forma executando o tratamento dos envolvidos. É imperiosa a fiscalização de produtos de origem vegetal, impedindo que os mesmos sejam irrigados com água de esgoto ou outras fontes contaminadas.

Deve-se investir na educação sanitária do homem, para que este tenha conhecimento do ciclo biológico e assim evite defecar em locais inapropriados, além de adquirir hábitos higiênicos adequados como lavar frutas, verduras, evitar ingerir carne bovina crua ou mal cozida (cisticercose morre a temperatura de 50°C no interior da carne) (Fortes, 1997; Urquhart et al., 1998; Rey, 2001).

Os prejuízos advindos da ocorrência da cisticercose são diagnosticados somente na fase final da cadeia produtiva, no momento do abate do animal e sendo assim são irreversíveis.

Abdussalam (1974) relata que as perdas econômicas em países em desenvolvimento correspondem a US\$ 20,00 a US\$ 25,00 por carcaça de animal afetado. Quando o custo da saúde pública é também incluído, fica ainda mais evidente o significativo problema mundial (Murrel, 1991).

Fan (1997) estimou as perdas econômicas associadas ao aparecimento de cisticercose na cadeia produtiva de alimentos, e calculou um prejuízo da ordem de 420 milhões de dólares anuais na América do Sul.

Cabaret et al. (2002) apontam três pontos importantes para prejuízos na cadeia produtiva da carne com a existência da cisticercose: a necessidade de estrutura no estabelecimento de inspeção para congelamento de carcaças, transporte com instalação para congelados e perda em peso devido ao congelamento (estimado em 2 a 5%).

Fukuda (2003) estimou que, para cada animal infectado, o frigorífico despende a cifra de US\$ 23,27, valor este equivalente a 7,7% do total pago ao produtor para uma carcaça sadia. Em seu estudo, o valor total gasto para cobrir os custos com o saneamento de carnes de animais com cisticercose, através do emprego do frio (congelamento), ficou estimado em US\$ 203.023,54. Santos et al. (2008) verificaram 31,53% (de um total R\$ 214.747,70) de prejuízos gerados pela condenação de carcaças com cisticercose.

Devido aos prejuízos acarretados para a saúde pública e pecuária, torna-se necessário implantar medidas de controle mais eficazes, como exemplo conhecimento o prévio da sanidade do rebanho por meio de teste sorológico de triagem (ELISA). O teste

ELISA também pode ser utilizado para determinar áreas com casos de cisticercose através de levantamentos epidemiológicos, visto que, animais oriundos de áreas endêmicas sofreriam uma inspeção mais minuciosa, e assim evitaria a liberação equivocada de carcaça parasitada por cisticercos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUSSALAM, M. El problema de la teniasis y la cisticercosis. In: VII Reunião Interamericana a nível ministerial sobre el control de la fibre aftosa y otras zoonosis. **Anais...** Trinidad: OPAS/OMS, 1974.

ABUSEIR, S.; SCHNIEDER, T.; KLEIN, G.; KÜHNE, M. Visual diagnosis of *Taenia saginata* cysticercosis during meat inspection: is it unequivocal? **Parasitology Research**, v.99, p.405–409, 2006.

ACHA, P.; SZIFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 2 ed. Washington: OPS/OMS, 1986. p.989.

AGAPEJEV, S. Aspectos clínico-epidemiológicos da neurocisticercose no Brasil. Análise crítica. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 61, n. 3, p.822-828, 2003.

ALMEIDA, L.P.; MOREIRA, M.D.; REIS, D.O.; SANTOS, W.L.M. Cisticercose bovina: Um estudo comparativo entre animais abatidos em frigoríficos com serviço de Inspeção Federal e com Inspeção Municipal. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 99, p. 51-55, 2002.

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 anatomopatológica de diagnósticos sugestivos de cisticercose. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 13, n. 3, p. 178-182, 2006.

ALVES, T.A.G. **Prevalência da cisticercose em bovino e suíno no município de Camboriú**, 2000. 44 f. Monografia. (Especialização em Sanidade Animal.) Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Camboriú.

ARÇARI, A.T. **Cisticercose bovina: uma revisão e estudo com bovinos abatidos em frigorífico com Inspeção Federal no ano de 2007, em Teixeira de Freitas – BA**, 2008. 30f. Monografia. (Especialização em Defesa e Vigilância Sanitária Animal). Universidade Castelo Branco, Vitória.

BARRIGA, O.O. The eosinophils in parasitic infections. **Parasitología al Dia**, v. 19, p. 44-56, 1995.

BEEF WORLD. O mega portal da bovinocultura de corte brasileira. Notícias 2010. **Prejuízos com a cisticercose chegam a 50% no valor da arroba**. Disponível em: <http://www.beefworld.com.br/noticias/post/prejuizos-com-a-cisticercose-bovina-chegam-a-50-do-valor-do-arroba>> Acesso em 15/07/2011.

BOGH, H.O.; LIND, P.; GRONVOLD, J.; LLSCE, B.; MAEDA, G.E.; HENRIKSEN, S.A.; NANSEN, P.; GEERTS, S. Experimental single and trickle infections of cattle with *Taenia saginata*: studies of immunodiagnosis. **Research in Veterinary Science**, v 60, p.64-68, 1996.

BRASIL. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Capítulo III, Inspeção *post-mortem*. Seção I, generalidades bovinos. 1951. Art 176, p.40.

BRASIL. Ministério Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Inspeção de carnes: Padronização de técnicas, instalações e equipamentos. Brasília, DIPOA/DICAR, 1971. 183p. Tomo I: Bovinos.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 1100, de 24 de maio de 1996. Estabelece a lista Nacional de doenças de notificação compulsória. Diário Oficial da União, Brasília, v.8 4, n.101, p.9133, 27 maio 1996.

CABARET, J.; GEERTS, S.; MADELINE, M.; BALLANDONNE, C.; BARBIER, D. The use of urban sewage sludge on pasture: the cysticercosis threat. **Veterinary Research**, v.33, p.575-597, 2002.

CARLTON, W.W. & AVIN, M.D. **Patologia veterinária especial de Thoson**. 2. ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 1998. p. 438.

CARMO, R.G. Prevalência da cisticercose bovina no estado do Mato Grosso do Sul. **Higiene Alimentar**, v. 11, n. 50, p. 45-50, 1997.

CDC. Center of diseases control. Laboratory identification of parasites of public health concern. **Parasites and health, taeniasis**. Disponível em: <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/html/Taeniasis.htm> > Acesso em 15/08/2011.

CÔRTEZ, J.A. Complexo teníase humana-cisticercose bovina e suína II. **Revista de Educação Continuada do CRMV – SP**, v. 3, p. 61-70, 2000.

COSTA, R.F.R.; SANTOS, I.F.; TORTELLY, R. Cisticercose hepática bovina. In: XXIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 2002. Gramado. **Anais...** Gramado: Sociedade de Veterinária do Rio Grande do Sul.

COSTA, R.F.R. **Caracterização das lesões imputadas ao *Cysticercus bovis*, na inspeção *post-mortem* de bovinos, pelos exames macroscópico, histopatológico e pela reação em cadeia da polimerase (PCR)**, 2008. 89f. Tese. (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal). Universidade Federal Fluminense, Niterói.

DORNY, P.; VERCAMMEN F.; BRANDT, J.; VANSTEENKIST, E W.; BERKVENS, D.; GEERTS S.; Seroepidemiological study of *Taenia saginata* cysticercosis in Belgian cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 88, n. 1-2, p. 43-49, 2000.

EICHENBERGER, R.M.; STEPHAN, R.; DEPLAZES, P. Increased sensitivity for the diagnosis of *Taenia saginata* cysticercus infection by additional heart examination compared to the EU-approved routine meat inspection. **Food Control**, v.22. p.989-992, 2011.

FALAVIGNA–GUILHERME, A.L.; SILVA, K.; ARAÚJO, S.M.; TOBIAS, M.L.; FALAVIGNA, D.L.M. Cisticercose em animais abatidos em Sabáudia, Estado do Paraná. Comunicação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.5, p.950-951, 2006.

FAN, P.C. Annual economics loss caused by *Taenia saginata asiática* taeniasis in East Asia. **Parasitology Today**, v. 13, p. 194-196, 1997.

FAO. Food and Agriculture Organization. Organização das nações unidas para agricultura e alimentação. Food Outlook, **Global market analysis, meat and meat products**, 2008. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/011/ai474e/ai474e09.htm> . Acesso em 29/03/2011.

FERNANDES, J.O.M., BUZZETI, W.A.S. Prevalência de cisticercose bovina em animais abatidos em frigoríficos sob inspeção federal da 9ª região administrativa de Araçatuba, SP. **Higiene Alimentar**, v.15, n.87, p.30-37, 2001.

FERNANDES, J. O. M.; SILVA, C.L.S.; BORGES, J.H.R.; PEGAINÉ, J.C.; COELHO, R.V. Prevalência da cisticercose bovina em animais abatidos em estabelecimento sob regime de Inspeção Federal no município de Andradina-SP. **Revista de Ciências Agrárias e Saúde**, v.2, n.1, p14 - 17, 2002.

FITERMAN, I. R. **Sistemas de informação geográfica no estudo da notificação dos casos de cisticercose bovina no Estado da Bahia**, 2005. 108 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Tropical), Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária, Salvador.

FLISSER, A.; VINIEGRA, A.; AGUILLAR-VEGA, L.; GARZA-RODRIGUEZ, A.; MARAVILLA, P.; AVILA, G. Portrait of human tapeworms. **Journal of Parasitology**, v.90, n. 4, p. 914-916, 2004.

FLISSER, A.; CORREA, D.; AVILLA, G.; MARVILLA, P. Biology of *Taenia solium*, *Taenia saginata* and *Taenia saginata asiatica*. In: Murrell, K.D. WHO/FAO/OIE **Guidelines for the surveillance, prevention and control of taeniosis/cysticercosis**. Paris, France, 2005, p. 1–8.

FONSECA, M.A.; DUARTE, L.S.; AMORIM, M., SERRA-FREIRE, N.M. Cisticercose bovina em animais inspecionados em matadouro frigorífico, no município de Três Rios, Rio de Janeiro. In: IV Congresso Estadual de Saúde Pública e Alimentos, 2001. **Anais...** Nova Friburgo: Conselho Regional de Medicina Veterinária do Rio de Janeiro.

FORTES, E. **Parasitologia veterinária**. 3. ed. São Paulo: Cone, 1997. p. 183- 185.

FREITAS, J.A.; PALERMO, E.N. Complexo teníase-cisticercose. Avaliação parcial do Estado do Pará. **Brazilian Veterinary Research Animal Science**, v.33, p. 267-272, 1996.

FUKUDA, R.T.; SANTOS, I.F.; ANDRADE, C.R. Estudo comparativo entre técnicas de inspeção do diafragma para o diagnóstico da cisticercose bovina. **Higiene Alimentar**, v.12, n.55, p.51-62, 1998.

FUKUDA, R.T. **Contribuição ao estudo da epidemiologia da cisticercose bovina na região administrativa de Barretos. Aspectos ambientais e econômicos**, 2003. 127f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

GALLIE, G.J.; SEWELL, M.M.H. The serological response of three month old calves to infection with *Taenia saginata* (*Cysticercus bovis*) and their resistance to reinfection. **Tropical Animal Health Production**, v.6, p.163-171, 1974.

GALVÃO, G.P. **Importância da inspeção veterinária no abate de bovinos na detecção de *Cysticercus bovis* – um levantamento em abatedouros com Inspeção Estadual no Estado do Espírito Santo no ano de 2007**. 2008. 31f. Monografia. (Especialização em Defesa Sanitária Animal). Universidade Castelo Branco, Vitória.

GEERTS, S.; KUMAR, V.; CEULEMANS, F.; MORTELMANS, J. Serodiagnosis of *Taenia saginata* cysticercosis in experimentally and naturally infected cattle by enzyme linked immunosorbent assay. **Research Veterinary Science**, v.30, p. 288-293, 1981.

GEMMELL, M., MATYAS, Z., PAWLOWSKI, Z.; SOULSBY, E.J.L. **Guidelines for surveillance prevention and control of taeniasis/ cysticercosis**. Geneva: World Health Organization, 1983. 207p.

GEYSEN, D., KANOBANA, K., VICTO, B., RODRIGUEZ-HIDALGO, R., BORCHGRAVE, J., DE BRANDT, J., DORNY, P. Validation of meat inspection results for *Taenia saginata* cysticercosis by PCR-restriction fragment length polymorphism. **Journal of Food Protection**, v.70, p.236–240, 2007.

GIROTTI, A.; PINTO, P.S.A.; DIAS, J.C.O.; CHAVES, L.S.; FERREIRA, H.C.C. Detecção de peptídeos importantes para o diagnóstico da cisticercose bovina no immunoblot. **Ciência Rural**, v.39, n.4, p. 1147-1151, 2009.

HIDALGO, S.C. **Panorama da cisticercose no Brasil**. 2008, 47f. Monografia (Especialização em Saúde Pública). Universidade Castelo Branco, Campo Grande-MS.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas. Pesquisas trimestrais do abate de animais, do leite, do couro e da produção de ovos de galinha. Brasil, 2010. Disponível em:<[http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia\\_visualiza.php?id\\_noticia=1847&id\\_pagina=1](http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1847&id_pagina=1)>. Acesso em 22/07/2011

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas. Pesquisas trimestrais do abate de animais, do leite, do couro e da produção de ovos de galinha. Brasil, 2012. Disponível em:[http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia\\_visualiza.php?id\\_noticia=2107&id\\_pagina=1](http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=2107&id_pagina=1) Acesso em 04/10/2012.

JÚNIOR, R.S.L.; RIBEIRO, P.M.; ANTONELLI, E.J.; FALEIROS, A.C.G.; TERRA, S.A.; REIS, M.A.; TEIXEIRA, V.P.A. Características evolutivas do *Cysticercus cellulosae* no encéfalo e no coração humanos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.35, n.6, p.617-622, 2002.

KHANIKI, G.H.R.J., RAEI, M., KIA, E.B., MOTEVALLI, A.H., SELSELEH, M. Prevalence of bovine cysticercosis in slaughtered cattle in Iran. **Tropical Animal Health Production**, v.42, p.141–143, 2010.

KYVSGAARD, N.C.; ILSOE, B.; HENRIKSEN, S.A.; NANSEN, P. Distribution of *Taenia saginata* cysts in carcasses of experimentally infected calves and its significance for routine meat inspection. **Research Veterinary Science**, v.49, p.29–33, 1990.

KYVSGAARD, N.C.; ILSØE, B.; HENRIKSEN, S.A.; FELD, N.C.; NANSEN, P. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of *Taenia saginata* cysticercosis in cattle. **Acta Veterinaria Scandinavia**, v.32, p.233-241, 1991.

LOPES, W.D.Z.; SANTOS, T.R.; SOARES, V.; NUNES, J.L.N.; MENDONÇA, R.P.; LIMA, R.C.A.; SAKAMOTO, C.A.M.; COSTA, G.H.N.; SOCCOL, V.T.; OLIVEIRA, G.P.; COSTA, A.J. Preferential infection sites of *Cysticercus bovis* in cattle experimentally infected with *Taenia saginata* eggs. **Research Veterinary Science**, v.90, p.84-88, 2011.

MANHOSO, F.F.R. & PRATA, L.F. Prevalência de cisticercose bovina na região oeste do Estado de São Paulo. **Higiene Alimentar**, v.18, n. 121, p. 42-49, 2004.

MINOZZO, J.C.; GUSSO, R.L.F.; CASTRO, E.A.; LAGO, O.; SOCCOL, V.T. Experimental bovine infection with *Taenia saginata* eggs: recovery rates and cysticerci location. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.45, n.4, p.451-455, 2002.

MINOZZO, J.C.; THOMAZ-SOCCOL, V.; OLORTEGUI, C.C.; SOARES, V.E.; COSTA, A.J. Teste Imunoenzimático (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) para diagnóstico da cisticercose bovina e estudo da cinética de produção de anticorpos contra-*Cysticercus bovis*. **Ciência Rural**, v. 34, n. 3, p. 857-864, 2004.

MONTEIRO, L.L. **Emprego de antígenos de larvas de *Taenia crassiceps* e *Taenia solium* em teste ELISA para diagnóstico da cisticercose bovina.** 2004. 80f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG.

MORAIS, H.R.; MOREIRA, M.D.; TAVARES, M. Levantamento de cisticercose bovina em matadouro-frigorífico no município de Uberlândia-MG – Comunicação. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v.15, n.2, p;137-141, 2009.

MOREIRA, M.D.; ALMEIDA, L.P.; REIS, D.O.; SANTOS, W.L.M. Cisticercose bovina: um estudo com bovinos abatidos em matadouro municipal de Uberlândia, MG. **Higiene Alimentar**, v.16, n.100, p. 37-41, 2002.

MURREL, K.D. Economic losses resulting from food-borne parasitic zoonoses. **Southeast Asian Journal Tropical Med. Public Health**, v. 22, p. 377-381, 1991.

OGUNREMI, O. & BENJAMIN, J. Development and field evaluation of a new serological test for *Taenia saginata* cysticercosis. **Veterinary Parasitology**, v.169. p. 93–101, 2010.

OLIVEIRA, A.W.; OLIVEIRA, J.A.C.; BATISTA, T.G.; OLIVEIRA, E.R.A.; NETO, C.C.C.; FILHO, A.M.E. Estudo da prevalência da cisticercose bovina no Estado de Alagoas. **Acta Veterinária Basílica**, v.5, n.1, p.41-46, 2011.

PAWLOVSKY Z.; SCHULTZ M.G. Taeniasis and cysticercosis (*Taenia saginata*). **Advanced Parasitology**, v.10, p. 269-343, 1972.

PEREIRA, M.A.V.C.; SCHWANZ, V.S.; BARBOSA, C.G. Prevalência da cisticercose em carcaças de bovinos abatidos em matadouros-frigoríficos do Estado do Rio de Janeiro, submetidos ao controle do serviço de Inspeção Federal (SIF-RJ), no período de 1997 a 2003. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.1, p.83-87, 2006.

PFUETZENREITER, M.R. & ÁVILA-PIRES F.D. Epidemiologia da teníase-cisticercose por *Taenia solium* e *Taenia saginata*. **Ciência Rural**, v.30, n. 3, p. 541-548, 2000.

REIS, D.O.; MUNDIM, M.J.S.; CABRAL, D.D.; COSTA-CRUZ, J.M. Cisticercose bovina: 15 anos de ocorrência em animais abatidos em Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. – 1979 a 1993. **Higiene Alimentar**, v.10, n.43, p. 33-35, 1996.

REY, L. **Parasitologia: Parasitos e doenças parasitárias do homem na América e na África**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p.487-515.

ROBINSON, P.; ATMAR, R.L.; LEWIS, D.E.; WHITE, A.C. Granuloma cytokines in murine cysticercosis. **Infection and Immunity**, v.65, p.2925-2931, 1997.

RODRIGUEZ-HIDALGO, R.; BENITEZ-ORTIZ, W.; DORNY, P.; GEERTS, S.; N-ROMAN, J.; PROAÑO-PEREZ, F.; CHAVEZ-LARREA, M.A.; BARRIONUEVO-SAMANIEGO, M.; CELI-ERAZO, G.D.; RO, M.; VIZCAINO-ORDONEZ, L.; BRANDT, J. Taeniosis-cysticercosis in man and animals in the Sierra of northern Ecuador. **Veterinary Parasitology**, v. 118, p. 51-60, 2003.

SANTOS, I.F. **Um modelo de inspeção para a detecção da cisticercose muscular bovina em matadouros**. 1993. 73 f. Tese (Livre Docência) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Fluminense, Niterói.

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

SANTOS, V.C.R.; RAMOS, E.T.R.; FILHO, F.S.A.; PINTO, J.M.S.; MUNHOZ, A.D. Prevalência da cisticercose em bovinos batidos sob inspeção federal no município de Jequié, Bahia, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 132-139, 2008.

SCANDRETT, B.; PARKER, S.; FORBES, L.; GAJADHAR, A.; DEKUMYOY, P.; WAIKAGUL, J.; HAINES, D. Distribution of *Taenia saginata* cysticerci in tissues of experimentally infected cattle. **Veterinary Parasitology**, v.164, p.223–231, 2009.

SCHANTZ, P.; CRUZ M.; SARTI E.; PAWLOWSKI . Potencial erradicability of teniosis and cysticercosis. **Bulletin of Pan American Health Organization**, v. 27, p. 397-403, 1993.

SCHEIN, F.B.; SANTOS, M.D.; NETO G.J.M.; FREITAS, S.H.; SIMÕES, M.J.; MARTINS, E. B.P.; CAMARGO, L.M. Prevalência de cisticercose em bovinos abatidos em frigoríficos com Inspeção Federal, no Estado de Mato Grosso. **Arquivo Instituto Biológico**. São Paulo, v.71, p. 1-749, 2004.

SCHENK, M.A.M.; SCHENK, J.A.P. Prevalência de tuberculose, cisticercose e hidatidose em bovinos abatidos nos matadouros-frigoríficos do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil - 1974/1979, 2000. Disponível em: <http://www.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/cot/COT11.html> > Acesso em 13/08/2011.

SCHRAMLOVÁ, J.; BLAZEK K. Morphology of *Cysticercus bovis* during its development. **Folia Parasitológica**, v. 30, p. 335-339, 1983.

SIDDIQUI, E.H. The cuticle of cysticerci of *Taenia saginata*, *T. hydatigena*, and *T. pisiformis*. **Quarterly Journal of Microscopical Science**, v.104, n.1, p.141-144, 1963.

SMITH, H.J.; SNOWDON, K.E.; FINLAY, R.C. Serological diagnosis of cysticercosis by Enzyme-linked Immunosorbent Assay in experimentally infected cattle. **Journal of Veterinary Research**, v.55, p.274-276, 1991.

SOTELO, J.; DEL BRUTTO, O. Brain cysticercosis. **Archives of Medical Research**, v.31, p.3-14, 2000.

SOUZA, W.K.; PESSÔA-SILVA, M.C.; MINOZZO, J.C.; THOMAZ-SOCCOL, V. Prevalência da cisticercose bovina no Estado do Paraná, sul do Brasil: avaliação de 26.465 bovinos inspecionados no SIF 1710. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 4, p. 675-684, 2007.

THEVES, G. Meat inspection during the second half of the 19th century, reflection of progress in applied sciences. **Bulletin Social Science and Medicine**, v. 35, n. 1, p. 35-59, 2002.

TORRES, F.O.; ROCCO, F.S.; MIRANDA, Z.B. Prevalência da cisticercose bovina no estado do Rio de Janeiro em estabelecimentos sob Inspeção Federal. In: XXIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária (CONBRAVET), 2002, Gramado. RS. **Anais**. Porto Alegre: SOVERGS, 2002, p.57.

UNGAR, M.L.; GERMANO, P.M.L. Epidemiologia e controle da cisticercose bovina. **Comunidade Científica**, v. 15, n. 1, p. 15-20, 1991.

UNGAR, M.L.; GERMANO, P.M.L. Etiopatogenia de Cisticercose. **Revista Comunidade Científica**, v.15, n.1, p. 43-49, 1991b.

URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; DUNN, A.M.; JENNINGS, F.W. **Parasitologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1990, p.306.

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

VERÍSSIMO, A. Panorama da carne brasileira no mercado mundial e o marketing internacional. **Biológico**, São Paulo, v.69, n.2, p.35-37, 2007.

WANZALA, W.; ONYANGO-ABUJE, J.Á.; KANG'ETHE, E.K.; ZESSIN, K.H.; KYULE, N. M.; BAUMANN, M.P.O.; OCHAUD, H.; HARRISON, L.J.S. Control of *Taenia saginata* by post-mortem examination of carcasses. **African Health Sciences**, v.3, n.2, p. 68-76, 2003.

WHITE, A.C. Neurocysticercosis: Updates on epidemiology, pathogenesis, diagnosis and management. **Annual Reviews of Medicine**, v.51, p.187-206, 2000.

YAN, L.; ZHU, M.S.; BAO, M.S.; CHEN, Y.M.S. Observations on pathological and histochemical changes in piglet livers infected with *Taenia saginata asiatica*. **Frontiers of Medicine in China**, v.1, n.3, p.258–263, 2007.

ZAMPINI, L. M. Cisticercose bovina no Paraná no período de 1982 a 1988. **Higiene Alimentar**, v.8, n.30, p. 24-25, 1994.

## OBJETIVOS

### Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo determinar as características morfológicas das lesões causadas pela forma larvar da *Taenia saginata*, bem como avaliar paralelamente a evolução da resposta imunológica de bovinos infectados naturalmente e experimentalmente, associando as manifestações da sua resposta celular com a resposta humoral, como subsídio ao diagnóstico imunológico e anátomo-patológico da cisticercose bovina.

### Objetivos específicos

- Verificar a taxa de implantação de cisticercos, sua distribuição e viabilidade em tecidos inspecionados rotineiramente com tecidos não rotineiros em bovinos experimentalmente e naturalmente infectados;
- Caracterizar microscopicamente o perfil das lesões promovidas pela larva de *Taenia saginata* em bovinos infectados experimentalmente, por meio de microscopia de luz;
- Avaliar os mecanismos de evasão do parasito e as características da resposta imune em bovinos infectados experimentalmente, sobretudo quanto à produção de imunoglobulinas da classe IgM, IgG total, IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub>;
- Interrelacionar as diferentes estruturas morfológicas descritas nos diferentes estádios de desenvolvimento da cisticercose (cisticercos viáveis - vivos e inviáveis - degenerados e calcificados), em diferentes tecidos de implantação com a resposta imunológica verificada pelo teste ELISA;
- Comparar o desempenho dos métodos morfológicos (microscopia de luz) e sorológicos (ELISA) com o anátomo-patológico (inspeção *post-mortem*) no diagnóstico da cisticercose bovina.

## CAPÍTULO 1

Perfil da implantação de cisticercos em tecidos de bovinos infectados com ovos de  
*Taenia saginata*

## Resumo

A cisticercose bovina é uma zoonose de distribuição mundial, frequentemente diagnosticada em matadouros sob inspeção. No Brasil, o controle da cisticercose é feito por diagnóstico anátomo-patológico realizado durante a inspeção *post-mortem* nos matadouros. Objetivou-se neste estudo verificar a taxa de implantação de cisticercos (%), sua localização nos tecidos inspecionados rotineiramente e os não, além da viabilidade dos cisticercos recuperados. Nos grupos 1 e 2 foram analisados os tecidos inspecionados rotineiramente nas linhas de inspeção, no grupo 1 outras regiões anatómicas também foram analisadas. Com relação à localização muscular dos cisticercos no grupo 1, os sítios inspecionados rotineiramente predominantes de ocorrência foram o coração (37,7%), músculos mastigatórios (17,1%) e língua (2,3%). Em relação aos cortes comerciais estudados, foram encontrados os valores de 8,2% de cisticercos no acém, 6,6% na paleta, 6,2% no contra-filé e 5,8% na alcatra. Os outros tecidos não inspecionados rotineiramente que apresentaram cisticercos foram o diafragma, fígado e o esôfago, com 2,7%, 12,0% e 1,2% dos cisticercos totais. Houve predominância de cisticercos inviáveis nos músculos mastigatórios (77,3%), seguidos de 76,3% na musculatura do coração e 71,0% do fígado e na língua (50%). Os cisticercos viáveis predominaram na alcatra (80,0%), diafragma (71,4%) e esôfago (66,7%). Nos sítios de predileção dos animais naturalmente infectados, foram encontrados 61,78% dos cisticercos totais no coração, seguido dos músculos mastigatórios (38,21%) e fígado (10,19%). Em relação à viabilidade, o fígado apresentou 87,5% de cisticercos inviáveis, seguidos da língua com 66,7%, coração 63,2%, entretanto nos tecidos mastigatórios foi encontrada a maior frequência de cisticercos viáveis (68,3%). O alto percentual encontrado de cisticercos viáveis na alcatra é fator preocupante, pois este corte pode ser consumido sem o devido tratamento térmico, aumentando a chance dos indivíduos contraírem a teníase.

Palavras-chave: Tecidos de implantação, inspeção rotineira, cisticercose bovina.

## Abstract

Bovine cysticercosis is a zoonosis widespread all over the world, frequently diagnosed in slaughterhouses under inspection. In Brazil, cysticercosis is controlled by anatomical-pathological diagnosis carried out during *post-mortem* inspection in the slaughterhouses. The objective in this study was to check implantation rate of cysticercus (%), its location in routinely inspected tissues, in addition of the viability of recovered cysticerci. In groups 1 and 2, the routinely inspected tissues were analyzed in the inspection lines and other anatomical regions were analyzed in group 1. Regarding muscular location of cysticercus in Group 1, the sites routinely inspected with predominance of occurrence were the heart (37.7%), head muscles (17.1%) and the tongue (2.3%). In relation to the assessed commercial cuts, 8.2% of cysticerci were found in the sparerib, 6.6% in the shoulder, 6.2% in the tenderloin and 5.8 in the rump. Other not-routinely inspected tissues that presented cysticerci were the diaphragm, the liver and the esophagus with 2.7%, 12.0% and 1.2% of the total cysticerci. Not viable cysticercus was the majority in head muscles (77.3%), followed by 76.3% in heart muscle and 71.0% in the liver and tongue (50%). Concerning viability, liver presented 87.5% of the not viable cysticerci, followed by the tongue 66.7%, and the heart with 63.2%, but the highest frequency of viable cysticerci was found in the head muscles (68.3%). The high percentage of viable cysticerci found in the rump demands concern because this cut can be consumed with no proper thermal treatment, increasing the chances of individuals to have taeniasis.

**Keywords:** Bovine cysticercosis, implantation tissues, routine inspection

## 1. Introdução

A cisticercose é uma doença de caráter zoonótico e distribuição mundial. O agente etiológico em sua forma adulta é a *Taenia saginata*, que acomete o ser humano como hospedeiro definitivo (teníase) e, em sua forma larvar, atinge a musculatura do bovino, seu hospedeiro intermediário, caracterizando a cisticercose. De acordo com Souza et al. (2007) trata-se de uma doença cujo homem é o transmissor, e a prevalência encontra-se elevada no país, em torno de 5%. Atualmente a cisticercose é um dos grandes problemas para a saúde pública e também para pecuaristas, pois é a doença mais frequentemente diagnosticada em matadouros-frigoríficos, acarretando prejuízos tanto de ordem sanitária quanto de ordem econômica.

Estimativas dos prejuízos acarretados pela cisticercose bovina chegam a valores próximos a USD 410.000 anuais com carcaças condenadas (Khaniki et al., 2010). Levando em consideração dados fornecidos pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em relação ao número de bovinos abatidos no ano de 2010 no Brasil (29,6 milhões de cabeças), esses prejuízos podem tomar enormes proporções, podendo chegar numa depreciação de até 50% no valor da arroba (Beef World, 2010).

Usualmente o controle da cisticercose é realizado por meio de diagnóstico anátomo-patológico durante a inspeção *post-mortem* nos matadouros, consistindo basicamente da observação macroscópica e cortes padronizados da carcaça em sítios considerados de predileção para implantação dos cisticercos. De acordo com as normas técnicas do Serviço de Inspeção Federal (SIF) deve-se realizar obrigatoriamente a inspeção através de cortes na musculatura dos músculos mastigatórios (masséter e pterigóideo), língua, coração, diafragma e seus pilares, e musculatura esquelética em geral, especialmente os músculos do pescoço e peito (Brasil, 1971). A carcaça sofrerá destinação adequada de acordo com o nível de parasitismo, podendo ser condenada parcial ou totalmente, ou passar por tratamentos pela salga ou térmicos, como a refrigeração e esterilização pelo calor. Segundo Kyvsgaard et al. (1989), a eficácia da inspeção pode ser baixa devido à área da superfície avaliada. Por exemplo, nos masséteres a superfície examinada corresponde a 2.000 a 2.500 cm<sup>2</sup> e no coração a 250 cm<sup>2</sup>, que revelaria somente 40% dos cisticercos na cabeça e 10% no coração.

As carcaças monocisticercósicas e aquelas parasitadas em sítios não convencionais podem passar despercebidas durante a inspeção de rotina, dificultando o seu correto destino. Essas observações também podem ser reforçadas por um modelo

probabilístico desenvolvido por Kyvsgaard et al. (1991), mostrando que mais de 85% dos animais infectados podem passar despercebidos durante a inspeção de rotina. Contudo, apesar das limitações, a inspeção ainda continua sendo um método importante e específico para identificação da infecção no animal (Souza et al., 2007).

A restrição do método de inspeção talvez seja condicionada a fatores de natureza comercial, visto que ao inspecionar a carcaça os agentes sanitários fazem os cortes padronizados, justamente para que o produto não perca sua atratividade comercial. Para minimizar os prejuízos acarretados pela cisticercose, têm-se estudado testes diagnósticos auxiliares como o teste ELISA (Minozzo et al., 2002; Monteiro, 2004; Ogunremi & Benjamin, 2010; Thomaz-Soccol et al., 2010), além da exploração anátomo-patológica (Santos, 1976; Eichenberger et al., 2010). É oportuno ressaltar que já é prevista a inspeção *post-mortem* minuciosa das peças suspeitas no Departamento de Inspeção Final (DIF) dos estabelecimentos inspecionados pelo SIF (Pinto, 2008).

Diante do exposto, objetivou-se no presente estudo avaliar a ocorrência de cisticercos de *Taenia saginata* em carcaças de bovinos, comparando tecidos rotineiramente inspecionados com aqueles não rotineiros para pesquisa da cisticercose, além de verificar a viabilidade e a distribuição dos cisticercos nos diferentes tecidos de bovinos com infecção natural e experimental, como subsídio ao diagnóstico anátomo-patológico da cisticercose bovina.

## 2. Material e métodos

### 2.1. Preparo e inoculação experimental

Um paciente positivo para teníase foi identificado por meio do exame coproparasitológico e após tratamento específico se constituiu no doador de um exemplar de tênia para a inoculação de ovos em bovinos. A espécie *Taenia saginata* foi confirmada pela morfologia apresentada na microscopia direta.

O exemplar de tênia ficou armazenado sob refrigeração (4°C), imersa em solução contendo água destilada e cloridrato de oxitetraciclina 500mg (Terramicina®). O preparo do inóculo consistiu de lavagem exaustiva do parasito em água destilada, dissecação com auxílio de lupa e centrifugação. Foi realizada contagem de número de ovos com auxílio de microscópio. Para inoculação experimental utilizou-se 1ml do inóculo contendo 120.000 ovos de *Taenia saginata*, administrado por via oral com

auxílio de sonda gástrica e, em seguida fornecidos cerca de 500 ml de água através da sonda, garantindo que toda alíquota fosse ingerida.

As normas de conduta para o uso de animais em pesquisa do Comitê de Ética do uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa foram seguidas, conforme o Processo CEUA/UFV nº 20/2011.

## 2.2. Amostragem

Foram selecionados 9 bovinos machos, de raça mestiça holandês-zebu, com idade aproximada de seis meses que pertenceram ao grupo 1. Os animais deste grupo foram infectados experimentalmente com ovos de *Taenia saginata*. Após o período de 150 dias foi realizado o abate do primeiro animal, e os demais em intervalos posteriores de 30 dias. A seleção dos animais enviados para o abate foi aleatória utilizando o programa Epiinfo 3.5.1 (CDC, 2008).

O grupo 2 consistiu de dados provenientes de 173 bovinos naturalmente infectados e abatidos em matadouros-frigoríficos comerciais, localizados no município de Colatina-ES (n=170) e Muriaé-MG (n=3). Todos os animais desse grupo foram diagnosticados como portadores de cisticercose durante o exame anátomo-patológico realizado nos procedimentos usuais do Serviço de Inspeção Federal e Estadual.

## 2.3. Protocolo de abate e inspeção dos bovinos

A inspeção *post-mortem* dos bovinos com infecção natural e experimental foi realizada de acordo com os padrões da legislação vigente (Brasil, 1971).

Para a pesquisa dos cisticercos no grupo 1 foram analisados os tecidos inspecionados rotineiramente nas linhas de inspeção *post-mortem* (coração, língua, músculos mastigatórios), e outras áreas consideradas não rotineiras para inspeção representadas por quatro cortes comerciais de carnes, obtidos de meia carcaça, localizados nos quartos dianteiro e traseiro (acém, paleta, alcatra e contra-filé). Ainda foram examinados o diafragma e seus pilares, esôfago e o fígado, aqui considerados como tecidos não rotineiros para pesquisa da cisticercose.

Já para os animais do grupo 2 foram analisados somente os tecidos rotineiramente inspecionados através de cortes padronizados durante a inspeção *post-mortem* realizada pelos agentes sanitários responsáveis nos respectivos matadouros.

#### 2.4. Identificação e classificação dos cisticercos

A identificação dos cisticercos foi realizada através de visualização macroscópica dos mesmos por uma equipe previamente treinada. Os cisticercos foram classificados como viáveis ou inviáveis, e sua localização anatômica foi descrita. O cisticerco foi considerado viável, quando se apresentava como uma vesícula translúcida, ovóide ou alongada cheia de líquido claro onde se encontra o embrião invaginado (Rey, 2001). Aqueles em estado de mineralização ou caseosos foram classificados como inviáveis.

#### 2.5. Delineamento da pesquisa

A pesquisa desenvolvida com os 9 animais infectados experimentalmente (Grupo 1) incluiu a análise dos seguintes parâmetros relativos ao desenvolvimento da cisticercose: localização anatômica, viabilidade, intensidade de infecção, período de infecção. Já os bovinos infectados naturalmente foram amostrados para avaliar a localização anatômica dos cisticercos (n=157), sua viabilidade (n=157), a frequência de infecção por idade dos animais (n=149) e sexo dos animais (n=349). Também foi comparada a frequência de cisticercose em tecidos musculares inspecionados rotineiramente e não rotineiramente no grupo dos animais infectados experimentalmente. Ainda foram comparados os resultados dos animais infectados naturalmente com aqueles infectados experimentalmente, quanto aos parâmetros de localização anatômica e viabilidade dos cisticercos.

#### 2.6. Análise dos resultados

As análises de variáveis em relação a implantação dos cisticercos por região anatômica e viabilidade dos mesmos, foram calculadas pelo teste do Qui-quadrado ( $p < 0,05$ ) após correção de Yates.

A densidade dos cisticercos encontrados por grama de tecido muscular, foi calculada como descrito por Scandrett et al. (2009), utilizando a seguinte fórmula:

$$D = \frac{\text{n total de cisticercos encontrados}}{\text{peso (g)}}$$

### 3. Resultados e discussão

A taxa de implantação verificada a partir da quantidade de ovos administrada experimentalmente quando comparada com o número de cisticercos encontrados foi de 0,023%. Minozzo et al. (2002) obteve uma taxa de implantação de 0,87%; contudo, Lopes et al. (2011) tiveram uma taxa mais elevada, com 1,85% de implantação de cisticercos. A grande diferença entre as taxas de implantação verificada nos estudos pode ser devido à diferença de metodologia empregada na seleção dos ovos viáveis para posterior infecção experimental, idade dos animais utilizados nos experimentos, entre outros fatores. A baixa taxa de implantação verificada no presente estudo também pode ter ocorrido em razão do longo período de armazenamento dos ovos da tênia, como também relatam Soares et al. (2006). Por se tratar de infecção experimental, os bovinos recebem apenas em uma dose toda a carga parasitária, podendo ou não produzir a infecção por cisticercos, sendo dependente de condições ideais como maturidade dos ovos, susceptibilidade e imunidade do hospedeiro (Wanzala et al., 2007).

Ao examinar os grupos musculares selecionados dos bovinos experimentalmente infectados (grupo 1) foram encontrados 257 cisticercos no total e nos animais naturalmente infectados (grupo 2) foram encontrados 174 cisticercos (Anexo 1), perfazendo uma média de 28,5 cisticercos por animal no grupo 1 e 1,10 cisticercos por animal no grupo 2.

Em relação a densidade de cisticercos encontrados de acordo com a região anatômica, o animal com 180 dias pós-infecção apresentou maior densidade de cisticercos que os demais, seguidos do animal representando 330 dias pós-infecção, 150 dias pós-infecção, 390 dias pós-infecção, 270 dias pós-infecção, 210 dias pós-infecção, 420 dias pós-infecção, 240 dias pós-infecção e 360 dias pós-infecção (Tabela 1). Sendo que, foi encontrada relação do decréscimo na quantidade de cisticercos encontrados de acordo com o período pós-infecção (Figura 1).

Scandrett et al. (2009) encontraram a densidade média de 4,85 cisticercos no coração, 1,56 na língua, 2,15 no diafragma (pilares), 0,33 no esôfago e 0 no fígado, destoando dos resultados do presente estudo, entretanto deve-se levar em consideração que para a determinação da densidade dos cisticercos em diferentes regiões anatômicas, o autor utilizou bovinos experimentalmente infectados com uma carga parasitária de 5000 ovos de *Taenia saginata*, número inferior ao do presente estudo.

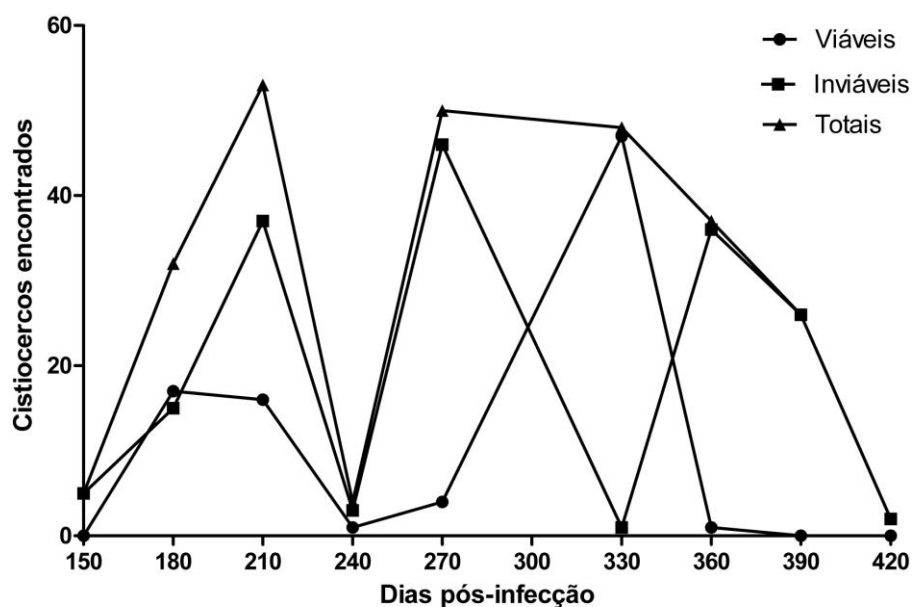


Figura 1. Cisticercos encontrados de acordo com sua viabilidade e período pós-infecção.

Scandrett et al. (2009), analisaram a frequência de cisticercos recuperados de acordo com a região anatômica e com a dose da infecção experimental, variando de 10 a 10000 ovos de *Taenia saginata*, contudo, o autor não encontrou efeito significativo entre a dose de inoculação experimental e a distribuição dos cisticercos, sendo que, o coração e mastigatórios, independente da carga parasitária administrada, foram os mais frequentemente afetados.

Tabela 1. Densidade de cisticercos encontrados de acordo com período pós-infecção e região anatômica.

Dias	Região anatômica								
	Coração	Língua	Diafrag.	Esôfago	Fígado	C.Filé	Alcatra	Acém	Paleta
150	6,8966	7,6923	*	*	1,8519	1,6667	0,0000	-	-
180	28,5714	3,4483	-	15,0000	-	0,0017	0,0018	0,0008	0,0010
210	0,0100	1,7544	-	-	0,0005	0,0018	-	0,0047	-
240	-	-	-	*	-	-	-	-	0,0005
270	0,0069	0,0009	2,8571	-	0,0046	0,0011	0,0008	0,0003	0,0016
330	17,3333	2,6667	9,0909	-	0,0038	0,0015	0,0067	0,0020	0,0032
360	-	-	-	-	-	-	0,0004	-	-
390	15,7895	-	-	-	0,0008	-	-	-	0,0011
420	0,0020	-	-	-	-	-	-	-	-
Média	7,6233	1,7292	1,4935	2,1429	0,2068	0,1859	0,0011	0,0009	0,0008

- Não foram encontrados cisticercos; \*Locais não inspecionados.

Embora o coração seja a região anatômica reportada como preferencial, houve grande diferença de parasitismo neste órgão entre os animais do grupo 1, havendo animais sem infecção no coração (n=1); com infecção leve, 1 a 2 cisticercos (n=2); alta, 9 a 15 cisticercos (n=5); e intensa, 36 cisticercos (n=1). Apenas um animal apresentou valor destoante do grupo, quando comparado com a média que foi de 10,7 cisticercos por coração examinado. Tal fato pode ter ocorrido devido a diferença da resposta imune entre os animais analisados.

A mesma variação da intensidade de ocorrência de cisticercos no coração foi reportada por Minozzo et al. (2002), que inocularam experimentalmente  $2 \times 10^4$  ovos de *Taenia saginata*, e, ao estudarem quatro bovinos, encontraram uma média de 12,2 cisticercos por coração infectado, havendo variação entre os animais estudados (25, 22, 01 e 01 cisticercos no coração por animal analisado). O mesmo fato ocorreu com Wanzala et al. (2003) ao estudarem bovinos experimentalmente infectados, administrando uma alíquota de ovos de *Taenia saginata* variando de 2.500 até 10.000 ovos, de acordo com o grupo selecionado, sendo possível encontrar a intensidade de infecção de 13,4 cisticercos por coração.

Para os demais tecidos musculares estudados, foram encontrados os valores de intensidade de infecção em ordem decrescente para músculos mastigatórios (4,8 cisticercos por animal), fígado (3,4), acém (2,3), paleta (1,8), contra-filé (1,7), alcatra (1,6), diafragma (0,7), língua (0,6) e esôfago (0,3) (Tabela 2). A intensidade de cisticercos encontrados no presente estudo para o fígado está em concordância com Minozzo et al. (2002); entretanto, Wanzala et al. (2003) encontraram a intensidade de 15,3 cisticercos por fígado.

Tabela 2. Intensidade de infecção (média) de acordo com a região anatômica dos animais do grupo 1 e 2.

Região anatômica	Intensidade da infecção l	
	Grupo 1	Grupo 2
Músculos Mastigatórios	4,8	0,38
Língua	0,6	0,019
Coração	10,7	0,61
Diafragma	0,7	-
Esôfago	0,3	-
Fígado	3,4	0,10
Acém	2,3	-
Alcatra	1,6	-
Contra filé	1,7	-
Paleta	1,8	-

A intensidade de infecção verificada no coração dos animais do grupo 2 foi de 0,61 cisticercos por animal, seguido de músculos mastigatórios (0,38) e fígado (0,10) e língua (0,019). A intensidade de infecção encontrada nos músculos mastigatórios assemelha-se com Kebede et al. (2008) que encontraram a intensidade de 0,37 cisticercos por animal nos músculos mastigatórios seguidos do coração com 0,35 e fígado com 0,03.

A diferença na quantidade de cisticercos encontrados nos animais do grupo 1 e 2, está ligado à forma de infecção mais branda em bovinos no campo, visto que a intensidade da resposta imune pode ser diferente em infecções naturais, quando o animal ingere pequeno número de ovos no desenvolvimento da doença (Minozzo et al., 2004).

Com relação a localização muscular dos cisticercos nos tecidos dos bovinos do grupo 1, os sítios inspecionados rotineiramente predominantes de ocorrência nesse estudo foram o coração, com 37,7% dos cisticercos totais encontrados, e os músculos mastigatórios com 17,1% (Tabela 3) corroborando Manhoso (1996), Scandret et al. (2009) e Lopes et al. (2011). De acordo com Rey (2001), a predileção dos cisticercos por essas áreas está relacionada com maior aporte sanguíneo. Outro tecido rotineiramente inspecionado que apresentou cisticercos foi a língua com 2,3% de frequência, assemelhando aos resultados de Minozzo et al. (2002) e Moreira et al. (2002), com 1,0% e 2,2%, respectivamente. Entretanto Mello & Carvalho (1981) encontraram um índice de 20,4% de ocorrência de cisticercos na língua, que difere dos resultados encontrados nesse estudo.

Tabela 3. Predileção por implantação de cisticercos de acordo com a região anatômica e o total de cisticercos recuperados no grupo 1.

Região anatômica	Cisticercos	Predileção (%)
Mastigatórios	44	17,1
Língua	06	2,3
Coração	97	37,7
Diafragma	07	2,7
Esôfago	03	1,2
Fígado	31	12
Acém	21	8,2
Alcatra	15	5,8
Contra Filé	16	6,2
Paleta	17	6,6

Quando avaliado os cortes comerciais com os demais cortes estudados, foram encontrados 26,7% dos cisticercos totais recuperados, distribuindo os valores de 8,2% de cisticercos no acém, 6,6% na paleta, 6,2% no contra-filé e 5,8% na alcatra. Os resultados encontrados por Lopes et al. (2011) de cisticercos alojados no acém (8,2%) foram semelhantes as do presente estudo.

Os outros tecidos não inspecionados rotineiramente dos animais do grupo 1 que apresentaram cisticercos foram o fígado e o esôfago, com 12,0% e 1,2% dos cisticercos totais recuperados, respectivamente, assemelhando aos resultados de Lopes et al. (2011) que encontraram 9,5% de parasitismo no fígado e 0,3% no esôfago. Contudo, difere dos achados de Minozzo et al. (2002) que encontraram baixos números de cisticercos no fígado (1,7%). Em ambos os estudos os autores utilizaram animais experimentalmente infectados. Entretanto, Almeida et al. (2006) ao analisarem carcaças de 2.778 bovinos em matadouro sob inspeção federal no município Teixeira de Freitas (BA) no ano de 2005, encontraram 69% dos fígados parasitados por cisticercos, valor esse que destoa dos comumente observados na literatura; todavia, Santos (2008) realizou levantamento sob as mesmas condições, no período de janeiro a dezembro de 2007 e encontrou 64,6% dos fígados parasitados por cisticercos, podendo se tratar da ocorrência de casos isolados.

Tabela 4. Presença ou não da cisticercose nos animais do grupo 1, de acordo com a região anatômica.

Região anatômica	Cisticercose		Não cisticercose		Total
	n	%	n	%	
Rotineiros					
Mastigatórios	06	66,7	03	33,3	09
Coração	08	88,9	01	11,1	09
Língua	05	55,6	04	44,4	09
Não rotineiros					
Diafragma	02	22,2	07	77,8	09
Esôfago	01	11,1	08	88,9	09
Fígado	05	55,6	04	44,4	09
Contra file	05	55,6	04	44,4	09
Alcatra	04	44,4	05	55,6	09
Acém	04	44,4	05	55,6	09
Paleta	05	55,6	04	44,4	09

As diferenças não foram significativas ( $p>0,05$ ) pelo teste do qui-quadrado.

Do total de cisticercos recuperados nos tecidos não inspecionados rotineiramente, 2,7% estavam alojados no diafragma, compatível com resultados

encontrados por Minozzo et al. (2002) e Moreira et al. (2002), com 2,1% e 2,2% no diafragma, respectivamente.

Contudo, mesmo com esses resultados, não foi encontrada diferença estatística ( $p>0,05$ ) ao comparar as regiões anatômicas de maior ocorrência de cisticercos, sendo rotineiramente inspecionadas ou não, concluindo-se que o cisticerco pode se alojar em qualquer tecido com a mesma predileção (Tabela 4).

Entretanto, quando comparada a ocorrência de cisticercos de acordo com a viabilidade nos tecidos rotineiramente inspecionados com os não rotineiros, foi encontrada diferença estatística significativa ( $p<0,01$ ) através do teste do qui-quadrado (Tabela 5), sendo que em tecidos não rotineiros a probabilidade de se encontrar cisticercos viáveis é maior do que em tecidos rotineiros. Esse fato ressalta a necessidade de utilização de um teste auxiliar como sugerem Santos (1976) e Eichenberger et al. (2010), através de cortes adicionais na musculatura do coração ou por meio da metodologia empregada por Fukuda et al. (1998) que, através de estudo comparativo do método de análise do diafragma, constataram que ao retirar o diafragma da carcaça a análise tornava-se mais criteriosa, aumentando em 15,5% a taxa de detecção de cisticercos, corroborando Wanzala et al. (2003) que relatam ser necessário aumentar a área e o número de locais inspecionados.

Tabela 5. Cisticercos encontrados de acordo com a região anatômica e viabilidade, nos animais do grupo 1.

Região anatômica	Viáveis		Inviáveis		Total
	N	%	N	%	
Rotineiros	36	24,5	111	75,5	147
Não rotineiros	50	45,5	60	54,5	110

Houve diferença ( $p<0,01$ ) entre tratamentos pelo teste do qui-quadrado. Correção de Yates realizada devido a dispersão com 1 grau de liberdade.

Quando analisados os sítios de predileção dos animais naturalmente infectados, foram encontrados 61,78% dos cisticercos totais no coração, seguido dos músculos mastigatórios (38,21%), fígado (10,19%) e língua (1,91%), mostrando que os músculos predominantes foram os mesmos para os grupos 1 e 2 (coração e mastigatórios) (Tabela 6). Fernandes et al. (2002) encontraram os valores de 50,8% de ocorrência de cisticercose no coração e 45,9% nos músculos mastigatórios; porém, Souza et al. (2007b) encontraram 57,8 de parasitismo nos músculos da cabeça e 40,0% do coração, invertendo a ordem de predominância, mas mantendo os dois tecidos como os mais

frequentemente associados à implantação de cisticercos nos bovinos. Kebede et al. (2009) ao estudarem bovinos abatidos em matadouro localizado na Etiópia, também verificaram que a ocorrência de cisticercose nos músculos mastigatórios foi a predominante com 36,6%, seguidos da língua com 35,6% e musculatura do coração com 34,9%.

Tabela 6. Presença ou não da cisticercose nos animais do grupo 2, por região anatômica.

Região anatômica	Cisticercose		Não cisticercose		Total
	n	%	n	%	
Coração <sup>a</sup>	90	57,3	67	42,7	157
Mastigatórios <sup>b</sup>	55	35,0	102	65,0	157
Língua <sup>c</sup>	03	1,9	154	98,1	157
Fígado <sup>d</sup>	16	10,2	141	89,8	157

Houve diferença ( $p < 0,01$ ) entre tratamentos pelo teste do qui-quadrado.

Com relação à viabilidade dos cisticercos recuperados nos animais experimentalmente infectados, 66,5% do total de cisticercos analisados eram inviáveis (calcificados ou caseosos), havendo variação da viabilidade dos cisticercos de acordo com o grupo muscular examinado (Tabela 7), constatando-se diferença estatística ( $p < 0,01$ ) pelo teste do Qui-quadrado ao comparar a viabilidade dos cisticercos encontrados, de acordo com a região anatômica.

A quantidade de cisticercos viáveis encontrados no grupo 1 manteve-se sempre menor quando comparado aos cisticercos inviáveis, desaparecendo por completo somente quando completados 390 dias pós-infecção. Em 66,6% dos animais foram encontrados simultaneamente cisticercos vivos e mortos.

Tabela 7. Frequência (n<sup>o</sup>) e percentual de viabilidade (%) de cisticercos encontrados em animais experimentalmente (grupo 1) infectados de acordo com a região anatômica.

Região anatômica	Viáveis		Inviáveis		Total
	n	%	n	%	
Mastigatórios <sup>a</sup>	10	22,7	34	77,3	44
Coração <sup>a, b</sup>	23	23,7	74	76,3	97
Língua <sup>a, b, c, d</sup>	03	50,0	03	50,0	06
Diafragma <sup>d</sup>	05	71,4	02	28,6	07
Esôfago <sup>a, b, c, d, e</sup>	02	66,7	01	33,3	03
Fígado <sup>a, b, c, e, f</sup>	09	29,0	22	71,0	31
Contra file <sup>a, b, c, d, e, f, g</sup>	05	31,3	11	68,8	16
Alcatra <sup>c, d, e, h</sup>	12	80,0	03	20,0	15
Acém <sup>c, d, e, f, g, i</sup>	10	47,6	11	52,4	21
Paleta <sup>a, b, c, d, e, f, g, i, j</sup>	07	41,2	10	58,8	17

Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna representam diferença estatística ( $p < 0,01$ ) entre tratamentos pelo teste do qui-quadrado.

Houve predominância de cisticercos inviáveis nos músculos mastigatórios (77,3%), seguidos de 76,3% na musculatura do coração e 71,0% do fígado. Os resultados encontrados para o coração e o fígado estão em concordância com Santos et al. (2001), Almeida et al. (2002), Costa (2002) e Almeida et al. (2006). Na língua foi encontrada uma frequência de 50%.

Os valores encontrados de cisticercos inviáveis para os tecidos não rotineiros analisados, em ordem decrescente foram contra-filé (68,8%), paleta (58,8%) e acém (52,4%). Contudo, os cisticercos viáveis predominaram na alcatra (80,0%), diafragma (71,4%) e esôfago (66,7%). Considerando o percentual de cisticercos viáveis encontrados na alcatra, pode-se julgar como fator preocupante visto que esse corte pode ser consumido sem o devido tratamento térmico, aumentando assim a chance do indivíduo contrair a teníase, fato que ocorreu também na musculatura do diafragma e na língua, ambos tecidos comumente consumidos.

Em relação aos animais pertencentes ao grupo 2, pôde-se verificar que do total de cisticercos encontrados 55,49% apresentavam-se inviáveis e 44,5% viáveis. A região anatômica inspecionada rotineiramente que mais apresentou cisticercos inviáveis foi o coração, com frequência de 63,2%. Outro tecido não inspecionado rotineiramente que apresentou grande número de cisticercos inviáveis foi o fígado cuja frequência foi de 87,5%. Na língua a frequência de cisticercos inviáveis foi de 66,7% (Tabela 8), contudo, nos tecidos mastigatórios foi encontrada a maior frequência de cisticercos viáveis (68,3%), diferindo do resultado obtido com animais experimentalmente infectados.

Tabela 8. Frequência (nº) e percentual de viabilidade (%) de cisticercos encontrados em animais naturalmente (grupo 2) infectados de acordo com a região anatômica.

Região anatômica	Viáveis		Inviáveis		Total
	N	%	N	%	
Coração <sup>a, d</sup>	35	36,8	60	63,2	95
Mastigatórios <sup>b, c</sup>	43	68,3	20	31,7	63
Língua <sup>a, c, d</sup>	01	33,3	02	66,7	03
Fígado <sup>a, c, d</sup>	02	12,5	14	87,5	16

Houve diferença ( $p < 0,01$ ) entre tratamentos pelo teste do qui-quadrado.

Pôde-se constatar que 93,2% dos animais naturalmente infectados eram monocisticercósicos, ou seja, portadores de somente um cisticercos nos sítios inspecionados rotineiramente para pesquisa da cisticercose, sugerindo maior dificuldade no diagnóstico desta parasitose nas linhas de inspeção. Este resultado pode ser reforçado

por diversos autores como Santos (1984) que encontrou 95,5% de animais monosticercóticos, Santos (1993) que encontrou 96,7%, Manhoso & Prata (2004) com 99,4%, e Souza et al. (2007b) com 94%. De acordo com Souza et al. (2007) a detecção de infecção monosticercótica deve ser o principal objetivo dos Fiscais Federais, pois a vigilância por meio da inspeção é um instrumento indispensável no controle desta zoonose.

Quando comparada a frequência de cisticercose de acordo com a idade dos animais do grupo 2, ao se analisar três diferentes categorias de idade (12 a 24 meses, 25 a 36 meses ou maiores que 36 meses de idade) foi encontrada diferença estatística ( $p < 0,05$ ) pelo teste do Qui-quadrado entre a categoria de idade de 12 a 24 meses com a categoria de 25 a 36 meses de idade, sendo que há mais chances de se encontrar animais com cisticercose na idade de 25 a 36 meses (Tabela 9). Diferindo dos resultados do presente estudo, Oryan et al. (1995) ao analisarem 9.501 abatidos na província de Fars, no Irã, durante o período de três anos, constataram não haver variação da infecção entre os grupos de idade estudados.

Tabela 9. Frequência (%) de cisticercos em bovinos naturalmente infectados, de acordo com a categoria de idade, região anatômica e viabilidade.

Região anatômica	Categoria de idade											
	12 a 24 meses				25 a 36 meses				> 36 meses			
	T	V	T	I	T	V	T	I	T	V	T	I
Coração	0	0	08	100	18	45	22	55	10	27	27	73
Mastigatórios	02	66,6	01	33,3	18	81,8	04	18,2	18	66,6	11	33,3
Fígado	0	0	02	100	01	10	09	90	0	0	03	100
Língua	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	01	100

T= Total; V= Viável e I=Inviável.

Quando comparado o sexo dos animais com a ocorrência da cisticercose, não foi encontrada diferença estatística (Tabela 10), tendo as frequências de 41,9% de ocorrência de cisticercose nas fêmeas e 42,9% de ocorrência nos machos. Os resultados do presente estudo estão em concordância com Souza et al. (2007) onde não encontraram predileção para casos de cisticercose de acordo com o sexo do animal. Entretanto, Abdo et al. (2009) relatam que fêmeas são mais susceptíveis para a cisticercose que machos, tendo encontrado as prevalências de 2,7% e 1,4% respectivamente, sendo que essa associação pode ser atribuída a idade de abate das

fêmeas que normalmente é superior aos machos, aumentando assim o tempo de exposição aos ovos da *Taenia saginata* (Dorny et al., 2000).

Tabela 10. Presença e ausência de cisticercose de acordo com o sexo dos animais do grupo 2.

Sexo	Presença		Ausência		Total
	n <sup>o</sup>	%	n <sup>o</sup>	%	
Fêmeas	78	41,9	108	58,1	186
Machos	70	42,9	93	57,1	163

Correção de Yates realizada devido a dispersão com 1 grau de liberdade. As diferenças não foram significativas ( $p < 0,05$ ) pelo teste do qui-quadrado.

Medidas de controle do complexo teníase-cisticercose bovina devem ser tomadas pelos Órgãos Fiscalizadores e pela população sendo que, seria de grande utilidade uma atualização na legislação vigente no que diz respeito aos locais de inspeção de rotina para pesquisa de cisticercos e uma conscientização da população pelo consumo somente de carnes inspecionadas.

#### 4. Conclusões

1- Os cisticercos podem se alojar em qualquer tecido do bovino, não necessariamente e somente naqueles estabelecidos como preferenciais e inspecionados rotineiramente em matadouros sob fiscalização;

2- Os resultados reforçam que a utilização isolada do exame macroscópico ainda apresenta deficiências, sobretudo quando comparado a animais naturalmente infectados, pois seu grau de infecção pode ser leve, dificultando o diagnóstico correto principalmente em cortes que não são inspecionados rotineiramente;

3- Deve-se levar em consideração o alto percentual de cistos viáveis presentes na alcatra, indicando, como medida de controle da teníase, o consumo da carne somente após correto tratamento térmico;

4- Testes complementares de diagnóstico devem ser utilizados para controle da doença nos matadouros, evitando a disseminação do complexo teníase-cisticercose.

## 5. Referências bibliográficas

ABDO, B.R.N.; SAYED, A.S.M.; HUSSEIN, A.A.A.; ARAFA, M.I. Occurrence of *Cysticercosis* in cattle and buffaloes and *Taenia saginata* in man in Assiut Governace of Egypt. **Veterinary World**, v.2, n.5, p.173-176, 2009.

ALMEIDA, L.P.; MOREIRA, M.D.; REIS, D.O.; SANTOS, W.L.M. Cisticercose bovina: Um estudo comparativo entre animais abatidos em frigoríficos com serviço de Inspeção Federal e com Inspeção Municipal. **Higiene Alimentar**, v.16, n.99, p. 51-55, 2002.

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 anatomopatológica de diagnósticos sugestivos de cisticercose. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 13, n. 3, p. 178-182, 2006.

BEEF WORLD – O Mega Portal da Bovinocultura de Corte Brasileira. Notícias 2010. **Prejuízos com a cisticercose chegam a 50% no valor da arroba**. Disponível em: <<http://www.beefworld.com.br/noticias/post/prejuizos-com-a-cisticercose-bovina-chegam-a-50-do-valor-do-arroba>> . Acessado em 15/07/2011.

BRASIL. Ministério Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Inspeção de carnes: Padronização de técnicas, instalações e equipamentos. Brasília, DIPOA/DICAR, 1971. 183p. Tomo I: Bovinos.

CDC - Center of Disease Control and Prevention. Epi info 3.5.1. Disponível em <http://wwwn.cdc.gov/epiinfo/> . Acessado em: 10/03/2011.

COSTA, R.F.R.; SANTOS, I.F.; TORTELLY, R. Cisticercose hepática bovina. In: XXIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 2002. Gramado. **Anais...** Gramado: Sociedade de Veterinária do Rio Grande do Sul.

DORNY, P.; VERCAMMEN, F.; BRANDT, J.; VANTEEENKISTE, W.; BERKVENS, D.; GREETS, S. Seroepidemiological study of *Taenia saginata* cysticercosis in Belgian cattle. **Veterinary Parasitology**, v.88, n.1, p.43-49, 2000.

EICHENBERGER, R.M.; STEPHAN, R.; DEPLAZES, P. Increased sensitivity for the diagnosis of *Taenia saginata* cysticercus infection by additional heart examination compared to the EU-approved routine meat inspection. **Food Control**, v.22. p. 989-992, 2011.

FAO - Food and Agriculture Organization - Organização das nações unidas para agricultura e alimentação. Food Outlook; **Global Market Analysis. Meat and meat products**, 2008. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/011/ai474e/ai474e09.htm> . Acesso em 29/03/2011.

FERNANDES, J.O.M., SILVA, C.L.S.P., BORGES, J.H.R., PEGAINÉ, J.C., COELHO, R. V. Prevalência da cisticercose bovina em animais abatidos em estabelecimento sob regime de inspeção Federal no Município de Andradina –SP. **Ciências Agrárias e Saúde**. FEA, Andradina, v. 2, n. 1, p 14 - 17, 2002.

FUKUDA, R.T.; SANTOS, I.F.; ANDRADE, C.R. Estudo comparativo entre técnicas de inspeção do diafragma para o diagnóstico da cisticercose bovina. **Higiene Alimentar**, v.12, n.55, p.51-62, 1998.

KEBEDE, N.; TILAHUN, G.; HAILU, A. Current status of bovine cysticercosis of slaughtered cattle in Addis Ababa Abattoir, Ethiopia. **Tropical Animal Health Production**, v.41, p291–294, 2009.

KHANIKI, G.H.R.J., RAEI, M., KIA, E.B., MOTEVALLI, A.H., SELSELEH, M. Prevalence of bovine cysticercosis in slaughtered cattle in Iran. **Tropical Animal Health Production**, v.42, p.141–143, 2010.

KYVSGAARD, N.C.; ILSOE, B.; HENRIKSEN, S.A.; NANSEN, P. Distribution of *Taenia saginata* cists in carcasses of experimentally infected calves and its significance for routine meat inspection. **Research Veterinary Science**, v. 49, n. 1, p. 29-30, 1990.

KYVSGAARD, N.C.; ILSOE, B.; HENRIKSEN, S.A.; FELD, N.C.; NANSEN, P. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of *Taenia saginata* cysticercosis in cattle. **Acta Veterinariae**, v. 32, n. 3, p. 233-241, 1991.

LOPES, W.D.Z.; SANTOS, T.R.; SOARES, V.; NUNES, J.L.N.; MENDONÇA, R.P.; LIMA, R.C.A.; SAKAMOTO, C.A.M.; COSTA, G.H.N.; SOCCOL, V.T.; OLIVEIRA, G.P.; COSTA, A.J. Preferential infection sites of *Cysticercus bovis* in cattle experimentally infected with *Taenia saginata* eggs. **Research Veterinary Science**, v.90, p.84-88, 2011.

MANHOSO, F.F.R. & PRATA, L.F. Prevalência de cisticercose bovina na região oeste do Estado de São Paulo. **Higiene Alimentar**, v.18, n. 121, p. 42-49, 2004.

MAPA - Ministério Agricultura Pecuária e Abastecimento. Assessoria de Gestão Estratégica. Brasil projeções do agronegócio 2010/2011 a 2020/2021. Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Ministerio/gestao/projecao/PROJECOES%20DO%20AGRONEGOCIO%202010-11%20a%202020-21%20-%200.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Ministerio/gestao/projecao/PROJECOES%20DO%20AGRONEGOCIO%202010-11%20a%202020-21%20-%200.pdf).

Acesso em 15/02/2011.

MELLO, M.R. & CARVALHO, J.B. Cisticercose em bovinos abatidos no matadouro de Paracambi, Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 4, n. 2, p.35-37, 1981.

MINOZZO, J.C.; GUSSO, R.L.; CASTRO, E.A.; LAGO, O.; THOMAZ-SOCCOL, V. Experimental bovine infection with *Taenia saginata* eggs: recovery rates and cysticerci location. **Brazilian Archives of Biology Technology**, v.45, n.4, p.451-455, 2002.

MINOZZO, J.C.; THOMAZ-SOCCOL, V.; OLORTEGUI, C.C.; SOÁRES, V.E.; COSTA, A.J. Teste imunoenzimático (enzyme-linked immunosorbent assay) para diagnóstico da cisticercose bovina e estudo da cinética de produção de anticorpos contra-*Cysticercus bovis*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.3, p.857-864, 2004.

MONTEIRO, L.L. **Emprego de antígenos de larvas de *Taenia crassiceps* e *Taenia solium* em teste ELISA para diagnóstico da cisticercose bovina.** 2004. 80f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG.

MOREIRA, M.D.; ALMEIDA, L.P.; REIS, D.O.; SANTOS, W.L.M. Cisticercose bovina: um estudo com bovinos abatidos em matadouro municipal de Uberlândia, MG. **Higiene Alimentar**, v.16, n.100, p. 37-41, 2002.

OGUNREMI, O. & BENJAMIN, J. Development and field evaluation of a new serological test for *Taenia saginata* cysticercosis. **Veterinary Parasitology**, v.169, p. 93–101, 2010.

ORYAN, A.; MOGHADDAR, N.; GAUR, S. N. S. *Taenia saginata* cysticercosis in cattle with special reference to its prevalence, pathogenesis and economic implications in Fars Province of Iran. **Veterinary Parasitology**, v.57, p.319-327, 1995.

PINTO, P.S.A. **Inspeção e Higiene de carnes.** 1 ed. Viçosa: Editora Universidade Federal de Viçosa, 2008.

REY, L. **Parasitologia – parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África.** 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p.731.

SANTOS, I.F. **Nova técnica de exame do coração na rotina de inspeção da cisticercose bovina.** 1976. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal Fluminense, Niterói, 1976.

SANTOS, I.F. **Diagnóstico da cisticercose bovina em matadouros: novas técnicas de exame de esôfago e diafragma.** 127 f. Tese (Doutorado) Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1984.

SANTOS, I.F. Diagnóstico da cisticercose bovina em matadouro. III exames de pilares diafragmáticos. **Higiene Alimentar**, v.7, n.25, p.26-34, 1993.

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

SANTOS, L.A. **Prevalência da cisticercose bovina em um frigorífico de Inspeção Federal do extremo Sul da Bahia, no ano de 2007**. 2008. 32f. Monografia (Especialização em Defesa e Vigilância Sanitária Animal), Universidade Castelo Branco, Vitória.

SCANDRETT, B.; PARKER, S.; FORBES, L.; GAJADHAR, A.; DEKUMYOY, P.; WAIKAGUL, J.; HAINES, D. Distribution of *Taenia saginata* cysticerci in tissues of experimentally infected cattle. **Veterinary Parasitology**, v.164, p.223–231, 2009.

SCIUTTO, E., CHAVARRIA, A., FRAGOSO, G., FLEURY, A., LARRALDE, C. The immune response in *Taenia solium* cysticercosis: protection and injury. **Parasite Immunology**, v.29, p.621–636, 2007.

SOARES, K.A.; SILVA, M.R.M.; POLET, M.D.; MAIA, A.A.M. Imunodiagnóstico da cisticercose em suíno experimentalmente infectado com ovos de *Taenia solium*, utilizando antígeno de escólex de *Cysticercus cellulosae*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.1, p.15-20, 2006.

SOUZA, W.K., PESSÔA-SILVA, M.C., MINOZZO, J.C., THOMAZ-SOCCOL, V. Prevalência da cisticercose bovina no Estado do Paraná, sul do Brasil: avaliação de 26.465 bovinos inspecionados no SIF 1710. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 4, p. 675-684, 2007.

SOUZA, W.K.; PESSÔA-SILVA, M.C.; KOWALCZUK, M.; MARTY, S.; THOMAZ-SOCCOL, V. Regiões anatômicas de maior ocorrência de *Cysticercus bovis* em bovinos submetidos à Inspeção Federal em matadouro-frigorífico no município de São José dos Pinhais, Paraná, de julho a dezembro de 2000. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.16, n.2, p.92-96, 2007b.

THOMAZ-SOCCOL, V.; SOUZA, V.K.; PESSOA, O.L.; MINOZZO, J.C.; PESSOA-SILVA, M.C.; PEIXOTO, R.P.M.; MOURA, J.F. Pesquisa de anticorpos contra *Cysticercus bovis*, por teste ELISA em bovinos de abatedouro. **Archives of Veterinary Science**, v.15, n.2, p.77-85, 2010.

WANZALA, W.; ONYANGO-ABUJE, J.Á.; KANG'ETHE, E.K.; ZESSIN, K.H.; KYULE, N.M.; BAUMANN, M.P.O.; OCHAUD, H.; HARRISON, L.J.S. Control of *Taenia saginata* by post-mortem examination of carcasses. **African Health Sciences**, v. 3, n 2, p. 68-76, 2003.

WANZALA, W.; KYULE, N.M.; ZESSIN, K.H.; ONYANGO-ABUJE, J.Á.; KANG'ETHE, K.E.; OCHANDA, H.; HARRISON, L.J.S. Evaluation of an antigen-ELISA in the diagnosis of bovine cysticercosis in Kenyan cattle. **Parasitology Research**, v.100, p.539–548, 2007.

## CAPÍTULO 2

Infecção experimental em bovinos: caracterização morfológica e evolução da resposta imune pela produção de imunoglobulinas das classes IgM, IgG total e IgG subclasses 1

e 2

## Resumo

O complexo teníase-cisticercose bovina é um conjunto de alterações patológicas causada pela forma adulta da *Taenia saginata* no ser humano e por sua forma larvar nos bovinos. O conhecimento da resposta imunológica dos animais para a cisticercose não está totalmente esclarecido, deixando dúvidas sobre como ocorre a resposta imunológica humoral associada à resposta celular. Este trabalho teve o objetivo de avaliar preliminarmente a evolução da resposta imune em bovinos experimentalmente infectados com ovos de *Taenia saginata* pelo teste ELISA indireto, comparando com achados da resposta celular utilizando-se a inspeção visual das lesões. Também foram avaliadas as características microscópicas das lesões por meio da microscopia de luz. Dos nove bovinos experimentalmente infectados, cinco apresentaram uma cinética de produção de anticorpos contra os cisticercos semelhantes, sendo que no período de 0-30 dias pós-infecção ocorreu elevação dos níveis séricos de IgG e IgM ocorrendo o pico de produção aos 30 dias pós-infecção, seguidos de um declínio e mantendo-se detectável até o final do estudo. Os outros quatro animais apresentaram uma resposta imunológica diferente da maioria, sendo que dois deles apresentaram resposta tardia à infecção pelos cisticercos, e dois animais aparentemente não tiveram contato inicial com os antígenos secretados pelos cisticercos. Em relação à produção de IgG<sub>1</sub> foi possível detectar elevação dos níveis de anticorpos a partir de 30 dias pós-infecção, tendo-se o pico de produção aos 270 dias e IgG<sub>2</sub> aos 60 dias. No presente estudo não foi encontrado correlação direta entre carga parasitária e elevação de níveis da resposta imunológica. Em relação à resposta celular verificada a partir de fragmentos analisados em microscopia de luz, foi encontrada em ordem decrescente, a presença de células gigantes multinucleadas, seguidas de fibroblastos, eosinófilos, células epitelióides, basófilos, linfócitos, neutrófilos e monócitos. Os cisticercos inviáveis se apresentaram com um centro necrótico rico em corpúsculos calcáreos e detritos celulares envolto por três camadas sendo a mais externa ao cisticercos, rica em tecidos de reparação. Houve um grande infiltrado celular, com presença de histiócitos dispostos em paliçada, células gigantes multinucleares e basófilos, sendo que a migração dos corpúsculos calcáreos pareceu estar relacionada com o estágio de morte do parasito. Os cisticercos viáveis apresentaram em seu centro, células envolvidas em processos inflamatórios tendo um rico infiltrado celular e abundante presença de eosinófilos, neutrófilos e linfócitos.

Palavras-chave: Morfologia do cisticercos, cinética de anticorpos, cisticercose bovina.

## Abstract

The bovine taeniasis-cysticercosis complex is a set of pathological changes caused by the adult form of *Taenia saginata* in humans and their larval form in animals. Knowledge of the immune response of animals to cysticercosis is not fully understood, leaving doubts about how the humoral immune response associated with cellular response occurs. This work aimed to evaluate preliminarily the evolution of the immune response in animals experimentally infected with *Taenia saginata* eggs by the indirect ELISA test, compared with findings in the cellular response using light microscopy. Of the nine experimentally infected animals, five had kinetics of antibody production against the similar cysticerci, being that in the period of 0-30 days post-infection there was an elevated production of serum IgG and IgM, with production peak occurring at 30 days post-infection, followed by a decline and maintained detectable until the end of the study. The other four animals showed an immune response different from most, two of which had late response to infection by cysticerci, and two animals apparently had no contact with the antigens secreted by the cysticerci. Concerning the production of IgG<sub>1</sub>, it was possible to detect increased levels of antibodies from 30 days post-infection, having the production peak at 270 days and IgG<sub>2</sub> at 60 days. No direct correlation between parasite load and increased levels of immune response was found in the present study. Regarding the cellular response observed from fragments analyzed by light microscopy, we found, in descending order, the presence of giant multinucleated cells, followed by fibroblasts, eosinophils, epithelioid cells, basophils, lymphocytes, neutrophils, and monocytes when listing all cells present in the measured average area per animal. The unviable cysticerci presented a necrotic core rich in calcareous corpuscles and cellular debris wrapped by three layers – the outer layer is rich in repair tissue. There is a large cellular infiltrate, with the presence of histiocytes arranged in palisade, giant multinucleated cells, and basophils, being that the migration of calcareous corpuscles appears to be related to the stage of death of the parasite. The viable cysticerci showed, in its center, cells involved in inflammatory processes, with a rich cell infiltrate and abundant eosinophils, neutrophils and lymphocytes.

Key words: Cysticerci morphology, kinetics of antibody, bovine cysticercosis.

## 1. Introdução

O ser humano é o hospedeiro definitivo e obrigatório da *Taenia saginata*, sendo capaz de albergar em seu intestino a forma adulta do cestóide, desenvolvendo a doença denominada de teníase. A forma metacestóide (larvar) é encontrada na musculatura e vísceras de bovino, hospedeiros intermediários do parasito, causando-lhes a cisticercose (Acha & Szyfres, 1986).

A forma de infecção em humanos ocorre pelo consumo de carnes cruas ou mal cozidas que contenham cisticercos viáveis. Nos bovinos a infecção ocorre pela ingestão de água ou pastagens contaminadas com ovos de *Taenia saginata*. Os ovos sofrem ação das enzimas do abomaso, liberando as oncosferas que sofrem ativação pelos sais biliares, permitindo a penetração nas vilosidades intestinais. As oncosferas invadem a corrente sanguínea atingindo órgãos e tecidos onde se transformam em cisticercos (Fortes, 1997).

No estágio inicial, a infecção é caracterizada por uma inflamação inespecífica, rica em macrófagos, linfócitos e neutrófilos, dando início à resposta imunológica dos bovinos. Os cisticercos têm uma longevidade de semanas a anos, ao longo da qual sofrem um processo de degeneração e, ao final desse período, tornam-se calcificados e inviáveis (Urquhart et al., 1998; Rey, 2001).

Sterba & Dyková (1978) estudaram as reações teciduais provocadas pelo metacestódeo de *Taenia saginata* na musculatura esquelética de bovino. Os autores observaram que são reações características, a presença de uma borda de tecido pseudoepitelial e uma zona de tecido de granulação na periferia da lesão ocorrendo amiotrofia devido ao crescimento do parasito. Numa fase avançada, as alterações necróticas se iniciam devido à reação ao metacestódeo, seguindo para uma reação inflamatória acompanhada de exsudato (sobretudo eosinófilos). Paralelamente, histiócitos organizam-se em paliçada ao redor dos focos necróticos e células gigantes multinucleadas começam a circundar. A cicatrização acompanha a reabsorção do parasito e do exsudato e ocorrem dois tipos de necrose focais: um com calcificação de fibras colágenas, originada no tecido conjuntivo maduro circunjacente à reação e observada principalmente no coração e fígado, e, o outro, do exsudato, também com calcificação distrófica.

De acordo com Pawlowsky (1972), como forma de proteção do cisticercos, ele fica revestido por uma parede membranosa na vesícula que possui proteínas, com

algumas delas apresentando propriedades antigênicas e estimulando a produção de antígenos específicos. No entanto, estes antígenos não têm maior efeito na proteção contra a doença, uma vez que os cisticercos desenvolvem uma série de mecanismos evasores que lhes permitem sobreviver ao ataque imunológico do hospedeiro. O cisticerco parece ser hábil em sobreviver por longo período na presença da resposta imunológica do hospedeiro, os mecanismos considerados nessa adaptação incluem mimetização de antígenos do hospedeiro, absorção de antígenos do hospedeiro, variação antigênica, anticorpos bloqueadores e tolerância de adaptação (Tizard, 2002).

Testes sorológicos para cisticercose bovina revelam baixos níveis de anticorpos em animais que apresentam infecções leves. A intensidade da resposta imune observada nas infecções experimentais realizadas com administração de ovos de *Taenia saginata* difere das infecções naturais, mesmo quando os animais recebem pequeno número de ovos por longo período (Kyvsgaard et al., 1990; Hayunga & Sumner, 1991; Smith et al., 1991).

Smith et al. (1991) demonstraram que o nível de anticorpos anti-*Taenia saginata* detectados pelo teste ELISA esteve diretamente relacionado à dose de desafio com ovos infectantes e ao número de cisticercos estabelecidos em animais infectados experimentalmente. Apesar da relação direta entre dose infectante e absorbância, observou-se um aumento definido no nível de IgG detectável entre 40 e 60 dias após a infecção na maioria dos grupos testados.

Considerando a necessidade exposta e a carência de pesquisas envolvendo a comparação da resposta humoral com achados morfológicos da cisticercose bovina, o objetivo do estudo é avaliar a evolução da resposta imunológica através da mensuração de imunoglobulinas (IgM, IgG total e IgG subclasses 1 e 2) com o decorrer da evolução da doença utilizando-se análise quantitativa das reações determinadas pelo teste ELISA, observando os aspectos morfológicos das lesões promovidas pelos cisticercos em diferentes estádios de desenvolvimento.

## 2. Material e métodos

### 2.1. Amostras de soro bovino

Para análise da resposta imune dos bovinos foram utilizadas 93 amostras de soro de diferentes períodos pós-infecção, provenientes de 9 bovinos infectados

experimentalmente por via oral com uma alíquota contendo aproximadamente 120.000 ovos de *Taenia saginata*. As amostras de sangue foram coletadas por meio de punção na veia jugular de todos os bovinos, em intervalos de 30 dias, partindo da primeira coleta realizada na mesma data em que se procedeu a inoculação dos animais, utilizando-se a seguinte ordem: dia 0 pós-infecção (n=9), dia 30 (n=9), dia 60 (n=9), dia 90 (n=9), dia 120 (n=9), dia 150 (n=8), dia 180 (n=8), dia 210 (n=7), dia 240 (n=6), dia 270 (n=5), dia 300 (n=4), dia 330 (n=4), dia 360 (n=3), dia 390 (n=2), dia 420 (n=1).

Totalizaram-se 93 amostras considerando os diferentes períodos pós-inoculação. O material foi dessorado e estocado a -20°C com vistas à sua utilização nos ensaios laboratoriais. Todos os animais pertencentes a esse grupo foram abatidos em um matadouro-frigorífico, de acordo com as normas técnicas do Serviço de Inspeção Federal (Brasil, 1971), sobretudo relativa à inspeção final. Assim, as carcaças foram rigorosamente inspecionadas, examinando-se os tecidos inspecionados rotineiramente nas linhas de inspeção *post-mortem* para pesquisa de cisticercos (coração, língua, músculos mastigatórios), e outras áreas consideradas não rotineiras para inspeção representadas por quatro cortes comerciais de carnes obtidos de meia carcaça localizados nos quartos dianteiro e traseiro. Foram então selecionados para esta pesquisa, o acém, a paleta, a alcatra e o contra-filé. Também foram examinados o diafragma e seus pilares, esôfago e o fígado.

Todas as amostras coletadas foram analisadas em iguais condições pelo teste ELISA, empregando-se a metodologia adotada por Monteiro (2004) (Anexo 2). A resposta imunológica foi estudada por meio da leitura de densidade óptica, onde foram empregados anticorpos conjugados do tipo IgM (A10-100P, Bethyl, Montgomery, TX, USA), IgG total (A5295, Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) e IgG<sub>1</sub> (AAI21P, AbD Serotec, Kidlington, Oxford, UK) e IgG<sub>2</sub> (AAI22P, AbD Serotec, Kidlington, Oxford, UK).

## 2.2. Avaliação *post mortem*

A base da avaliação *post-mortem* dos bovinos com infecção natural e experimental foi estabelecida de acordo com os padrões da legislação vigente de inspeção de carnes (Brasil, 1971).

Todos os bovinos oriundos da infecção experimental foram abatidos em períodos distintos, partindo do primeiro animal com cinco meses pós-infecção, e os

demais em intervalos posteriores de 30 dias, sendo que, o animal representante do período de 300 dias pós-infecção foi excluído das análises por não ter sido encontrado cisticercos durante exame *post-mortem*. Houve coleta de cisticercos viáveis (vivos) e inviáveis (degenerados ou calcificados). Essa identificação foi realizada através de visualização macroscópica dos mesmos por uma equipe previamente treinada. O cisticerco foi considerado viável quando se apresentou como uma vesícula translúcida, ovóide ou alongada, cheia de líquido claro onde se encontra o embrião invaginado; já aqueles em estado de mineralização ou caseosos foram classificados como inviáveis (Rey, 2001).

As normas de conduta para o uso de animais em pesquisa da Comissão de Ética do uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa foram seguidas, conforme o Processo CEUA/UFV nº 20/2011.

### 2.3. Microscopia de luz

A partir dos bovinos experimentalmente infectados, foram coletados cisticercos viáveis e inviáveis de cada animal abatido, representando cada período pós-infecção. Optou-se por coletar cisticercos dos músculos mastigatórios para padronização das amostras. As análises microscópicas foram realizadas a partir de um cisticerco, que posteriormente foi dividido em 4 partes para emblocamento em historesina. Foram coletados cisticercos dos animais com 210 dias pós-infecção (1 cisticerco viável e 1 inviável), 270 dias pós-infecção (1 cisticerco viável e 1 inviável), 330 dias pós-infecção (1 cisticerco viável), 360 dias pós-infecção (1 cisticerco inviável) e 390 meses pós-infecção (1 cisticerco inviável).

A metodologia utilizada para inclusão de material para estudo histológico seguiu o processamento rotineiro para emblocamento em historesina. Foram utilizadas colorações com azul de toluidina, hematoxilina férrica, eosina aquosa, nitrato de prata, ponceau, *fast green* e coloração de Von Kossa (VK) (Goldová et al., 2008) adaptada (Anexo 2). As lâminas foram montadas com Entellan (Merck®), analisadas em microscópio de luz CX31 Olympus, e as imagens foram obtidas com câmera digital SC 020 por meio do software Analysis GETIT. As imagens capturadas foram utilizadas para a contagem dos tipos celulares presentes, utilizando-se para cada amostra dez campos microscópicos, cada campo com uma área equivalente a 760,0  $\mu\text{m}^2$ . Todos os tipos celulares encontrados nas imagens foram enumerados e quantificados.

## 2.4. Análise estatística

Utilizou-se o programa de análises estatísticas SAEG 9.1 (UFV, 2007) para análise dos dados computados referente à produção de imunoglobulinas. Após verificação da distribuição dos dados pelos testes de normalidade e homocedasticidade (Lilliefors e Cochran & Bartlett, respectivamente), e de acordo com o coeficiente de variação, optou-se pela utilização de comparação de médias por meio de teste Duncan para dados paramétricos e, para comparação da presença das células contabilizadas pela microscopia de luz, optou-se pela utilização de teste não paramétrico de Wilcoxon ( $p < 0,05$ ).

## 3. Resultados e discussão

Após análise dos resultados obtidos com os animais experimentalmente infectados, optou-se pela separação em grupos daqueles animais cuja resposta imunológica de IgG total foi semelhante, sendo o grupo 1 composto pelos animais de número 31, 32, 33, 38 e 39 (55,5% do total), grupo 2 (animais número 36 e 40) e grupo 3 (animais 35 e 37) cada grupo (2 e 3) representando 22,2% dos total de animais.

Os animais pertencentes ao grupo 1 (abatidos com 150, 180, 210, 270 e 360 dias pós-infecção, respectivamente) tiveram suas respostas imunológicas de IgG semelhantes, apresentando a mesma tendência durante os períodos analisados (Figura 1a). No dia 30 pós-infecção houve o pico de produção de anticorpos da classe IgG (total) e aos 60 dias ocorreu um decréscimo na produção de IgG, corroborando Minozzo et al. (2004) onde relataram que os bovinos infectados experimentalmente apresentaram um aumento nos títulos de anticorpos a partir de 36 dias da infecção, sendo que o pico de anticorpos nos animais positivos foi entre 30 e 60 dias após a infecção.

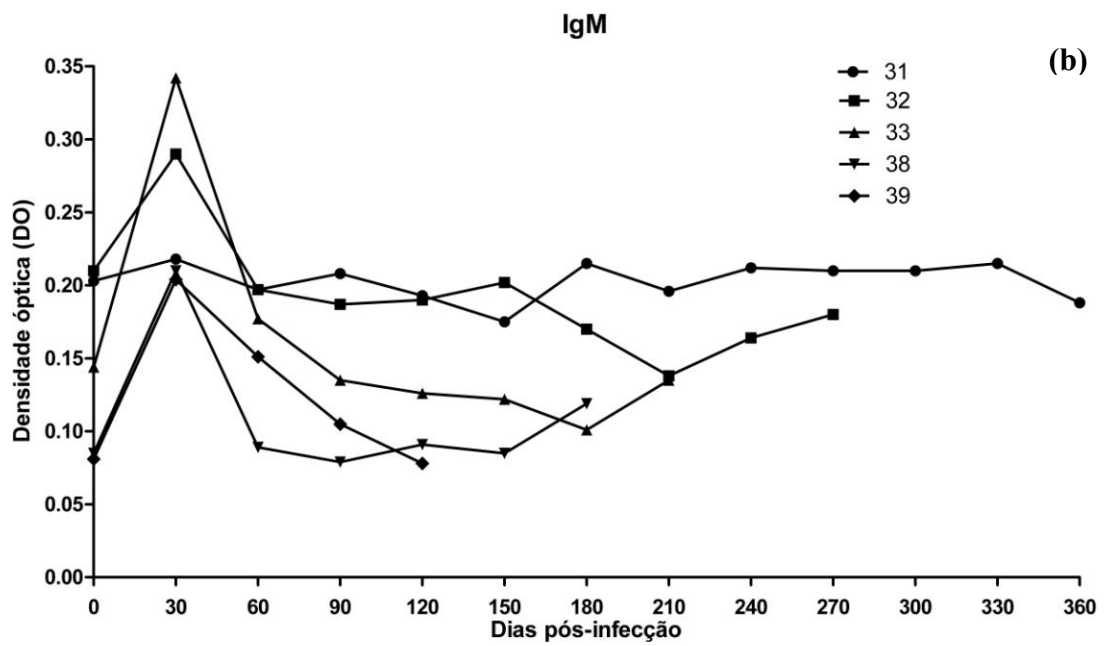
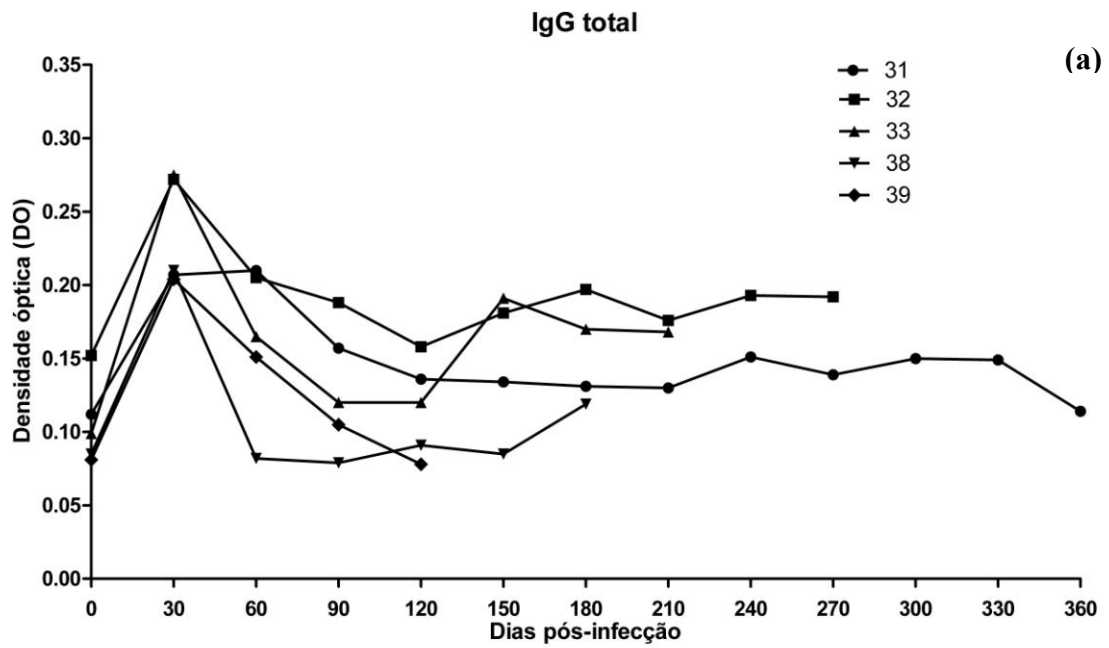
Foi possível verificar que no dia 120 pós-infecção, os animais 33 e 32 tiveram uma nova elevação de IgG, sendo que o mesmo fato ocorreu com o animal 38 aos 180 dias pós-infecção e com o animal 31 aos 240 dias pós-infecção, corroborando Sciutto et al. (1990) que identificaram antígenos circulantes a partir do 29º dia de infecção tendo um declínio após 92 dias e um pico após 200 dias, sendo o declínio nos títulos de anticorpos foi atribuído à formação de imunocomplexos. Smith et al. (1990) também observaram aumento na quantidade de IgG detectável entre 40 e 60 dias pós-infecção. O

fato de ter ocorrido dois picos de produção de IgG pode ser justificado ao considerar os achados do exame *post-mortem* desses animais onde foram recuperados 5, 32, 53, 50 e 37 cisticercos, respectivamente, e que em todos os casos foram encontrados cisticercos vivos. Assim os títulos crescentes de anticorpos ao longo do parasitismo podem estar relacionados com a existência de cisticercos viáveis e metabolicamente ativos, produzindo e secretando substâncias que estimulam o sistema imunológico do hospedeiro (Flisser et al., 1990). Wang et al. (2003) ao estudarem vacinas de DNA contra a cisticercose causada pela *Taenia solium* detectaram, em suínos, antígenos circulantes para anticorpos IgG na terceira semana pós-infecção com níveis crescentes até a oitava semana, condizente com os achados do presente estudo.

É importante considerar o fato de que a produção de anticorpos é dependente entre organismos. Como média geral ao primeiro contato parasito-hospedeiro, é conhecido que os anticorpos da classe IgM são as primeiras imunoglobulinas a serem produzidas. Já os anticorpos IgG normalmente têm aumento em sua produção após o período de transição do IgM mantendo-se constante no organismo do animal até eliminação da infecção (Pier et al., 2004; Geisberger et al., 2006). Essas tendências são mostradas nas figuras 1a e 1b.

Quando comparados os valores brutos das densidades ópticas para todos os grupos analisados, os anticorpos da classe IgM apresentaram valores mais elevados do que IgG total (Figura 1b). Porém, esse fato não está necessariamente ligado a maior quantidade de IgM circulante do que de IgG nas amostras analisadas. É importante salientar que os anticorpos IgM tem estrutura pentamérica e ao utilizar no imunoensaio o anticorpo conjugado anti-IgM, ele poderá se ligar em cinco diferentes pontos se apresentando como uma molécula gigante que no momento da leitura em espectrofotômetro terá maior valor de densidade óptica. O IgM fixa de 10-20 vezes mais complemento do que IgG, e isto explica a elevada concentração no soro bovino em relação a outras espécies (Penha, 2007).

Ao analisar a cinética de produção de anticorpos IgM dos animais do grupo 1 foi possível verificar que no dia 30 pós-infecção houve o pico de produção dos anticorpos da classe IgM sendo que no período de 30 a 60 dias houve uma queda nesses valores (Figura 1b). Somente o animal 31 não apresentou o pico de IgM no mesmo momento que os demais animais, durante toda a evolução da doença o animal manteve seus níveis de IgM constantes tendo um aumento significativo somente no dia 150.



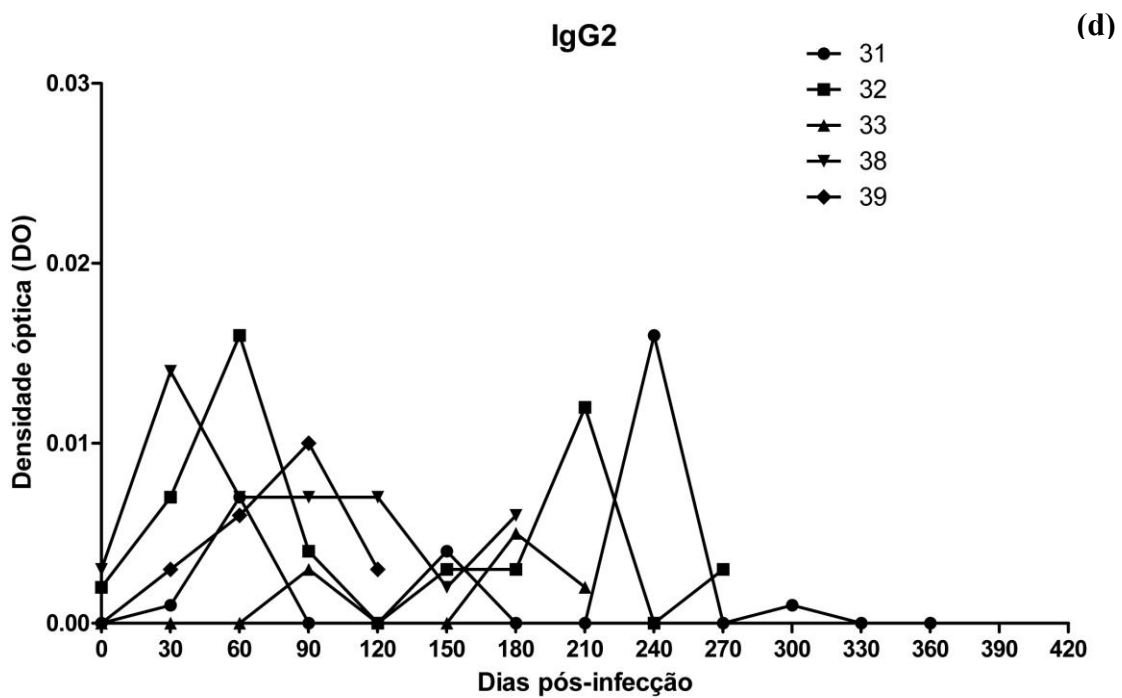
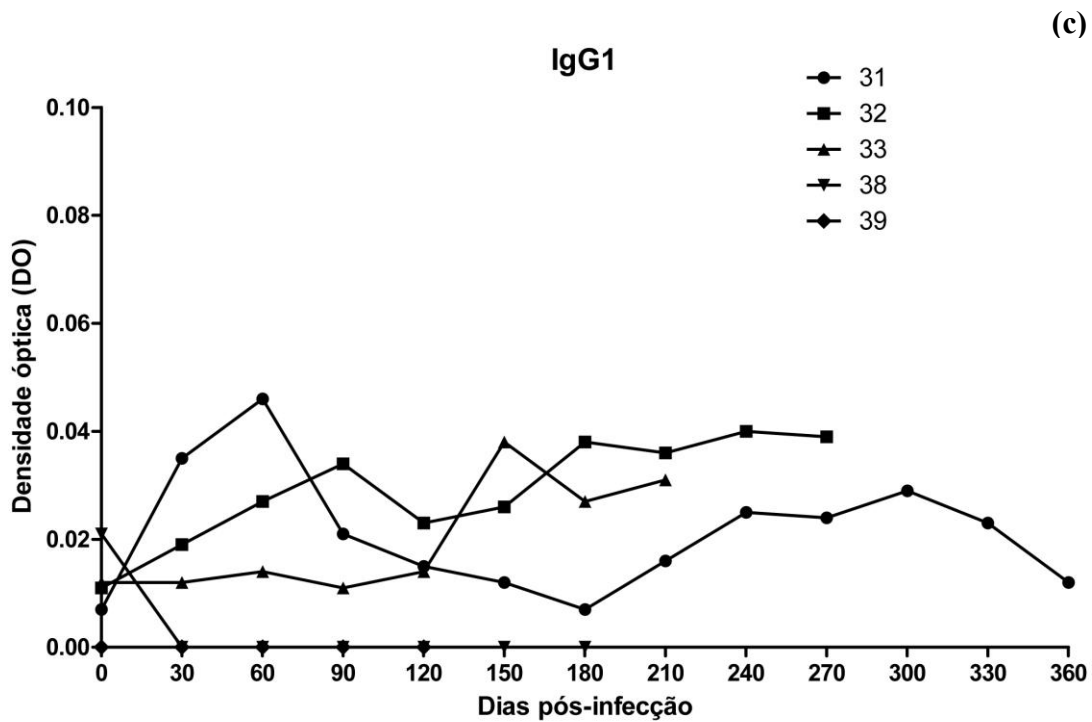


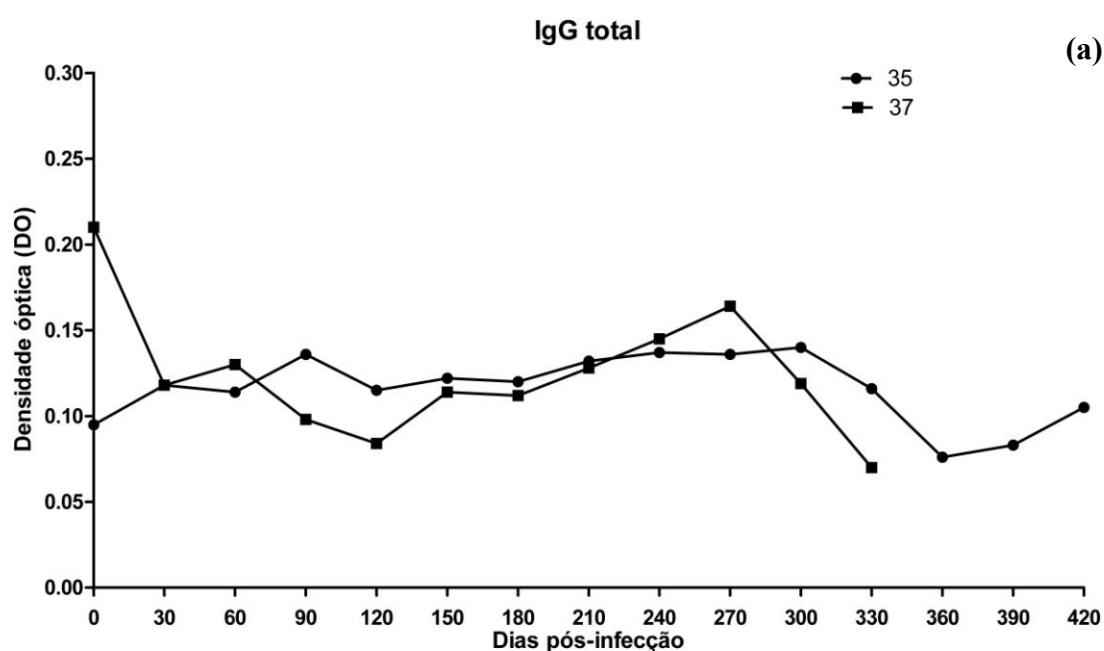
Figura 1. Cinética de produção de anticorpos (DO) IgG (total), IgM, IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub> dos animais do grupo 1 (31, 32, 33, 38 e 39).

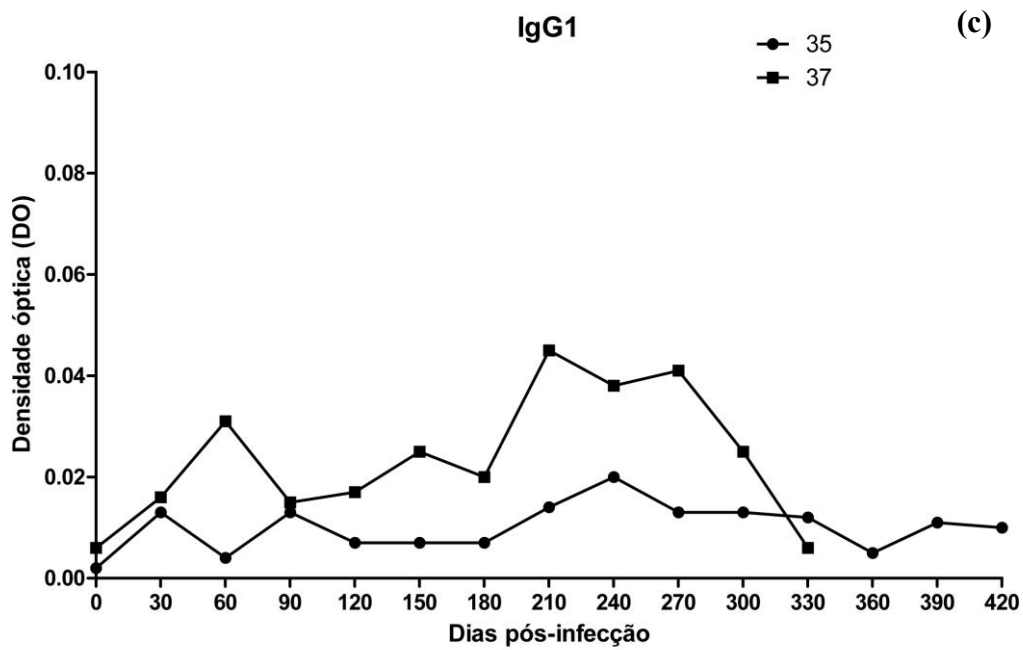
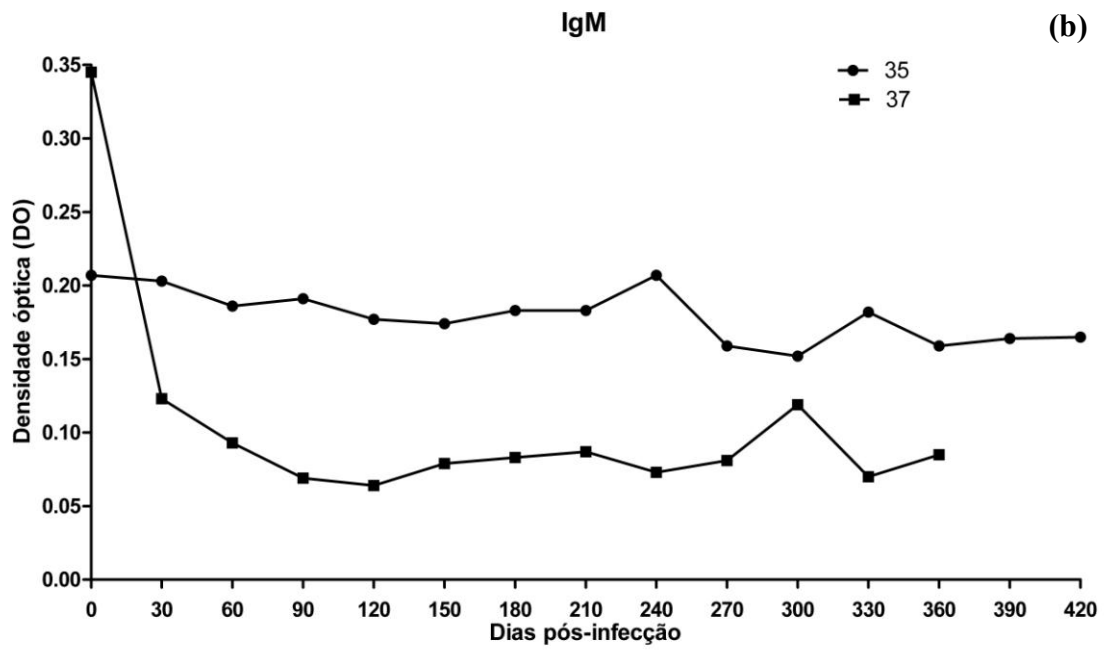
Com relação a produção de IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub> nos animais do grupo 1, foi possível verificar diversos picos de produção, exceto para o animal 39 que não apresentou anticorpos circulantes IgG<sub>1</sub> nos períodos analisados (Figura 1c).

Os animais do grupo 2 (bovinos 35 e 37, abatidos com 420 e 330 dias pós-infecção) não reagiram ao contato inicial com os antígenos secretados pelos cisticercos tanto para produção de anticorpos IgG quanto para IgM (Figuras 2a e 2b). Esse fato pode ser atribuído a uma possível proteção aparente contra cisticercose ou a imunidade passiva, situação que pode ser observada principalmente quando comparado o dia 0 pós-infecção do animal 37 com os demais períodos, apesar da densidade óptica do dia 0 estar superior aos demais dias analisados. O animal 37 apresentou discreto aumento de produção de IgG no período de 30-60 dias, houve uma redução até 120 dias, e após esse período mostrou uma tendência de elevação até 270 dias, e após esse período registrou-se uma queda nos valores de IgG.

Durante o exame *post-mortem* do animal 37, foram recuperados 48 cisticercos no total, sendo que somente 1 cisticercos apresentava-se como inviável e os demais estavam na forma viável. Esse pico pode ser devido ao início da reação imunológica hospedeiro-parasito para a morte dos cisticercos, estando associadas a liberação de antígenos pelos cisticercos, concordando com Smith et al. (1991) que também encontraram picos de anticorpos aos 160 e 200 dias pós-infecção.

Quando comparada a resposta imune do animal 35 com os achados do exame *post-mortem*, é possível fazer uma associação da queda na produção de IgG (Figura 2a) com o fato de não ter sido encontrados cisticercos vivos nesse animal, pois todos os 26 cisticercos encontrados estavam inviáveis.





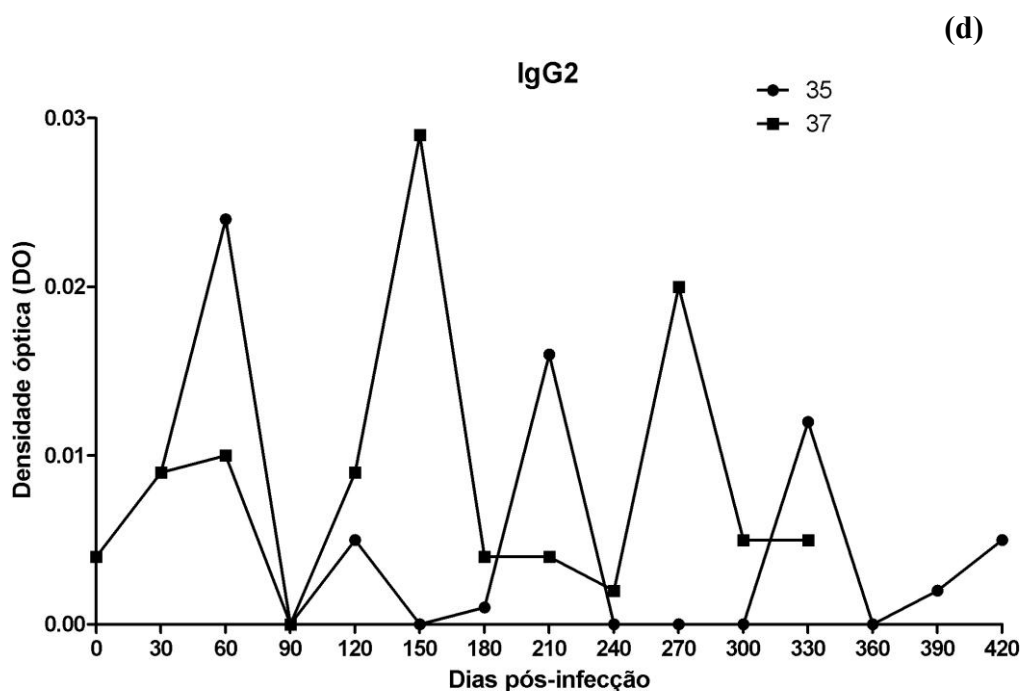


Figura 2. Cinética da produção de anticorpos (DO) IgG (total), IgM, IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub> dos animais do grupo 2 (35 e 37).

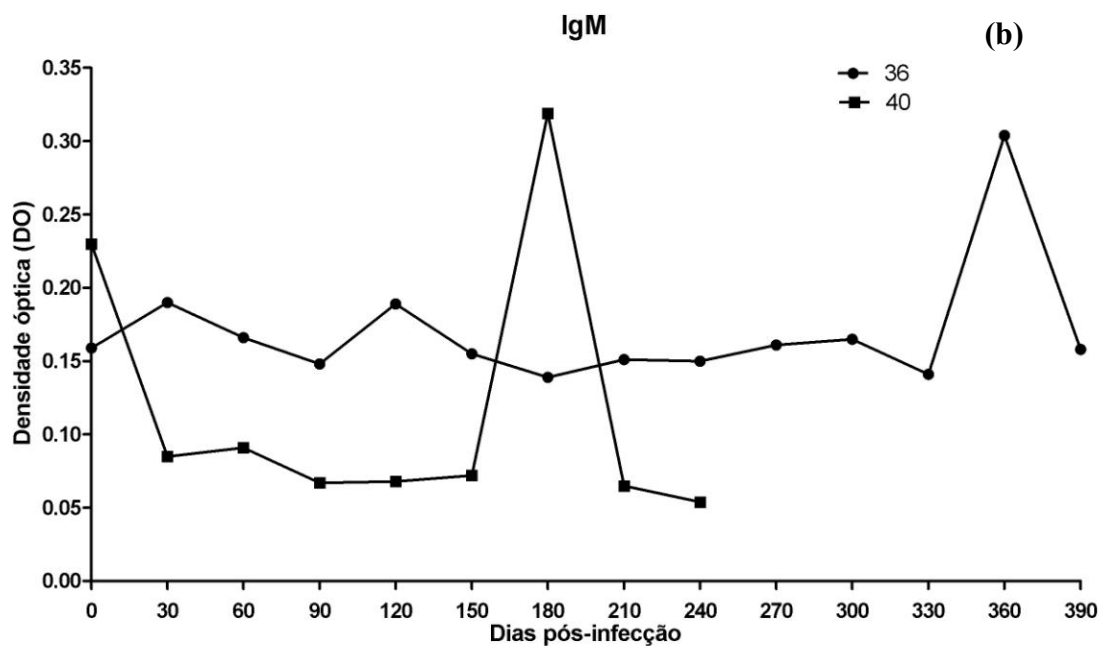
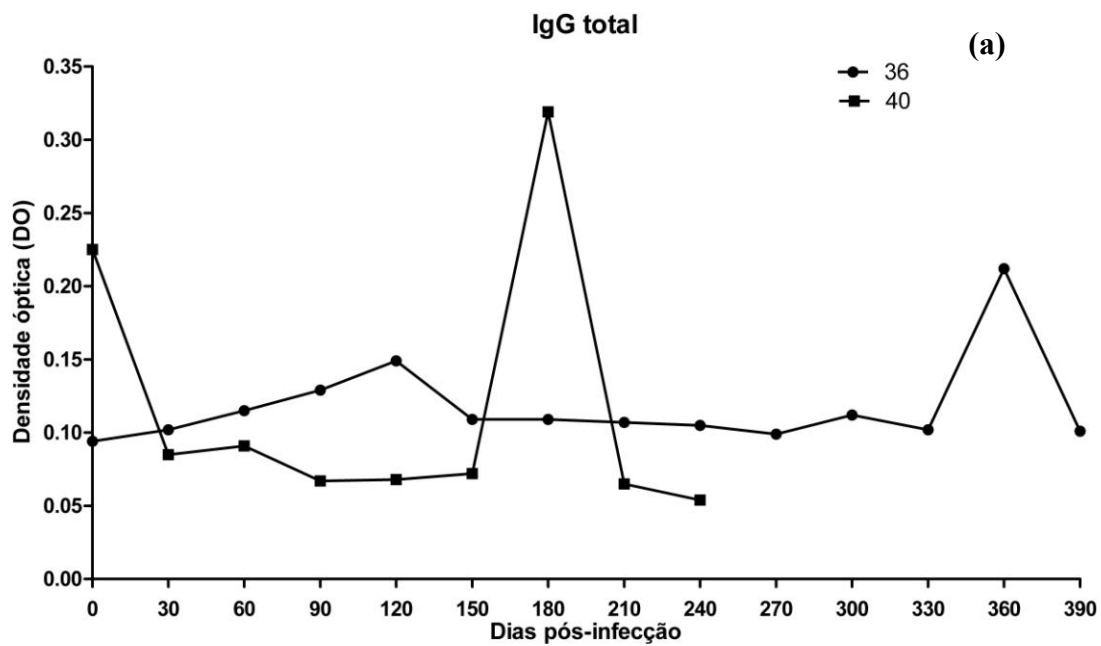
Em nenhum momento os animais 35 e 37 apresentaram picos de produção de IgG e IgM. Contudo, o animal 35 (abatido com 14 meses pós-infecção) teve uma pequena elevação dos anticorpos IgG entre os dias 0-30. A resposta imunológica do animal 35 se manteve constante. Entretanto, aos 300 dias pós-infecção, houve uma leve queda na produção de IgG seguida de um discreto aumento a partir do 390 dias.

Em relação a produção de IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub>, o animal 35 apresentou menores quantidade quando comparado ao animal 37, que por sua vez apresentou diversos picos de produção nos mesmos períodos para IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub>, divergindo somente aos 300 dias pós-infecção onde IgG<sub>1</sub> apresentou uma queda e IgG<sub>2</sub> uma tendência de aumento (Figuras 2c e 2d).

Através da análise das densidades ópticas dos animais do grupo 3 (bovinos 36 e 40, abatidos com 390 e 240 dias pós-infecção, respectivamente), foi possível verificar uma resposta imunológica divergente dos demais animais. O bovino número 36, no período de 0-330 dias pós-infecção manteve seus títulos de anticorpos IgG de maneira constante, e somente no dia 360 pós-infecção houve pico de IgG e IgM, atribuído ao fato de terem ocorrido mecanismos evasão do parasito ao ataque imunológico do hospedeiro (Pawlowsky, 1972).

Com relação ao animal de número 40, no período do dia 0 ao dia 30 pós-infecção houve uma queda significativa nos valores de imunoglobulina IgG, seguido de uma

baixa produção até o dia 180 pós-infecção, apresentando um grande aumento de IgG seguido de uma brusca queda aos 210 dias (Figura 3a) Mesmo se tratando de um perfil imunológico diferente dos demais animais, foi possível observar que houve uma produção de anticorpos contra o cisticerco mesmo sendo que tardia, fato que pode estar ligado ao período de reconhecimento dos antígenos pelo hospedeiro. Essa proteção aparente contra os cisticercos possa ter sido adquirida passivamente através do colostro no início da vida desses animais (Flisser et al., 1979).



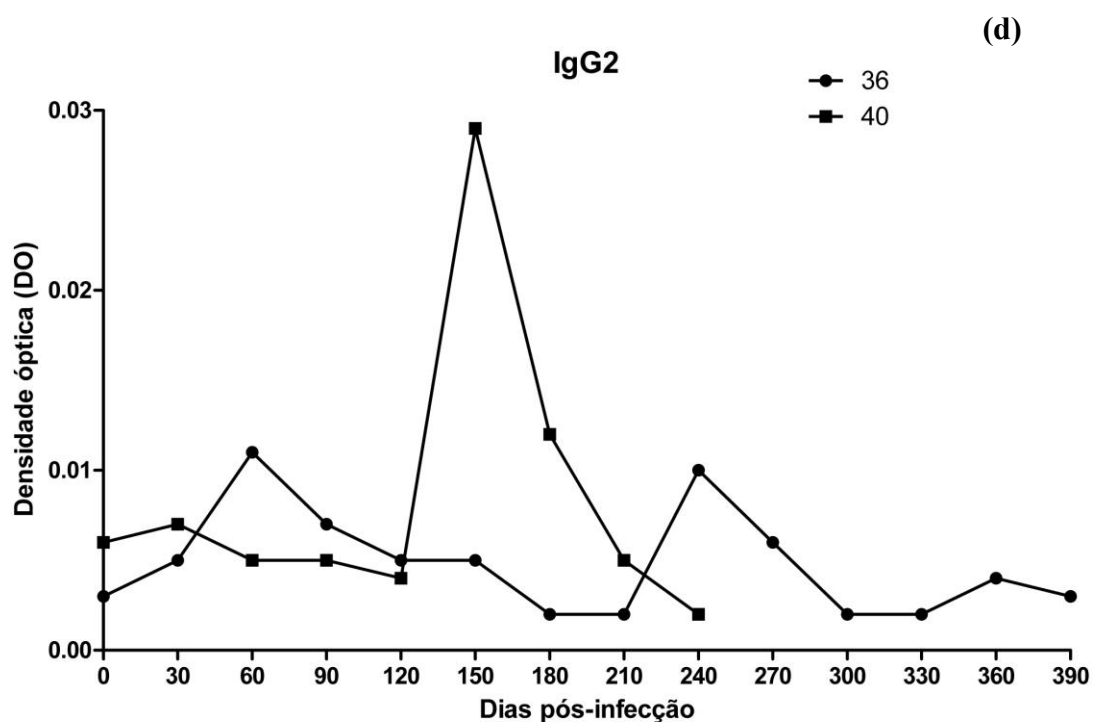
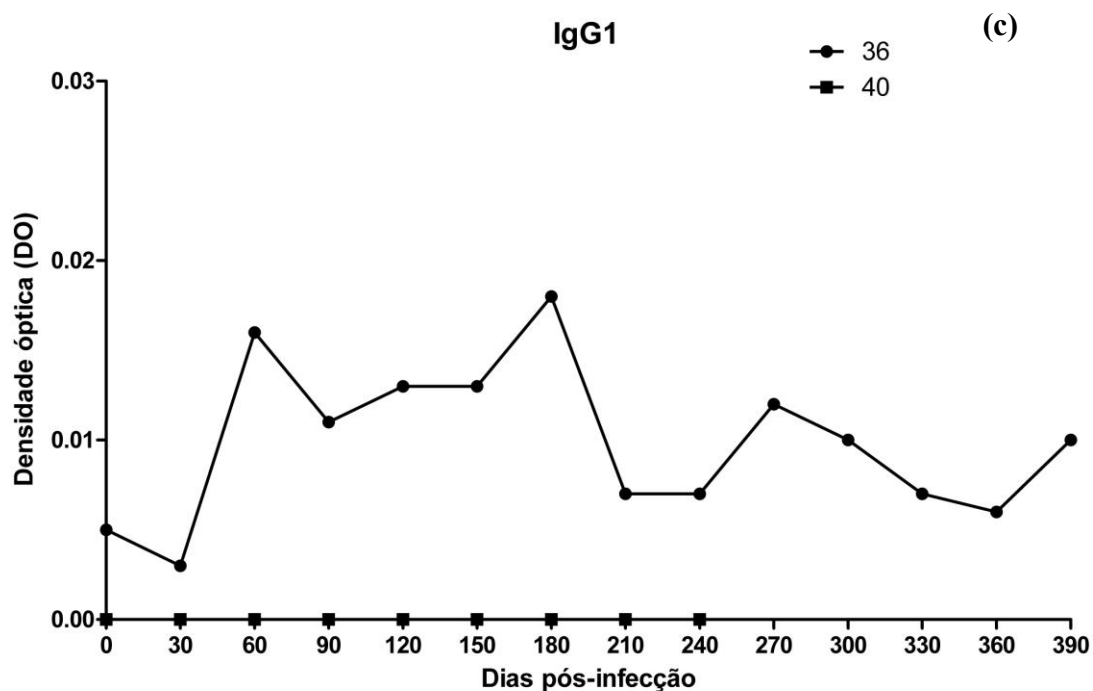


Figura 3. Cinética de produção de anticorpos (DO) IgG (total), IgM, IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub> dos animais do grupo 3 (36 e 40).

Em relação a produção de IgM, semelhante a produção de IgG, o animal 36 manteve seus níveis de anticorpos constantes no período de 0-330 dias pós-infecção, sendo que aos 360 dias pós-infecção ocorreu um pico de produção de IgM seguido de queda. Já o animal 40 teve o pico de IgM aos 180 dias pós-infecção, e aos 210 dias

apresentou tendência de queda (Figura 3b). Os perfis imunológico dos animais do grupo 3 foram semelhante para IgG e IgM, sendo que o pico de produção dos anticorpos ocorreu no mesmo período. Essa variação na resposta imunológica e o pico de produção de anticorpos em períodos distintos dos demais animais analisados, pode estar ligado ao fato da habilidade do cisticerco sobreviver por longo período na presença da resposta imunológica do hospedeiro, utilizando-se de defesa como mimetização de antígenos do hospedeiro, absorção de antígenos do hospedeiro, variação antigênica, anticorpos bloqueadores e tolerância (Tizard, 2002).

O animal 36 apresentou diversos picos de produção de IgG<sub>1</sub>. Em relação a IgG<sub>2</sub> foi possível observar a mesma tendência nos períodos analisados, contudo com valores menores e com a ocorrência de somente um pico de produção de anticorpos. A produção de IgG<sub>1</sub> no animal 40 foi nula. Entretanto, a IgG<sub>2</sub> aos 120 dias pós-infecção começou a apresentar uma tendência de elevação, e no dia 150 ocorreu o pico, seguido de uma discreta queda até completar 240 dias pós-infecção (Figuras 3c e 3d).

Através da análise da produção média de IgG<sub>1</sub> de todos os grupos analisados, foi possível detectar a elevação de anticorpos IgG<sub>1</sub> no período de 0-30 dias pós-infecção. Contudo, o pico de produção ocorreu aos 270 dias, divergindo dos resultados encontrados por Bogh et al. (1996) que conseguiram detectar os níveis de anticorpos IgG<sub>1</sub> circulantes somente após seis semanas pós-infecção. Contudo, não foram detectados níveis de IgG<sub>1</sub> circulantes nos animais 39 e 40 em nenhum dos períodos analisados, tratando-se possivelmente de uma característica individual desses animais.

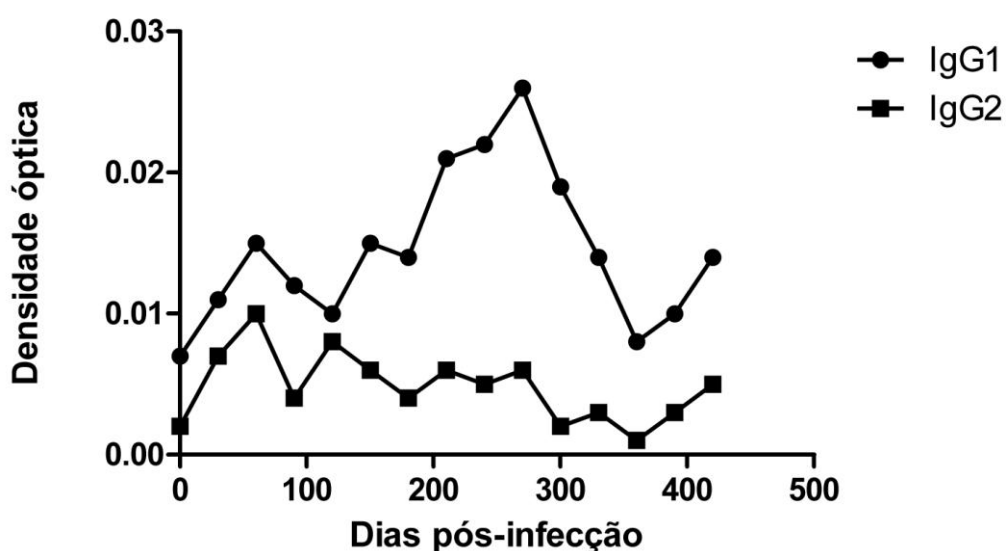


Figura 4. Cinética da produção de anticorpos IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub> a partir das médias das densidades ópticas dos nove bovinos experimentalmente infectados.

Os baixos valores de produção de imunoglobulinas IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub> encontrados no presente estudo podem estar associados às características da resposta imunológica individual dos animais. Entretanto, vale ressaltar que os anticorpos IgG<sub>1</sub> representam 50% das IgG circulantes e que a concentração de IgG<sub>2</sub> varia muito entre os bovinos (Tizard, 2009). Ao analisar a média de produção do IgG<sub>1</sub>, foi possível verificar uma tendência de elevação até 270 dias e novamente aos 360 dias pós-infecção. De acordo com Sciutto et al. (2007) é razoável esperar que o parasito expresse um conjunto complexo e diversificado de antígenos que pode contribuir para a diversidade das respostas imunes.

Segundo Flisser et al. (1979), os anticorpos anti-cisticercos exercem sua função antiparasitária através de diversos mecanismos, entre eles a produção de IgG<sub>2</sub>, que apresentou aumento quando associado à presença de eosinófilos. Este, por sua vez, parece ter uma ação de proteção em bovinos parasitados por cisticercos (Wikerhauser, 1974), associação que não foi observada no presente estudo.

As médias obtidas da produção de imunoglobulinas, a partir da leitura das densidades ópticas (DO) das amostras de soro bovino utilizando os anticorpos conjugados para IgM e IgG total não mostraram diferença estatística entre si, como ocorreu com as médias de DO entre IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub>. Contudo, quando comparada a média de produção de IgM e IgG total com IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub> foi encontrada diferença ( $p < 0,05$ ). Tal ocorrência é demonstrativa de que a resposta imunológica frente a infecções por *Taenia saginata* é em sua maioria mediada por anticorpos da classe IgM e IgG total.

Em relação à resposta celular verificada a partir de fragmentos analisados em microscopia de luz, foi encontrada em ordem decrescente, a presença de células gigantes multinucleadas, seguidas de fibroblastos, eosinófilos, células epitelióides, basófilos, linfócitos, neutrófilos e monócitos quando se enumerou todas as células presentes na área média mensurada por animal.

A partir da contagem celular nos fragmentos estudados pela microscopia de luz (Tabela 1), foi encontrada uma média de 39,6 eosinófilos presentes na musculatura para cada cisticercos vivo analisado e 21,2 eosinófilos para os cisticercos inviáveis. Aluja & Vargas (1988) afirmam que os eosinófilos são as células determinantes para iniciar o processo de destruição da larva no tecido do hospedeiro, no caso de infecção por *Taenia solium*. Essas células são especialmente adaptadas para atacar e destruir larvas invasoras de helmintos, pois suas enzimas são eficientes na destruição da cutícula de larvas

(Tizard, 1985). A presença significativa dos eosinófilos em infecções por cisticercos está de acordo com Santos et al. (2001) e Tortelly (2003).

Tabela 1. Resultados (n<sup>o</sup>, média) da contagem celular por meio de microscopia óptica de luz de cisticercos viáveis e cisticercos inviáveis, células contabilizadas de acordo com a viabilidade do cisticerco (viáveis e inviáveis) utilizando-se a objetiva de 100X.

Células	Cisticercos viáveis	Média	Cisticercos inviáveis	Média	Total
Monócitos	13	4,3	12	03	25
Neutrófilos	70	23,3	37	9,2	107
Linfócitos	80	26,6	54	13,5	134
Basófilos	84	28	61	15,2	145
Epitelióides	51	17	117	29,2	168
Eosinófilos	119	39,6	85	21,2	204
Fibroblastos	80	26,6	217	54,2	297
Gigantes multinucleadas	724	241,3	356	89	1080

Os valores encontrados no presente estudo de linfócitos apresentaram a média de 26,6 linfócitos nos cisticercos viáveis e 13,5 nos cisticercos inviáveis. O fato de ter sido encontrada nos cisticercos viáveis o dobro de linfócitos do que em cisticercos inviáveis pode estar relacionado ao que Jones et al. (2000) descrevem, que a principal alteração tecidual provocada pelo cisticerco vivo é o deslocamento das miofibras podendo haver discreta miosite com alguns linfócitos e macrófagos.

Em relação aos fibroblastos, foi possível constatar uma grande deposição ao redor de cisticercos inviáveis, principalmente quando comparadas com a média dos cisticercos inviáveis (54,2) com viáveis (26,6). A formação de uma espécie de granuloma ao redor do cisticerco é semelhante ao que ocorre em casos de tuberculose (*Mycobacterium bovis*) havendo grande deposição de fibroblastos para que o tubérculo não aumente seu tamanho (Thoen & Chiodini, 1995).

As células gigantes multinucleadas resultam da fusão de vários macrófagos, e foram as mais encontradas no presente estudo, tendo uma média de 241,3 para cisticercos viáveis e 89 células gigantes multinucleadas para cisticercos inviáveis. Diversos autores como Sterba & Dyková (1978), Reis (1980), Santos et al. (2001), Tortelly (2003) e Almeida (2006) relatam a presença de células gigantes multinucleadas em infecções causadas por cisticercos, entretanto nenhum autor faz mensuração do número dessas células.

Em relação às características morfológicas obtidas pela interação parasito-hospedeiro nas amostras dos cisticercos viáveis, foi possível verificar no centro da lesão, a presença de células envolvidas em processos inflamatórios tendo um rico infiltrado celular e abundante presença de eosinófilos, concordando com Costa (2003) e Tortelly (2003), além de neutrófilos e linfócitos (Figuras 5, 6 e 7).

Já os cisticercos inviáveis se apresentaram com um centro necrótico (Figura 8) como relatado por Costa (2003), Tortelly (2003), Scandrett et al. (2012), essa região mostrou-se rica em corpúsculos calcáreos e detritos celulares, estando envolto por três camadas, a mais externa ao cisticercos sendo rica em tecidos de reparação. Há um grande infiltrado celular, com presença de histiócitos dispostos em paliçada (Santos et al., 2001; Tortelly, 2003; Almeida, 2006), células gigantes multinucleares e basófilos (Scandrett et al., 2012).

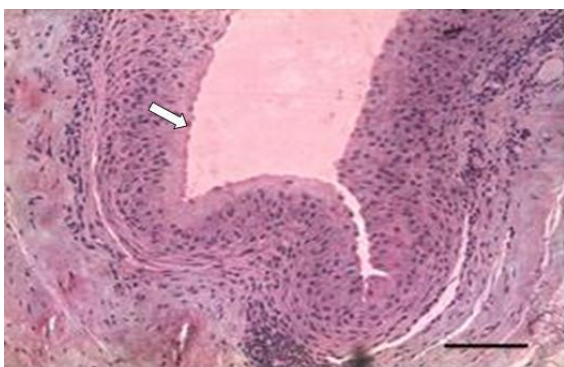


Figura 5. Bovino com 7 meses pós-infecção. Cisticercos vivos, onde é possível observar a cápsula de proteção do cisticercos e suas camadas (em destaque). HE. Barra: 100  $\mu$ m.

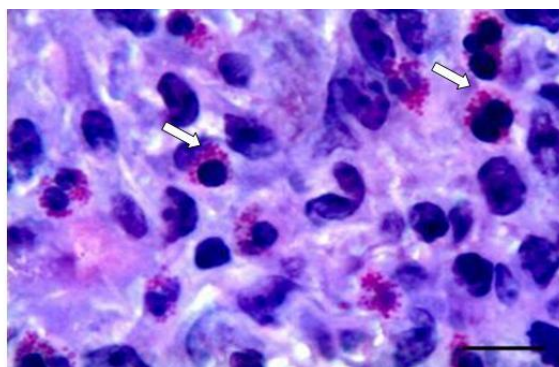


Figura 6. Bovino com 9 meses pós-infecção. Cisticercos vivos. Presença maciça de eosinófilos (em destaque). HE. Barra: 10  $\mu$ m.

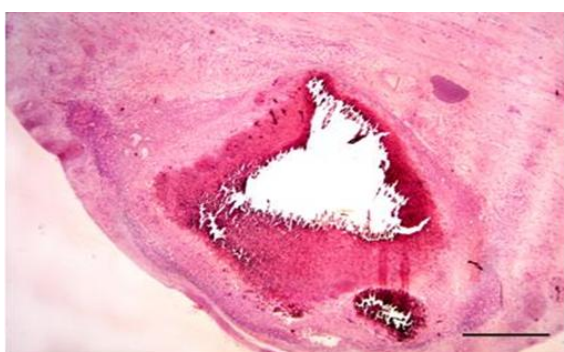


Figura 7. Bovino com 12 meses pós-infecção. Cisticercos em processo de calcificação. HE. Barra 500  $\mu$ m .



Figura 8. Bovino com 12 meses pós-infecção. Cisticercos calcificados. Presença maciça dos corpúsculos calcáreos (a) no centro do cisticercos e rico infiltrado celular na periferia (b). Von Kossa. Barra: 100  $\mu$ m

A partir dos cisticercos viáveis e inviáveis coletados do animal abatido com nove meses pós-infecção, foi possível verificar que na região ao redor da lesão provocada pelo cisticerco, havia maior número de células envolvidas nos processos inflamatórios nos cisticercos viáveis quando comparado aos cisticercos inviáveis, que já estavam mais ligados à presença de células reparadoras de tecido, sugestivo de mecanismo de proteção do hospedeiro contra o parasito.

Ao examinar os fragmentos por técnica de microscopia, utilizando coloração de Von Kossa, foi possível constatar a presença maciça de corpúsculos calcáreos, em cisticercos inviáveis ou aqueles em processo de inviabilização (morte), quando comparados à presença em cisticercos vivos. A migração dos corpúsculos calcáreos para o centro da lesão parece estar relacionada com o estágio de morte do parasito e normalmente aparecem em maior quantidade quando há uma exposição da lesão pelo sistema imune do hospedeiro (Figuras 9 e 10).

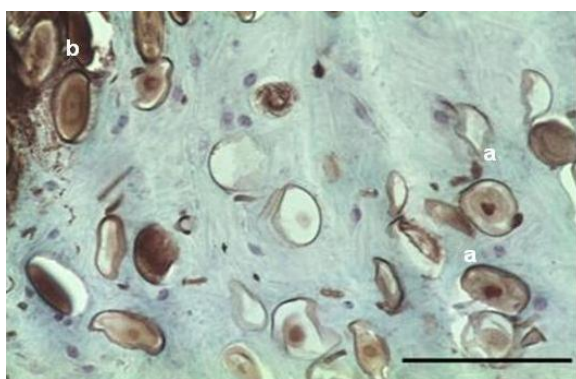


Figura 9. Bovino com 9 meses pós- infecção. Ao exame macroscópico o cisticerco apresentava-se viável. Migração dos corpúsculos calcáreos (a) para o centro da lesão (b). Von Kossa. Barra: 50  $\mu$ m.

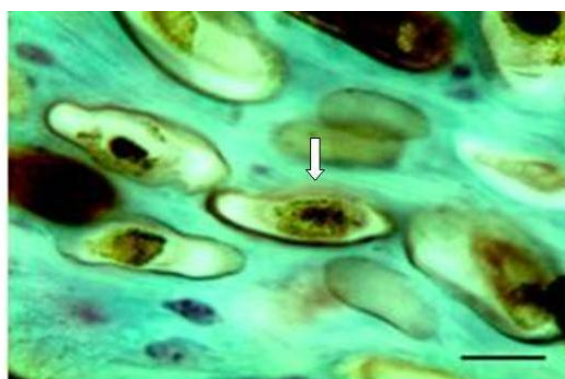


Figura 10. Detalhe do corpúsculo calcáreo (em destaque). Von Kossa. Barra: 10  $\mu$ m .

Segundo Pawlowski et al. (1988) os corpúsculos calcários são estruturas compostas de cálcio, fósforo, silício e zinco, que podem fornecer a única evidência ao corte histológico, de que o espécime se trata de um cestóide (Georgi & Georgi, 1988).

A associação dos resultados expostos no presente estudo, em relação aos parâmetros humorais e celulares na evolução da cisticercose, é importante no aprimoramento de um teste diagnóstico complementar na detecção da cisticercose.

#### 4. Conclusões

1- As imunoglobulinas predominantes na evolução da resposta imunológica de bovinos contra a cisticercose são IgM e IgG quando comparadas com IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub>.

2- Os cisticercos inviáveis se apresentaram com um centro necrótico rico em corpúsculos calcáreos e detritos celulares envolto por três camadas, a mais externa ao cisticercos é rica em tecidos de reparação. Há um grande infiltrado celular, com presença de histiócitos dispostos em paliçada, células gigantes multinucleares e basófilos.

3- Os cisticercos viáveis apresentaram em seu centro células envolvidas em processos inflamatórios tendo um rico infiltrado celular e abundante presença de eosinófilos, neutrófilos e linfócitos.

4- A quantidade e migração dos corpúsculos calcáreos está relacionada com o estágio de morte da larva de *Taenia saginata*.

#### 5. Referências bibliográficas

ACHA, P.; SZIFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 2 ed. Washington: OPS/OMS, 1986, 989p.

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. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 13, n. 3, p. 178-182, 2006.

ALUJA, A.; VARGAS, G. The histopathology of porcine cysticercosis. **Veterinary Parasitology**, v.26, p.65-77, 1988.

BOGH, H.O.; LIND, P.; GRONVOLD, J.; LLSCE, B.; MAEDA, G.E.; HENRIKSEN, S.A.; NANSEN, P.; GEERTS, S. Experimental single and trickle infections of cattle with *Taenia saginata*: studies of immunodiagnosis. **Research in Veterinary Science**, v.60, p.64-68, 1996.

BRASIL. Ministério Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Inspeção de carnes: Padronização de técnicas, instalações e equipamentos. Brasília, DIPOA/DICAR, 1971. 183p. Tomo I: Bovinos.

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

FLISSER, A., PÉREZ-MONTFORT, R., LARRALDE, C. The immunology of human and animal cysticercosis: a review. In: **Bulletin of the World Health Organization**, v.5, n.57, p.839-856, 1979.

FLISSER, A.; GONZALEZ, D.; PLANCARTE. Praziquantel treatment of brain and muscle porcine *Taenia solium* cysticercosis 2 - immunological and cytogenetic studies. **Parasitology Research**, v.76, p.640-642, 1990.

FORTES, E. **Parasitologia veterinária**. 3. ed. São Paulo: Cone, 1997. p.183- 185.

GEISBERGER, R.; LAMERS, M.; ACHATZ, G. The riddle of the dual expression of IgM and IgD. **Immunology**, v.118, n.4, p. 429-437, 2006.

GEORGI, M.E. & GEORGI, J.R. Diagnóstico histopatológico. In: GEORGI, J. R. **Parasitologia veterinária**. 4. ed. São Paulo: Manole, 1988. p.335-365.

GOLDOVÁ, M., TÓTH, S., LETKOVÁ, V., MOJŽIŠOVÁ, J., KOŽAROVÁ, I., POMFY, M. Comparison of the histological methods in the diagnostic of deer cysticercosis. **Helminthologia**, v.3, n.45, p.121 – 125, 2008.

HAYUNGA, E.G. & SUMNER, M.P. Isolation and purification of a diagnostic antigen for bovine cysticercosis by hydrophobic chromatography. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.28, n.1, p.57-65, 1991.

JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. **Patologia Veterinária**, 6 ed. São Paulo: Manole, 2000. 1415p.

KYVSGAARD, N.C.; ILSOE, B.; HENRIKSEN, S.A.; NANSEN, P. Distribution of *Taenia saginata* cysts in carcasses of experimentally infected calves and its significance for routine meat inspection. **Research Veterinary Science**, v.49, p.29–33, 1990.

MINOZZO, J.C.; THOMAZ-SOCCOL, V.; OLORTEGUI, C.C.; SOARES, V.E.; COSTA, A.J. Teste Imunoenzimático (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) para diagnóstico da cisticercose bovina e estudo da cinética de produção de anticorpos contra-*Cysticercus bovis*. **Ciência Rural**, v. 34, n. 3, p. 857-864, 2004.

PAWLOWSKI, Z.; SCHULTZ, M. G.; Taeniasis and cisticercosis (*Taenia saginata*). **Advances in Parasitology**, v. 10, p.269-343, 1972.

PAWLOWSKI, I.D.; YAP, K.W.; THOMPSON, R.C. A. Observation and structure of calcareous corpuscles in Taeniid cestodes. **Parasitology Research**, Berlin, v. 74, p. 293-296, 1988.

PENHA, T.R. **Produção e caracterização de anticorpos monoclonais anti-fragmento FC de IgG de bovino**, 2007. 98f. Dissertação (Mestrado em Processos Biotecnológicos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR.

PIER, G.B.; LYCZAK, J.B.; WETZLER, L.M. **Immunology, infection, and immunity**, Washington: ASM Press, 2004. 697p.

REIS, A.C.F. **Estudo histopatológico das alterações hepáticas observadas em bovinos azebuados abatidos nos estados de Goiás e Paraná – Brasil**. Rio de Janeiro, 1980. 100f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Área de Patologia Animal) – Decanato de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ.

REY, L. **Parasitologia: Parasitos e doenças parasitárias do homem na América e na África**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p.487-515.

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

SCANDRETT, W.B.; HAINES, D.M.; PARKER, S.E.; ROBINSON, Y.; FORBES, L.B.; BRANDT, J.; GEERTS, 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, n.3-4, p.301-311, 2012.

SCIUTTO, E.; FRAGOSO, G.; TRUEBA, L.; LEMUS, D.; MONTOYA, R.M.; DIAZ, M.L.; GOVEZENSKY, T.; LOMELI, C.; TAPIA, H.; LARRALDE, C. Cysticercosis vaccine: cross protecting immunity with *T. solium* antigens against experimental murine *T. crassiceps* cysticercosis. **Parasite Immunology**, v.12, p. 687-696, 1990.

SCIUTTO, E.; CHAVARRIA, A.; FRAGOSO, G.; FLEURY, A.; LARRALDE, C. The immune response in *Taenia solium* cysticercosis: protection and injury. **Parasite Immunology**, v.29, p.621–636, 2007.

SMITH, H.J.; SNOWDON, K.E.; GREGORY, D.; FINLEY, G.G. Assessment of an Enzyme-linked Immunosorbent Assay using a *Taenia hydatigena* fraction antigen in the diagnosis of cysticercosis in cattle. **Journal of Veterinary Research**, v.54, p. 299-300, 1990.

SMITH, H.J.; SNOWDON, K.E.; FINLAY, R.C. Serological diagnosis of cysticercosis by an Enzyme-linked Immunosorbent Assay in experimentally infected cattle. **Journal of Veterinary Research**, v.55, p.274-276, 1991.

SOARES, K.A.; SILVA, M.R.M.; POLET, M.D.; MAIA, A.A.M. Imunodiagnóstico da cisticercose em suíno experimentalmente infectado com ovos de *Taenia solium*, utilizando antígeno de escólex de *Cysticercus cellulosae*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.1, p.15-20, 2006.

STERBA, J. & DYKOVÁ, I. Tissue reaction of skeletal muscles of cattle both to a spontaneous and experimental infection with *Cysticercus bovis* infection. **Folia Parasitologica**, v.26, p.27-33, 1979.

TIZARD, I. **Introdução à imunologia veterinária**. 2 ed. São Paulo: Roca, 1985. 329p.

TIZARD, I. **Imunologia veterinária**. 6 ed. São Paulo: Roca, 2002. 532p.

TIZARD, I. **Introducción a la inmunología veterinaria**. 8 ed. Barcelona: Elsevier Espana S.L, 2009. 574p.

THOEN, C.O.; CHIODINI, R. In: GYLES, C.L & THOEN, C.O. **Pathogenesis of bacterial infections in animals**. 2<sup>a</sup> ed. Ames: Iowa State University, 1995. p.44-56.

TORTELLY, R. **Lesões em fígados de bovinos sob inspeção sanitária e sua importância em saúde pública**. 2003. 94f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

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

WANG, Q.; SUN, S.; HU, Z.; WU, D.; WANG, Z. Immune response and protection elicited by DNA immunisation against *Taenia cysticercosis*. **Vaccine**, v.21, p.1672–1680, 2003.

WIKERHAUSER, T.; ZUKOVIC, M.; DZAKULA, N.; TIMET, D.; CENA, H.; MARAN, B.; REZIC, I.; KUTICIC, V. A study of active and passive immunizations of calves against the infection with *Taenia saginata* eggs. Immunological, serological, hematological and biochemical investigations. **Acta Parasitologica**, v5, p.87-100, 1974.

### CAPÍTULO 3

Comportamento do teste ELISA no diagnóstico da cisticercose utilizando bovinos experimentalmente e naturalmente infectados com metacestódeo de *Taenia saginata*

## Resumo

O complexo teníase-cisticercose bovina pode ser definido como um conjunto de alterações patológicas causadas pela forma adulta da *Taenia saginata* no humano e por sua forma larvar nos bovinos (*Cysticercus bovis*). Dados sobre a ocorrência da cisticercose bovina provêm dos registros de inspeção veterinária de carnes em matadouros-frigoríficos inspecionados, onde alguns casos positivos podem passar despercebidos, principalmente em infecções moderadas, tornando-se relevante a utilização de testes sorológicos com maior sensibilidade que o exame *post-mortem* de rotina. Estudos demonstram a possível aplicação do teste ELISA como ferramenta para estudos epidemiológicos da parasitose e na identificação dos animais portadores de cistos. O objetivo do presente trabalho é avaliar o desempenho e determinar o limiar de detecção do teste ELISA indireto, utilizando animais experimentalmente e naturalmente infectados na detecção de casos de cisticercose. A sensibilidade do teste para animais naturalmente infectados utilizando o ponto de corte 1 e 2 adicionados de 2 SD foi de 12% e 24,4% respectivamente. Contudo quando utilizado o ponto de corte 1 e 2 adicionados de 3 SD a sensibilidade do teste teve uma queda, representado 1,99% e 14,4%. Já para as amostras de animais experimentalmente infectados utilizando o ponto de corte 1 e 2 adicionados de 2 SD, a sensibilidade ficou em 55,9% e 92,5% e adicionando 3 SD foram encontrados os valores de 31,2% e 86% respectivamente. A especificidade do teste em todas as situações testadas ficou em 100%. É importante levar em consideração a escolha certa dos soros-controle utilizados no teste ELISA, visto que de acordo com sua aplicação torna-se necessário elevar a sensibilidade ou especificidade do teste.

Palavras chave: Desempenho teste ELISA, cisticercose bovina, ponto de corte.

## Abstract

The bovine taeniasis-cysticercosis complex can be defined as a set of pathological changes caused by the adult form of *Taenia saginata* in humans and their larval form in animals (*Cysticercus bovis*). Data on the occurrence of bovine cysticercosis comes from the records of veterinary inspection of meat in slaughterhouses under fiscalization, where some positive cases may go unnoticed, especially in moderate infections. So, it is relevant the use of serological tests that have greater sensitivity than the *post-mortem* routine exams. Studies have shown the possible application of the ELISA test as a tool for epidemiological studies of the parasitosis and in the identification of animals with cysts. The aim of this study is to determine the detection threshold of the indirect ELISA test, using experimentally and naturally infected animals in detecting cases of cysticercosis. The sensitivity of the test to naturally infected animals using a cut-off 1 and 2 added with 2 standard-deviation (SD) was of 12% and 24.4%, respectively. However, when using the cut-off of 1 and 2 added with 3 SD, the test sensitivity dropped, represented by 14.4% and 1.99% of the test sensitivity. As for the samples from experimentally infected animals, using the cut-off 1 and 2 added with 2 SD the sensitivity was 55.9% and 92.5%; and adding 3 SD the values found were 31.2% and 86%, respectively. The specificity of the test in all situations tested was 100%. It is important to take into account the right choice of control sera used in the ELISA test, whereas, according to its application, it is necessary to increase the sensitivity or specificity.

**Keywords:** Performance ELISA test, bovine cysticercosis, cut-off.

## 1. Introdução

O complexo teníase-cisticercose (TC) é um dos problemas atuais para a Saúde Pública no Brasil. A cisticercose é causada pela *Taenia saginata*, que em sua forma larvar está presente na musculatura de bovinos e na forma adulta se alberga no intestino delgado dos humanos, causando a teníase. É um complexo zoonótico que está amplamente difundido, principalmente em países considerados pobres e em desenvolvimento. Entretanto, há relatos de casos em países desenvolvidos, provavelmente devido à intensificação do processo migratório mundial.

Os prejuízos que acarretam estão relacionados às perdas econômicas pelas partes envolvidas com o comércio de carnes, e também à saúde da população que pode se infectar com o parasito através de consumo de carnes cruas ou mal aquecidas que contenham cisticercos viáveis.

Atualmente, o único método de detecção rotineira da cisticercose é feito no exame *post-mortem* em matadouros durante o processo do abate. A procura pelos cisticercos na carcaça é realizada em sítios considerados de eleição de alojamento dos cisticercos, como por exemplo, nos músculos mastigatórios (masseter e pterigóide), musculatura cardíaca e diafragma. Entretanto, os cisticercos podem se alojar em qualquer musculatura do animal inclusive nos cortes considerados nobres, e se não forem detectados nos sítios de eleição a carcaça, mesmo positiva, pode ser liberada para consumo equivocadamente.

A inspeção de carnes por si só não permite detectar todos os cisticercos presentes nas carnes, visto que por razões de natureza estética e comercial, o inspetor normalmente não retalha todos os órgãos, vísceras e carcaças submetidas à inspeção de rotina ou posteriormente a ela, o que pode acarretar numa subestimação da real prevalência da doença (Fernandes, 2002).

Allepuz et al (2012) detectaram antígeno circulante por meio do teste ELISA em 23 de 2073 bovinos abatidos na região Nordeste da Espanha, obtendo uma soroprevalência de 1,11% sendo que, o valor alcançado pelo teste ELISA foi cinquenta vezes maior do que o valor estimado pela inspeção visual ao analisar 90,891 animais nos mesmos matadouros. Ressaltando que, nenhum animal detectado como positivo pelo teste ELISA foi diagnosticado com cisticercose durante inspeção *post-mortem*.

Geerts et al. (1981) afirmaram que para o diagnóstico da cisticercose, é necessária uma técnica de elevada sensibilidade, devido ao alto grau de adaptação da

larva de *Taenia saginata* ao hospedeiro, que resulta em uma baixa produção de anticorpos. Baixos níveis de anticorpos produzidos em infecções leves muitas vezes dificultam na seleção de um ponto de corte e na interpretação dos achados em testes sorológicos como o ELISA (Smith et al., 1991). O desenvolvimento de anticorpos anti-cisticercose é dependente, no mínimo, da magnitude da infecção estabelecida, e talvez também da fase de infecção em que os animais se encontram quando são testados (Smith et al., 1990).

Entretanto, o aperfeiçoamento de métodos diagnósticos modernos, como o teste ELISA, poderia melhorar esta eficiência de diagnóstico da doença, alcançando ainda os animais vivos (Ogunremi & Benjamin, 2010). Queiroz et al. (2000) destacaram a necessidade de se pesquisar e sugerir a implementação do teste ELISA como método auxiliar a inspeção visual, buscando maior eficiência no diagnóstico da cisticercose bovina.

A utilização do teste ELISA revela que a prevalência da cisticercose bovina, realizada por meio de detecção através da inspeção clássica realizada em matadouros-frigoríficos é subestimada (Dorny et al., 2000).

Nesse contexto, faz-se necessário a utilização de testes sorológicos que possuam maior sensibilidade quando comparados ao exame *post-mortem* de rotina. Estudos demonstram a possível aplicação do teste ELISA como ferramenta para estudos epidemiológicos da parasitose e na identificação dos animais portadores de cistos (Iasbik et al., 2010). O conhecimento da resposta imunológica dos animais para a cisticercose não está totalmente esclarecido, o que pode explicar falhas no desempenho dos testes imunológicos utilizados para o diagnóstico da cisticercose.

O teste ELISA vem sendo utilizado no diagnóstico da cisticercose em seres humanos, em suínos e bovinos, com poucos registros de sua aplicação nesses últimos, carecendo de protocolos padronizados para esta espécie, que permitam esclarecer a sua eficiência no diagnóstico da doença (Pinto et al., 2006). Sabe-se que a principal dificuldade no diagnóstico de bovinos naturalmente infectados são os baixos níveis de anticorpos produzidos pelo bovino (Kyvsgaard et al., 1991; Smith et al., 1991).

O custo de implementação de uma ferramenta mais sensível para o diagnóstico da cisticercose bovina deve ser relacionado com os benefícios de uma redução de riscos de infecção humana, tendo alto potencial para impedir o ciclo de transmissão da cisticercose bovina, beneficiando também o setor pecuário através de redução das perdas econômicas (Allepuz et al., 2012).

Tendo em vista os fatores expostos acima, objetivou-se no presente estudo avaliar o limiar de positividade do teste ELISA indireto e determinar as taxas de sensibilidade e especificidade a partir de amostras de animais não infectados, infectados naturalmente e experimentalmente, comparando assim o desempenho do diagnóstico imunológico com o do método diagnóstico de rotina de inspeção post-mortem (anátomo-patológico).

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Infecção experimental

Um paciente positivo para teníase foi identificado e após tratamento específico obteve-se um exemplar de *Taenia sp.* A morfologia foi confirmada em laboratório através de microscopia direta, verificando o número de ramificações uterinas, constatando que se tratava de *Taenia saginata*. O parasito ficou armazenado sob refrigeração (4°C) e imerso em uma solução contendo cloridrato de oxitetraciclina 500mg (Terramicina®) e água destilada. O preparo do inóculo consistiu de lavagem das proglotes, dissecação com auxílio de lupa e centrifugação. Foi realizada contagem do número de ovos com auxílio de microscópio. Para inoculação experimental utilizou-se 1ml do inóculo que continha aproximadamente 120.000 ovos de *Taenia saginata*, diluídos em água destilada, e administrado por via oral com auxílio de sonda gástrica. Em seguida, foram fornecidos cerca de 500ml de água através da sonda, garantindo que todos os ovos presentes na alíquota fossem totalmente ingeridos. Nesse experimento foram selecionados nove bovinos machos, de raça mestiça holandês-zebu, com aproximadamente seis meses de idade, e mantidos em ambiente livre de contaminação por cisticercos, evitando assim reinfecção dos animais.

### 2.2. Obtenção das amostras de soro

O presente estudo foi realizado com amostras de soro bovino pertencentes a quatro grupos distintos, caracterizados a seguir.

O grupo 1 foi composto por amostras de sangue dos bovinos procedentes de uma propriedade sem histórico de cisticercose e que foram infectados experimentalmente. As amostras foram coletadas mensalmente, iniciando no dia 0 (data da inoculação) e

finalizando com 420 dias pós-infecção. As amostras foram coletadas utilizando-se a seguinte ordem: dia 0 pós-infecção (n=9), dia 30 (n=9), dia 60 (n=9), dia 90 (n=9), dia 120 (n=9), dia 150 (n=9), dia 180 (n=8), dia 210 (n=7), dia 240 (n=6), dia 270 (n=5), dia 300 (n=4), dia 330 (n=4), dia 360 (n=3), dia 390 (n=2), dia 420 (n=1). Totalizaram-se 93 amostras considerando os diferentes períodos pós-inoculação, tomando como base que a partir de 60 dias pós-infecção o cisticerco está completamente maduro, sendo possível fazer o diagnóstico macroscópico em animais parasitados (Pfuetzenreiter & Ávila-Pires, 2000). O material foi dessorado e estocado a -20°C com vistas à sua utilização nos ensaios laboratoriais. Todos os animais pertencentes a esse grupo foram abatidos em um matadouro-frigorífico, de acordo com as normas técnicas do Serviço de Inspeção Federal (Brasil, 1971). Os animais foram rigorosamente inspecionados, examinando os tecidos inspecionados rotineiramente nas linhas de inspeção *post-mortem* para pesquisa de cisticercos (coração, língua, músculos mastigatórios), e outras áreas consideradas não rotineiras para inspeção representadas por quatro cortes comerciais de carnes, obtidos de meia carcaça, localizados nos quartos dianteiro e traseiro, sendo esses o acém, a paleta, a alcatra e o contra-filé. Ainda foram examinados o diafragma e seus pilares, esôfago e o fígado.

O grupo 2 foi composto de 201 amostras de animais naturalmente infectados, cujo diagnóstico da cisticercose foi realizado durante a inspeção *post-mortem* conduzida na rotina de três matadouros-frigoríficos comerciais supervisionados por serviço de inspeção federal localizados em Colatina-ES (n=122), Contagem-MG (n=32) e Muriaé-MG (n=3), e um matadouro-frigorífico supervisionado pelo serviço de inspeção estadual em Colatina-ES (n=44) (Anexo 3).

No grupo 3, se enquadram 26 amostras de bovinos abatidos em matadouro comercial, que foram negativos para cisticercose e outras doenças durante inspeção *post-mortem* de rotina. Estes soros-controle foram utilizados para a determinação do ponto de corte 1.

Já as amostras de soro do grupo 4 foram obtidas de oito bovinos criados em isolamento e mantidos sob condições controladas, tratando-se de animais não portadores de cisticercos após o abate. Estes soros-controle foram utilizados para a determinação do ponto de corte 2.

### 2.3. Técnica do ELISA

As placas de poliestireno foram sensibilizadas com os antígenos diluídos em solução tamponada carbonato-bicarbonato 0,5M pH 9,6 durante 1 hora a 37°C. Após lavagens em solução salina contendo 0,05% de Tween-20, foi realizado o bloqueio dos sítios reativos (leite desnatado a 5% em PBS pH 7,4), durante 1 hora a 37°C. Novas lavagens foram realizadas e as amostras foram diluídas em leite desnatado a 1% em PBS pH 7,4 e a placa incubada por 30 minutos a 37°C. Após lavagens, foi adicionado o conjugado anti-IgG de bovino A-5295 (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA) e repetidos os procedimentos de incubação e lavagem. A reação foi revelada com solução de OPD (0,1%) e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,003% em tampão citrato-fosfato 0,2M pH 5,0, durante um período de incubação de 5 minutos. A reação foi bloqueada com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4N. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 492nm. A quantidade de reagentes aplicados à placa se manteve em 100µl, exceto para a solução bloqueadora, 200µl.

### 2.4. Critérios de interpretação e análise dos resultados do ELISA

Os soros foram analisados pelo teste ELISA em triplicata obtendo-se a média das DO. Os valores de DO obtidos foram ajustados com referência a uma placa padrão, sendo o fator de correção calculado conforme Passos (1993), citado por Portela (2000), utilizando-se a fórmula seguinte:

$$\text{Fator (F)} = \frac{\text{Po} - \text{No}}{\text{Pt} - \text{Nt}}$$
$$\text{Valor ajustado} = \text{F}(\text{St} - \text{Nt}) + \text{No}$$

Sendo:

Po: média dos controles positivos na placa padrão;

No: média dos controles negativos na placa padrão;

Pt: média dos controles positivos na placa teste;

Nt: média dos controles negativos na placa teste;

St: média da amostra testada.

Na expressão da positividade e negatividade dos resultados pelo teste ELISA, foram considerados o ponto de corte, representado pela D.O. média obtida na análise dos soros-controle negativos, acrescida de dois e três desvios-padrão.

Para cálculo da sensibilidade e especificidade dos testes foi utilizada tabela 2x2 e calculada com o auxílio do software Microsoft Excel 2003, utilizando o seguinte esquema:

ELISA	Exame <i>post-mortem</i>	
	+	-
+	a	b
-	c	d

Onde:

$$\text{Sensibilidade} = a.100/ a + c; \text{Especificidade} = d.100/ b + d$$

As análises das variáveis em relação concordância entre período pós-infecção com critérios estabelecidos para ponto de corte (ponto de corte 1 + 2 ou 3 SD e ponto de corte 2 + 2 ou 3 SD), foram calculadas pelo teste do Qui-quadrado ( $p < 0,05$ ).

### 3. Resultados e discussão

A partir das 201 amostras dos animais naturalmente infectados (grupo 2), 25 se apresentaram positivas ao teste ELISA indireto, as demais ficaram abaixo do valor de absorbância estabelecido como ponto de corte 1 adicionados de 2 desvios-padrão (SD). O ponto de corte foi obtido através da média da densidade óptica dos soros-controle de animais negativos a inspeção de rotina. Nessas condições o valor da sensibilidade do teste quando comparado ao exame *post-mortem* ficou em 12%. Smith et al. (1991) afirmaram que os baixos níveis de anticorpos produzidos em infecções leves muitas vezes dificultam na seleção de um ponto de corte e na interpretação dos achados em testes sorológicos como o ELISA. Vale ressaltar que a utilização de 2 ou 3 SD como critério de ponto de corte é dependente do objetivo dos ensaios, visto que a utilização de 3 SD é mais apropriado para fins de diagnóstico e 2 SD para testes de triagem ou seleção (Pinto et al., 2000).

Já quando estabelecido o ponto de corte 2, a partir da média das densidades ópticas dos soros-controle negativos pertencentes aos animais negativos para a

cisticercose e criados em isolamento adicionados de 2 desvios-padrão, foi possível detectar 49 animais positivos, tendo-se uma sensibilidade de 24,4%. A especificidade do teste ELISA utilizando os pontos de corte 1 e 2 ficou em 100% (Tabela 1).

Tabela 1. Frequência de resultados positivos e negativos para cisticercose ao teste ELISA aplicado em bovinos infectados naturalmente de acordo com os resultados do exame anátomo-patológico realizado após o abate, considerando dois diferentes pontos de corte, utilizando-se de 2 e 3 desvios-padrão.

Elisa	Exame anátomo-patológico									
	2 desvios-padrão				3 desvios-padrão					
	Ponto de corte 1*	+	-	Ponto de corte 2*	+	-	Ponto de corte 1*	Ponto de corte 2*	+	-
+	25	0	49	0	4	0	29	0		
-	176	34	152	34	197	34	172	34		
Total	201	34	201	34	201	34	201	34		

\*Ponto de corte 1 – bovinos abatidos em matadouro-frigorífico e negativos para cisticercose através do exame anátomo-patológico. Ponto de corte 2 – bovinos negativos criados em isolamento.

Novamente quando comparada a utilização dos soros-controle provenientes de animais negativos em matadouros (ponto de corte 1) e de animais negativos mantidos em isolamento (ponto de corte 2), adicionados de 3 desvios-padrão, pôde-se observar que das 201 amostras de animais naturalmente infectadas somente 4 apresentaram-se como positivas para o ponto de corte 1 com 3 desvios-padrão (sensibilidade de 1,99%), e para o ponto de corte 2, foi possível confirmar 29 amostras positivas (sensibilidade 14,4%). De acordo com Pinto et al. (2000) quando o ponto de corte é aumentado para 3SD é previsível a queda da sensibilidade do teste.

Das 93 amostras de soro oriundas de 9 bovinos experimentalmente infectados, representando diferentes estágios da evolução da doença, 52 ficaram acima do ponto de corte 1 adicionados de 2 desvios-padrão, tendo uma sensibilidade de 55,9% quando comparado o exame sorológico ao macroscópico. Contudo ao utilizar o ponto de corte 2, somente 8 amostras ficaram abaixo do valor estabelecido como ponto de corte, apresentando 92,5% de sensibilidade do teste, sendo que a especificidade do teste ficou em 100%.

Quando analisado o ponto de corte 1 adicionados de 3 desvios-padrão foi possível constatar que do total de amostras dos animais experimentalmente infectados, 29 amostras ficaram acima do ponto de corte tendo uma sensibilidade de 31,2%. Já quando

analisado o ponto de corte 2 adicionados de 3 desvios-padrão somente 13 amostras ficaram abaixo do ponto de corte, tendo uma sensibilidade de 86% do teste (Tabela 2).

As taxas de sensibilidade encontradas foram superiores quando utilizado o ponto de corte 2, oriundo de amostras de animais negativos para a cisticercose em condições controladas, corroborando Monteiro et al. (2006). Esse fato possivelmente está ligado à maior ocorrência de reações inespecíficas dos soros de animais negativos à inspeção *post-mortem* (Monteiro, 2004). Estes resultados reforçam a importância da origem do soro controle-negativo, mostrando a sua interferência no desempenho do teste ELISA indireto. Os achados do presente estudo confirmam os resultados de Pinto et al. (2006) que relataram ser de grande importância a seleção de soros-controle na interpretação dos resultados do teste ELISA e no estabelecimento do seu ponto de corte, visando assegurar a sua eficácia no diagnóstico da cisticercose bovina.

Os dados encontrados no presente estudo estão em concordância com os resultados encontrados por Monteiro et al. (2006), que relatam índices de 90% de sensibilidade do teste ELISA para animais experimentalmente infectados e 20% para animais naturalmente infectados, ambos os casos utilizando o soro-controle de animais negativos para cisticercose criados sob condições controladas, utilizando o ponto de corte adicionados de 2 desvios-padrão.

Tabela 2. Frequência de resultados positivos e negativos para cisticercose ao teste ELISA aplicado em bovinos infectados experimentalmente de acordo com os resultados do exame anátomo-patológico realizado após o abate, considerando dois diferentes pontos de corte, utilizando-se de 2 e 3 desvios-padrão.

	Exame anátomo-patológico							
	2 desvios-padrão				3 desvios-padrão			
	Ponto de corte 1*	Ponto de corte 2*	Ponto de corte 1*	Ponto de corte 2*	Ponto de corte 1*	Ponto de corte 2*	Ponto de corte 1*	Ponto de corte 2*
Elisa	+	-	+	-	+	-	+	-
+	52	0	85	0	29	0	80	0
-	41	-	8	-	64	-	13	-
Total	93	-	93	-	93	-	93	-

\*Ponto de corte 1 – bovinos abatidos em matadouro-frigorífico e negativos para cisticercose através do exame anátomo-patológico. Ponto de corte 2 – bovinos negativos criados em isolamento.

O limiar de detecção de cisticercose pelo teste ELISA em relação ao número de cisticercos presentes em animais infectados encontrado no presente trabalho foi de 1 cisticercos situado nos locais de inspeção de rotina para animais naturalmente infectados, lembrando que a detecção de cisticercos desse grupo de animais é realizada em

musculaturas pré-definidas durante inspeção de rotina, não excluindo a presença de cisticercos em outras musculaturas não inspecionadas. O limiar de detecção encontrado em animais experimentalmente infectados foi de 2 cisticercos (Tabela 3), ressaltando-se que durante o abate dos bovinos experimentalmente infectados nenhum animal apresentou somente 1 cisticercos no total das áreas pesquisadas. Kyvsgaard et al. (1991) estabeleceram um limiar de detecção para 22 cisticercos e Hayunga et al. (1991) um limiar de 12 cistos. Já Minozzo et al. (2004) encontrou um limiar de 2 cisticercos em bovinos experimentalmente infectados, condizente com os resultados do presente estudo.

Segundo Gallie & Sewell (1972), não há aparente relação entre a resposta imunológica e número de cisticercos detectados no exame *post-mortem*; em contrapartida as amostras sorológicas coletadas dos animais 31, 36 e 37 no momento do abate, apresentaram-se como negativas ao teste ELISA utilizando o ponto de corte 1, e quando utilizado o ponto de corte 2, as amostras indicaram positividade, nesses animais foi encontrada uma quantidade significativa de cisticercos, sendo em média 37 cisticercos por animal, o que destaca a importância da utilização de soro-controle adequado para a finalidade do teste. Mesmo com esses achados, no presente estudo não foi encontrado correlação direta entre carga parasitária e resposta imunológica, corroborando Minozzo et al. (2004) e Soares et al. (2006). Porém esses resultados divergem dos encontrados por Smith et al. (1991) que relataram que o nível de anticorpos anti-*Taenia saginata* detectados pelo teste ELISA esteve diretamente relacionado ao número de cisticercos recuperados em animais infectados experimentalmente.

Nos dias 30 e 60 pós-infecção, seis dos nove bovinos experimentalmente infectados apresentaram-se como positivos ao teste ELISA (portadores da cisticercose) utilizando o ponto de corte 1 adicionados de 2 SD. Contudo no dia 90 pós-infecção somente 4 animais apresentaram títulos positivos e no dia 120 o número foi reduzido para 2 animais. Os demais períodos analisados foram 150 dias sendo que dos 9 animais, três apresentaram-se como positivos (3/9), 180 dias (6/8), 210 dias (5/7), 240 dias (4/6), 270 dias (3/5), 300 dias (4/4), 330 dias (1/4), 360 dias (1/3), 390 dias (0/2) e 420 dias (0/1) (Tabela 3). Ao comparar individualmente os critérios estabelecidos para o ponto de corte 1 adicionados de 2 desvios-padrão, através do teste de Marascuilo, foi encontrado diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) somente entre os dias 180-330/390/420 e 300-330/390/420 pós-infecção, tratando-se contudo, de casos isolados

que ocorreram provavelmente devido ao baixo número de animais amostrados nesses períodos.

Tabela 3. Número de amostras positivas no teste ELISA dos nove bovinos infectados experimentalmente, de acordo com o período pós-infecção (dias) e critério de ponto de corte.

Período pós-infecção	Ponto de corte 1*		Ponto de corte 2*	
	2 SD	3 SD	2 SD	3 SD
150	05	05	09	07
180	06	05	09	08
210	06	03	09	09
240	04	01	07	07
270	03	03	07	07
330	05	02	07	06
360	06	03	08	08
390	05	02	07	07
420	03	02	05	05
$\chi^2$	17,485	10,579	13,682	11,454
p	0,231	0,719	0,474	0,650

SD= Desvio Padrão. \*Ponto de corte 1 – bovinos abatidos em matadouro-frigorífico e negativos para cisticercose através do exame anátomo-patológico. \*Ponto de corte 2 – bovinos negativos criados em isolamento.  $\chi^2$ = resultado do qui-quadrado, p=valor estatístico do teste.

Utilizando o ponto de corte 1 adicionado de 3 desvios-padrão, no dia 0 pós-infecção foi possível detectar 5 animais positivos do total, seguidos de 30 dias pós-infecção (5/9), 60 dias (3/9), 90 dias (1/9), 120 dias (3/9), 150 dias (2/8), 180 dias (3/8), 210 dias (2/7), 240 dias (2/6), 270 dias (1/5), 300 dias (1/4), 330 dias (0/4), 360 dias (1/3), 390 dias (0/2) e 420 dias pós-infecção (0/1).

Ao utilizar o ponto de corte 2 adicionados de 2 desvios-padrão, a detecção do teste ELISA foi mais elevada que as demais, sendo que no dia 0 pós-infecção os valores de DO ficaram acima do ponto de corte, seguidos de 30 dias pós-infecção (9/9), 60 dias (9/9), 90 dias (7/9), 120 dias (7/9), 150 dias (7/8), 180 dias (8/8), 210 dias (7/7), 240 dias (5/6), 270 dias (5/5), 300 dias (4/4), 330 dias (3/4), 360 dias (2/3), 390 dias (2/2) e 420 dias pós-infecção (1/1).

Contudo, na utilização do ponto de corte 2 adicionados de 3 desvios-padrão foi possível detectar as seguintes amostras: dia 0 pós-infecção (7/9), 30 dias (8/9), 60 dias (9/9), 90 dias (7/9), 120 dias (7/9), 150 dias (6/8), 180 dias (8/8), 210 dias (7/7), 240 dias (5/6), 270 dias (5/5), 300 dias (4/4), 330 dias (3/4), 360 dias (2/3), 390 dias (1/2) e 420 dias pós-infecção (1/1). Entretanto não foi encontrada diferença estatística ( $p > 0,05$ )

pelo teste do qui-quadrado ao comparar os períodos pós-infecção com os resultados de positividade no ELISA.

Somado a esse fato, ao analisar as amostras de sangue coletadas no momento do abate dos nove animais, seis apresentaram valores de densidade óptica abaixo do ponto de corte estabelecido no teste ELISA sugestivo de animais negativos para cisticercose, contudo ao exame *post-mortem* foram recuperados cisticercos de todos os seis animais (Tabela 4). De acordo com Flisser et al. (1979) a ausência de anticorpos não pode descartar a ausência da doença, sendo que a resposta humoral contra a cisticercose pode ser curta ou baixa. Esse fato demonstra que a utilização isolada do teste ELISA para diagnóstico da cisticercose no campo ainda pode apresentar deficiências sendo de grande importância a associação do método sorológico com o macroscópico.

Tabela 4. Resultado do teste ELISA em soros de bovinos infectados experimentalmente por animal, período pós-infecção (dias), número de cisticercos encontrados durante o abate e critério de ponto de corte.

Animal	Período pós- infecção	Cisticercos	Ponto de corte 1*		Ponto de corte 2*	
			2 SD	3 SD	2 SD	3 SD
39	150	05	N	N	P	P
38	180	32	P	N	P	P
33	210	53	P	P	P	P
40	240	04	N	N	P	P
32	270	50	P	P	P	P
37	330	48	N	N	P	P
31	360	37	N	N	P	P
36	390	26	N	N	P	P
35	420	02	N	N	P	P

SD= Desvio Padrão. N= Negativo; P= Positivo.

\*Ponto de corte 1 – bovinos abatidos em matadouro-frigorífico e negativos para cisticercose através do exame anátomo-patológico. \*Ponto de corte 2 – bovinos negativos criados em isolamento.

De acordo com Minozzo et al. (2004), o fato dos animais infectados desenvolverem anticorpos, mas no curso da infecção os níveis dos mesmos poderem cair abaixo do ponto de corte, mostra que o teste poderia não detectar alguns animais em fase crônica da doença. Contudo, ao se fazer associação do teste macroscópico de rotina e o exame sorológico, a probabilidade de detecção da doença é maior.

O esquema de padronização do teste ELISA pode variar de acordo com o interesse de sua aplicação, como por exemplo, com finalidades de levantamento epidemiológico da cisticercose, e liberação da carne de animais abatidos para o consumo direto ou por

meio de aproveitamento condicional. Nesses casos, é interessante priorizar as maiores taxas de sensibilidade ou de sensibilidade+especificidade do teste, respectivamente. Neste aspecto, a padronização laboratorial deverá considerar certo desempenho do teste ELISA que contemple um equilíbrio desejado entre sensibilidade e especificidade (Pinto et al., 2006).

Atualmente através de pesquisas emprega-se a utilização associada do exame anátomo-patológico realizado em matadouros-frigoríficos com a utilização de testes sorológicos como o ELISA, sendo importante não somente para diagnóstico da doença, mas podendo servir como uma ferramenta epidemiológica fornecendo dados da prevalência, conhecimento das áreas de risco e acompanhamento da sanidade do rebanho abatido provenientes de áreas endêmicas.

#### 4. Conclusões

1. A utilização dos pontos de corte obtidos a partir das densidades ópticas dos soros de animais negativos em isolamento aumenta a sensibilidade do teste ELISA;

2. A sensibilidade do teste ELISA para animais naturalmente infectados utilizando ponto de corte 1 e ponto de corte 2 adicionados de 2 desvios-padrão ficou em 12% e 24,4%, respectivamente e utilizando o ponto de corte 1 e 2 com 3 desvios-padrão a sensibilidade ficou em 1,99% e 14,4%;

3. O valor da sensibilidade do teste ELISA encontrada para animais experimentalmente infectados, utilizando ponto de corte 1 e 2 adicionados de 2 desvios-padrão foi de 55,9% e 92,5%, respectivamente e utilizando ponto de corte 1 e 2 adicionados de 3 desvios-padrão foi de 31,2% e 86%.

4. Em todos casos testados a especificidade do teste ELISA ficou em 100%.

## 5. Referências bibliográficas

ALLEPUZ, A.; GABRIEL, S.; DORNY, P.; NAPP, S.; JANSEN, F.; VILAR, M.J.; VIVES, L.; PICART, L.; ORTUNO, A.; GUTIÉRREZ, J.; CASAL, J. Comparison of bovine cysticercosis prevalence detected by antigen ELISA and visual inspection in the North East of Spain. **Research in Veterinary Science**, v.92, p.393–395, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Doenças infecciosas e parasitárias**. Guia de bolso, 8. ed, Brasília – DF, 448p, 2010.

GALLIE, G.J.; SEWELL, M.M.H. The survival of *Cysticercus bovis* in resistant calves. **Veterinary Record**, v.91, p.434-440, 1972.

GEERTS, S.; KUMAR, V.; CEULEMANS, F.; MORTELMANS, J. Serodiagnosis of *Taenia saginata* cysticercosis in experimentally and naturally infected cattle by enzyme linked immunosorbent assay. **Research Veterinary Science**, v.30, p. 288-293, 1981.

HAYUNGA, E.G.; WONG, M.M.; SUMNER, M.P.; ISENSTEIN, R.S. Evaluation of a dipstick immunoassay to detect cysticercosis in experimentally infected cattle. **Veterinary Parasitology**, v.38, p.13-22, 1991.

IASBIK, A.F.; PINTO, P.S.A.; BEVILACQUA, P.D; NERO, L.A.; SANTOS, T.O.; FELIPPE, A.G. Prevalência do complexo teníase-cisticercose na zona rural do município de Viçosa, Minas Gerais. **Ciência Rural**, v.40, n.7, p.1664-1667, 2010.

KYVSGAARD, N.C.; ILSØE, B.; HENRIKSEN, S.A.; FELD, N.C.; NANSEN, P. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of *Taenia saginata* cysticercosis in cattle. **Acta Veterinaria Scandinavia**, v.32, p.233-241, 1991.

MINOZZO, J.C.; THOMAZ-SOCCOL, V.; OLORTEGUI, C.C.; SOARES, V.E.; COSTA, A.J. Teste Imunoenzimático (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) para diagnóstico da cisticercose bovina e estudo da cinética de produção de anticorpos contra-*Cysticercus bovis*. **Ciência Rural**, v. 34, n. 3, p. 857-864, 2004.

MONTEIRO, L.L., PINTO, P.S.A., DIAS, F.S. Evaluation of the ELISA test for the antibody detection in cattle naturally and experimentally infected with *Cysticercus bovis*. **Veterinary Parasitology**, v.141, n.3-4, p.260-263, 2006.

OGUNREMI, O.; BENJAMIN, J. Development and field evaluation of a new serological test for *Taenia saginata* cysticercosis. **Veterinary Parasitology**, v.169, p. 93–101, 2010.

PASSOS, L.M.F. **Immunological studies on bovine babesiosis with particular reference to Brazil using “in vitro” culture- derived antigens**, 1993. Tese (PhD) - Center of Tropical Veterinary Medicine, Center of Tropical Veterinary Medicine, Edinburg. 326p.

PFUETZENREITER, M.R.; ÁVILA-PIRES F.D. Epidemiologia da teníase-cisticercose por *Taenia solium* e *Taenia saginata*. **Ciência Rural**, v. 30, n. 3, p. 541-548, 2000.

PINTO, P.S.A., VAZ, A.J., GERMANO, P.M.L., NAKAMURA, P.M. ELISA test for the diagnosis of cysticercosis in pigs using antigens of *Taenia solium* and *Taenia crassiceps* cysticerci. **Revista Instituto Medicina Tropical**, São Paulo, n.42, v.2, p.71-79, 2000.

PINTO, P.S.A.; MONTEIRO, L.L.; MINOZZO, J.C. Influência de diferentes grupos de soros-controle no diagnóstico da cisticercose bovina pelo teste ELISA. **Revista CERES**, v. 53, n.309, p. 574-579, 2006.

PORTELA, R.W.D. **Comparação experimental de três peptídeos sintéticos como imunógenos no controle do carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887)**, 2000. 87f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG.

QUEIROZ, R.P.V.; SANTOS, W.L.M.; BARBOSA, H.V.; SOUZA, R.M.; SANTOS FILHO, A.M.P. A importância do diagnóstico da cisticercose bovina. **Higiene Alimentar**, v.14, n.77, p.12-15, 2000.

SMITH, H.J.; SNOWDON, K.E.; GREGORY, D.; FINLEY, G.G. Assessment of an Enzyme-linked Immunosorbent Assay using a *Taenia hydatigena* fraction antigen in the diagnosis of cysticercosis in cattle. **Journal of Veterinary Research**, v.54, p. 299-300, 1990.

SMITH, H.J.; SNOWDON, K.E.; FINLAY, R.C. Serological diagnosis of cysticercosis by Enzyme-linked Immunosorbent Assay in experimentally infected cattle. **Journal of Veterinary Research**, v.55, p.274-276, 1991.

## CONCLUSÃO GERAL

Diante dos resultados obtidos foi possível constatar que os cisticercos podem estar presentes em qualquer musculatura dos bovinos, não somente nas inspecionadas rotineiramente em matadouros-frigoríficos, sendo importante a associação de testes complementares de diagnóstico.

Os cisticercos se mostraram capazes de criar mecanismos de evasão ao ataque imunológico do hospedeiro mantendo-se viáveis por longos períodos. As imunoglobulinas predominantes na evolução da cisticercose em bovinos foram IgM e IgG quando comparadas a IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub>. Com relação às características morfológicas encontradas foi possível constatar no centro da lesão de cisticercos viáveis, células envolvidas nos processos inflamatórios com rico infiltrado celular e grande presença de eosinófilos, neutrófilos e linfócitos. E os cisticercos inviáveis se apresentaram centro necrótico na lesão, rico em corpúsculos calcáreos e detritos celulares. Também foi verificado um grande infiltrado celular na periferia da lesão composto de histiócitos em paliçada, células gigantes multinucleadas e basófilos. O cisticerco possui uma cápsula de proteção com três camadas, a mais externa ao cisticerco é rica em tecidos de reparação.

Com relação ao desempenho do teste ELISA foi possível verificar que a sensibilidade do teste ao utilizar soros-controle de animais negativos para a cisticercose e criados em isolamento tende a aumentar quando comparado a utilização de soro-controle de animais negativos para a cisticercose durante inspeção de rotina.

Através da associação dos achados do presente estudo é possível compreender melhor os parâmetros celulares e humorais relativos ao desenvolvimento da cisticercose em bovinos infectados natural e experimentalmente, aplicando os conhecimentos adquiridos para padronização do teste ELISA como subsídio ao diagnóstico da cisticercose bovina.

# **ANEXOS**

## Anexo capítulo 1

Tabela 1. Relação dos cisticercos recuperados dos nove bovinos experimentalmente infectados de acordo com o período pós-infecção, região anatômica e viabilidade.

Anim.	Pós-infecção	Rotineiramente inspecionados										Não rotineiros										
		Mastig.		Língua		Coração		Diafragma		Esôfago		Fígado		C. Filé		Alcatra		Acém		Paleta		
		V	I	V	I	V	I	V	I	V	I	V	I	V	I	V	I	V	I	V	I	
39	150	-	01	-	01	-	01	-	-	-	-	-	01	-	01	-	-	-	-	-	-	-
38	180	01	06	01	-	03	06	-	-	02	01	-	-	03	01	04	-	02	-	01	01	
33	210	08	11	-	01	04	08	-	-	-	-	-	01	-	06	-	-	04	10	-	-	
40	240	01	02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	01	
32	270	-	08	-	01	03	06	-	02	-	-	-	17	-	03	-	02	-	01	01	06	
37	330	-	-	2	-	12	01	05	-	-	-	09	-	02	-	08	-	04	-	05	-	
31	360	-	-	-	-	01	35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	01	-	-	-	-	
36	390	-	06	-	-	-	15	-	-	-	-	-	03	-	-	-	-	-	-	-	02	
35	420	-	-	-	-	-	02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Total		10	34	03	03	23	74	05	02	02	01	09	22	05	11	12	03	10	11	07	10	

Anim.= Animal; Mastig.= Músculos mastigatórios; C.Filé= Contra-filé; V= Viáveis; I= Inviáveis

## Anexo capítulo 2

### 1. Protocolo do ELISA indireto (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay)

As placas de poliestireno foram sensibilizadas com os antígenos diluídos em solução tamponada carbonato-bicarbonato 0,5M pH 9,6 estocadas a 37 °C durante 1 hora. Após três lavagens, de cinco minutos cada uma, em solução salina contendo 0,05% de tween-20, foi realizado o bloqueio dos sítios reativos (leite desnatado a 5% em PBS pH 7,4), durante 1 hora a 37°C. Novas lavagens foram realizadas e as amostras foram diluídas em leite desnatado a 1% em PBS pH 7,4 e a placa incubada por 30 minutos a 37°C. Após lavagens, foi adicionado o conjugado de acordo com a finalidade proposta sendo eles: IgM (A10-100P, Bethyl, Montgomery, TX, USA) (1:2.500), IgG total (A5295, Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) (1:5.000), IgG<sub>1</sub> (AAI21P, AbD Serotec, Kidlington, Oxford, UK) (1:2.500) e IgG<sub>2</sub> (AAI22P, AbD Serotec, Kidlington, Oxford, UK) (1:2.500), e repetidos os procedimentos de incubação e lavagem. A reação foi revelada com solução de dihidrocloro de o-fenilendiamina (OPD) P8287 (Sigma Chemical Co.; St Louis, MO, USA) a 0,1% e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,003% em tampão citrato-fosfato 0,2M pH 5,0, durante um período de incubação de 10 minutos. A reação foi bloqueada com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4N. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro com comprimento de onda a 492nm. A quantidade de reagentes aplicados à placa se manteve em 100µl, exceto para a solução bloqueadora, 200µl.

### 2. Soluções para o teste ELISA

#### 2.1. Tampão Carbonato- Bicarbonato pH 9,6 (0,05M)

Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0,318g
NaHCO <sub>3</sub>	0,586g
H <sub>2</sub> O destilada q.s.p.	200 mL

Acertar o pH para 9,6. Armazenar em geladeira.

#### 2.2. Solução Salina (0,15M)

NaCl	8,5g
H <sub>2</sub> O destilada q.s.p.	1000 mL

### 2.3. PBS pH 7,4 (0,02M)

NaCl	8,0g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,20g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,15g
KCl	0,20g

Dissolver os sais em, mais ou menos, 800 mL de água destilada. Acertar o pH para 7,4 e completar o volume para 1000 mL. Armazenar em geladeira.

### 2.4. Tampão citrato-fosfato pH 5,0 (0,2M)

Ácido Cítrico	2,10g	+/- 400 mL	H <sub>2</sub> O
destilada			
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·12H <sub>2</sub> O	35,6 g	+/- 400 mL	H <sub>2</sub> O
destilada			

Misturar as soluções e acertar o pH para 5,0. Completar o volume para 1000 mL. Armazenar em geladeira.

### 2.5. Solução de bloqueio da reação

H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	53,26 mL
H <sub>2</sub> O destilada	446,74 mL

Guardar à temperatura ambiente.

## 3. Reagentes do teste ELISA

### 3.1. Solução de incubação do antígeno

Solução tamponada carbonato-bicarbonato pH 9,6

### 3.2. Solução de bloqueio da placa

Leite desnatado	5,0 g
PBS pH 7,4	100 mL

### 3.3. Solução de diluições de amostras e conjugado

Leite desnatado 5% em PBS	20 mL
PBS pH 7,4 q.s.p.	100 mL

### 3.4. Solução de lavagem de placa

Solução salina 0,15 M 1000 mL

Tween 20 0,5 mL

Armazenar em geladeira.

### 3.5. Solução Substrato para enzima peroxidase

Tampão citrato-fosfato pH 5,0 10 mL

Orto-phenylenediamine (OPD) 0,010g

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 30 % 0,010 mL

## 4. Preparo do material para microscopia de luz

### 4.1. Solução Resina

Deve preparar a solução estoque de resina - 50 ml de resina + ativador de resina:

Agitar por 5 minutos em Becker.

Separar essa solução em frasco identificado com a data.

### 4.2. Solução Resina/álcool

15 ml solução estoque de resina e adicionar 15 ml álcool 100%.

Separar essa solução e guardar em frasco Resina/álcool.

### 4.3. Resina de infiltração

Colocar 15 ml de resina estoque em frasco para infiltração.

Feito as soluções conforme descrito acima, iniciar o emblocamento da seguinte forma:

Fragmentos fixados em fixador (12 a 24 horas);

Fragmentos em álcool 70% até o dia do emblocamento;

### 4.4. Início do emblocamento:

Retirar os fragmentos do álcool 70% e transferir para álcool 95% por 4 horas;

Após 4 horas em álcool, colocar solução de álcool/resina por 12 horas;

Passado o período de 12 horas em álcool/resina, colocar em resina de infiltração no mínimo por 24 horas;

#### 4.5. Emblocamento final:

Após as 24 horas dos fragmentos em resina de infiltração deve-se preparar a resina plástica;

##### 4.5.1. Resina plástica

Resina pura - 15 ml + 1 ml de endurecedor;

Agitar a solução em banho de gelo para retardar o tempo de endurecimento da resina;

Colocar os fragmentos no molde e completar com a resina plástica;

Após alguns minutos, levar a estufa 60°C por 24 horas;

Retirar da estufa e colar em bloquinhos de madeira para posterior corte no micrótomo.

#### 5. Coloração das lâminas:

##### 5.1. Hematoxilina e Eosina (HE)

Hematoxilina férrica	5'
Lavagem em H <sub>2</sub> O corrente	1'
Eosina aquosa	1'
Lavagem em H <sub>2</sub> O corrente	15''

##### 5.2. Masson

Hematoxilina férrica	10'
Lavagem em H <sub>2</sub> O corrente	1'
Ponceau fucsina	5'
Lavagem em H <sub>2</sub> O corrente	1'
Ácido fosfomolibdico 1%	30''
Fast green	1'

##### 5.3. Von Kossa (adaptado)

Hidratação do corte em H <sub>2</sub> O corrente	
Solução de Nitrato de Prata 5%	30' sob a luz
Lavagem em H <sub>2</sub> O corrente	1'
Imersão em Tiosulfato de Sódio 5% para lavagem	

Hematoxilina	20' a 38°C
Lavagem em H <sub>2</sub> O corrente	1'
Ponceau	30''
Lavagem em H <sub>2</sub> O corrente	1'
Fast green	5'

Tabela 1. Evolução da resposta imunológica por determinação de imunoglobulinas da classe IgM de bovinos experimentalmente infectados, de acordo com o período pós-infecção (dias).

Animal	Período pós-infecção														
	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360	390	420
31	0,203	0,218	0,197	0,208	0,193	0,175	0,215	0,196	0,212	0,210	0,210	0,215	0,188		-
32	0,210	0,290	0,197	0,187	0,190	0,202	0,170	0,138	0,164	0,180		-	-	-	-
33	0,144	0,342	0,177	0,135	0,126	0,122	0,101	0,135	-	-	-	-	-	-	-
35	0,207	0,203	0,186	0,191	0,177	0,174	0,183	0,183	0,207	0,159	0,152	0,182	0,159	0,164	0,165
36	0,159	0,190	0,166	0,148	0,189	0,155	0,139	0,151	0,150	0,161	0,165	0,141	0,304	0,158	-
37	0,345	0,123	0,093	0,069	0,064	0,079	0,083	0,087	0,073	0,081	0,188	0,107		-	-
38	0,085	0,210	0,007	0,004	0,004	0,085	0,119	-	-	-	-	-	-	-	-
39	0,081	0,204	0,006	0,010	0,010	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	0,230	0,085	0,0045	0,0005	0,001	0,072	0,319	0,065	0,053	-	-	-	-	-	-

Tabela 2. Evolução da resposta imunológica por determinação de imunoglobulinas da classe IgG (total) de bovinos experimentalmente infectados, de acordo com o período pós-infecção (dias).

Animal	Período pós-infecção (dias)														
	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360	390	420
31	0,112	0,207	0,210	0,157	0,136	0,134	0,131	0,130	0,151	0,139	0,150	0,149	0,114	-	-
32	0,152	0,272	0,205	0,188	0,158	0,181	0,197	0,176	0,193	0,192	-	-	-	-	-
33	0,099	0,275	0,165	0,120	0,139	0,218	0,195	0,193	-	-	-	-	-	-	-
35	0,111	0,137	0,132	0,157	0,134	0,142	0,140	0,152	0,158	0,157	0,162	0,135	0,108	0,115	0,139
36	0,128	0,136	0,151	0,166	0,188	0,144	0,144	0,141	0,140	0,133	0,147	0,136	0,258	0,135	-
37	0,256	0,154	0,167	0,132	0,116	0,150	0,147	0,165	0,183	0,205	0,156	0,108	-	-	-
38	0,122	0,248	0,120	0,116	0,128	0,123	0,156	-	-	-	-	-	-	-	-
39	0,118	0,242	0,189	0,142	0,116	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	0,262	0,122	0,129	0,105	0,106	0,110	0,356	0,103	0,092	-	-	-	-	-	-

Ponto de corte adicionados de 2 desvios padrão = 0,141

Ponto de corte adicionados de 3 desvios padrão = 0,162

Tabela 3. Evolução da resposta imunológica por determinação de imunoglobulinas da classe IgG subclasse 1 (IgG<sub>1</sub>) de bovinos experimentalmente infectados, de acordo com o período pós-infecção (dias).

Animal	Período pós-infecção (dias)														
	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360	390	420
31	0,007	0,035	0,046	0,021	0,015	0,012	0,007	0,016	0,025	0,020	0,029	0,023	0,012		-
32	0,011	0,019	0,027	0,034	0,023	0,026	0,038	0,036	0,042	0,044	-	-	-	-	-
33	0,012	0,012	0,014	0,011	0,014	0,038	0,027	0,031	-	-	-	-	-	-	-
35	0,002	0,013	0,004	0,013	0,007	0,007	0,007	0,014	0,020	0,013	0,010	0,012	0,005	0,011	0,010
36	0,005	0,007	0,016	0,011	0,013	0,013	0,017	0,007	0,007	0,012	0,010	0,007	0,006	0,010	-
37	0,006	0,016	0,031	0,015	0,017	0,020	0,025	0,045	0,038	0,041	0,025	0,006	-	-	-
38	0,021	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-	-	-	-	-	-	-	-
39	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-	-	-	-	-	-

Tabela 4. Evolução da resposta imunológica por determinação de imunoglobulinas da classe IgG subclasse 2 (IgG<sub>2</sub>) de bovinos experimentalmente infectados, de acordo com o período pós-infecção (dias).

Animal	Período pós-infecção (dias)														
	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360	390	420
31	0,000	0,001	0,007	0,000	0,000	0,004	0,000	0,000	0,016	0,000	0,001	0,000	0,000	-	-
32	0,002	0,007	0,016	0,004	0,000	0,003	0,003	0,012	0,000	0,003	0,000	0,003	-	-	-
33	0,000	0,000	0,000	0,003	0,000	0,000	0,005	0,002	-	-	-	-	-	-	-
35	0,004	0,009	0,024	0,000	0,005	0,000	0,001	0,016	0,000	0,000	0,000	0,003	0,000	0,002	0,005
36	0,003	0,005	0,011	0,007	0,012	0,005	0,001	0,007	0,010	0,006	0,002	0,002	0,004	0,003	-
37	0,004	0,009	0,010	0,000	0,004	0,001	0,004	0,004	0,002	0,020	0,005	0,006	-	-	-
38	0,003	0,014	0,006	0,007	0,007	0,002	0,006	-	-	-	-	-	-	-	-
39	0,000	0,003	0,006	0,010	0,003	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	0,006	0,007	0,005	0,005	0,004	0,029	0,012	0,005	0,002	-	-	-	-	-	-

### Anexo capítulo 3

Tabela 1. Resultados do teste ELISA (DO) nas amostras de soro de bovinos naturalmente infectados, de acordo com a procedência da amostra, quantidade de cisticercos recuperados e sua viabilidade, utilizando diferentes pontos de corte adicionados de 2 ou 3 desvios-padrão.

Amostra	Procedência da amostra	Cisticercos	Região anatômica	Viabilidade	Ponto de corte 1 + 2SD	Ponto de corte 1 + 3 SD	Ponto de corte 2 + 2 SD	Ponto de corte 2 + 3 SD	DO
01	3 - ES	01	C	I	P	N	P	P	0,096
02	5 - ES	01	C	I	P	N	P	P	0,095
03	6 - ES	01	M	I	P	N	P	P	0,101
04	7 - ES	03	C, F	V	P	N	P	P	0,103
05	9 - ES	01	C	I	N	N	N	N	0,074
06	11 - ES	01	C	I	P	N	P	P	0,095
07	13 - ES	05	C, M, L	V	N	N	N	N	0,079
08	15 - ES	01	M	V	N	N	N	N	0,065
09	17 - ES	01	C	V	N	N	N	N	0,076
10	19 - ES	01	C	I	N	N	N	N	0,076
11	21 - ES	01	M	V	N	N	N	N	0,053
12	23 - ES	01	C	V	N	N	N	N	0,040
13	25 - ES	01	M	V	N	N	N	N	0,042
14	27 - ES	01	M	V	N	N	P	N	0,082
15	29 - ES	01	M	I	N	N	N	N	0,046
16	31 - ES	01	M	V	N	N	N	N	0,074
17	33 - ES	01	C	V	N	N	N	N	0,055
18	35 - ES	01	M	V	N	N	N	N	0,048
19	37 - ES	01	C	I	N	N	N	P	0,082
20	39 - ES	01	M	I	N	N	N	N	0,055
21	41 - ES	01	C	I	N	N	N	N	0,055
22	43 - ES	02	C, F	I	N	N	N	N	0,050
23	45 - ES	01	C	V	N	N	N	N	0,052
24	47 - ES	01	F	I	P	P	P	P	0,151
25	51 - ES	01	C	I	N	N	N	N	0,079

*Continuação*

Amostra	Procedência da amostra	Cisticerco	Região anatômica	Viabilidade	Ponto de corte 1 + 2SD	Ponto de corte 1 + 3 SD	Ponto de corte 2 + 2 SD	Ponto de corte 2 + 3 SD	DO
26	55 – ES	01	C	V	N	N	N	N	0,062
27	57 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,076
28	59 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,069
29	61 – ES	01	F	I	N	N	N	N	0,066
30	63 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,064
31	65 – ES	01	F	I	N	N	N	N	0,066
32	67 – ES	01	C	I	N	N	N	P	0,083
33	69 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,059
34	71 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,060
35	73 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,076
36	75 – ES	01	C	V	P	N	N	N	0,106
37	77 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,070
38	79 – ES	01	M	V	N	N	N	P	0,081
39	81 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,079
40	83 – ES	01	M	I	N	N	P	P	0,089
41	85 – ES	01	C	V	N	N	N	N	0,070
42	87 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,063
43	89 – ES	01	C	C	N	N	N	N	0,069
44	91 – ES	01	C	C	N	N	N	P	0,081
45	93 – ES	01	C	V	N	N	N	N	0,055
46	95 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,077
47	97 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,059
48	99 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,062
49	101 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,059
50	103 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,060
51	105 – ES	03	C, L	V	N	N	N	N	0,059
52	107 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,071
53	109 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,077

*Continuação*

Amostra	Procedência da amostra	Cisticerco	Região anatômica	Viabilidade	Ponto de corte 1 + 2SD	Ponto de corte 1 + 3 SD	Ponto de corte 2 + 2 SD	Ponto de corte 2 + 3 SD	DO
54	111 – ES	01	C	I	P	N	P	P	0,106
55	113 – ES	01	C	I	P	N	P	P	0,092
56	115 – ES	01	C	I	P	N	P	P	0,099
58	119 – ES	01	M	V	N	N	P	P	0,086
59	121 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,058
60	123 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,062
61	125 – ES	01	C	V	P	N	P	P	0,092
62	127 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,076
63	129 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,060
64	131 – ES	02	C, F	V	N	N	N	N	0,063
65	133 – ES	01	C	V	N	N	N	N	0,062
66	135 – ES	01	C	V	N	N	P	P	0,083
67	137 – ES	01	C	I	N	N	P	P	0,083
68	139 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,068
69	141 – ES	01	C	V	N	N	N	N	0,061
70	143 – ES	01	C	V	N	N	N	N	0,066
71	145 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,063
72	147 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,066
73	149 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,061
74	151 – ES	01	C	V	N	N	N	N	0,068
75	153 – ES	02	C, M	I	N	N	N	N	0,070
76	155 – ES	01	C	V	N	N	N	N	0,057
77	157 – ES	01	C	I	N	N	P	N	0,080
78	159 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,062
79	161 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,058
80	163 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,060
81	165 – ES	01	C	V	N	N	N	N	0,066
82	167 – ES	01	M	I	N	N	N	N	0,070

*Continuação*

Amostra	Procedência da amostra	Cisticerco	Região anatômica	Viabilidade	Ponto de corte 1 + 2SD	Ponto de corte 1 + 3 SD	Ponto de corte 2 + 2 SD	Ponto de corte 2 + 3 SD	DO
83	169 – ES	01	C	I	P	N	P	P	0,105
84	171 – ES	01	C	I	N	N	P	N	0,080
85	173 – ES	01	C	I	N	N	P	N	0,082
86	175 – ES	01	M	V	P	N	P	P	0,098
87	181 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,069
88	183 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,053
89	185 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,058
90	187 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,058
91	189 – ES	01	C	V	N	N	N	N	0,063
92	191 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,054
93	193 – ES	01	L	I	P	N	P	P	0,090
94	195 – ES	01	M	I	N	N	P	P	0,087
95	199 – ES	01	F	I	N	N	N	N	0,073
96	201 – ES	01	F	I	P	N	P	P	0,094
97	203 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,058
98	205 – ES	01	M	I	N	N	N	N	0,051
99	207 – ES	01	C	V	N	N	N	N	0,074
100	215 – ES	01	M	V	N	N	P	P	0,089
101	217 – ES	01	C	V	N	N	P	N	0,085
102	219 – ES	01	C	V	N	N	N	N	0,062
103	221 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,079
104	223 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,071
105	225 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,070
106	227 – ES	01	F	I	N	N	N	N	0,062
107	229 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,071
108	231 – ES	01	M	I	N	N	N	N	0,056
109	233 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,063
110	235 – ES	01	F	I	N	N	N	N	0,068

*Continuação*

Amostra	Procedência da amostra	Cisticerco	Região anatômica	Viabilidade	Ponto de corte 1 + 2SD	Ponto de corte 1 + 3 SD	Ponto de corte 2 + 2 SD	Ponto de corte 2 + 3 SD	DO
111	237 – ES	01	M	I	P	N	P	P	0,095
112	239 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,064
113	241 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,061
114	243 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,061
115	245 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,070
116	247 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,061
117	249 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,068
118	251 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,070
119	253 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,062
120	255 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,066
121	257 – ES	01	M	I	P	N	P	P	0,096
122	259 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,079
123	261 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,074
124	263 – ES	01	M	V	P	N	P	P	0,092
125	265 – ES	01	C	I	P	N	P	P	0,091
126	267 – ES	01	C	I	N	N	P	N	0,082
127	271 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,061
128	273 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,055
129	275 – ES	01	C	V	N	N	N	N	0,054
130	279 – ES	01	C	V	N	N	N	N	0,064
131	281 – ES	01	C	V	N	N	N	N	0,064
132	283 – ES	01	M	I	N	N	N	N	0,058
133	285 – ES	01	M	V	P	N	P	P	0,093
134	287 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,070
135	289 – ES	01	F	I	N	N	N	N	0,065
136	291 – ES	01	F	I	N	N	N	N	0,067
137	293 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,043
138	295 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,044

*Continuação*

Amostra	Procedência da amostra	Cisticerco	Região anatômica	Viabilidade	Ponto de corte 1 + 2SD	Ponto de corte 1 + 3 SD	Ponto de corte 2 + 2 SD	Ponto de corte 2 + 3 SD	DO
139	297 – ES	01	C	I	N	N	P	N	0,087
140	298 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,053
141	299 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,046
142	300 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,043
143	302 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,056
144	303 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,056
145	304 – ES	01	M	I	N	N	N	N	0,045
146	307 – ES	01	M	I	P	P	P	P	0,113
147	308 – ES	01	-	I	N	N	N	N	0,062
148	309 – ES	01	F	I	N	N	N	N	0,052
149	211 – ES	01	C	V	P	N	P	P	0,098
150	213 - ES	02	C	V	P	P	P	P	0,115
151	197 – ES	01	C	I	N	N	P	N	0,083
152	277 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,075
153	328 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,066
154	329 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,074
155	330 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,058
156	331 – ES	01	-	I	N	N	N	N	0,057
157	332 – ES	01	-	V	N	N	N	N	0,076
158	343 – ES	01	M	V	N	N	N	N	0,060
159	344 – ES	01	C	V	N	N	N	N	0,059
160	345 – ES	-	-	-	N	N	P	N	0,082
161	346 – ES	-	-	-	N	N	N	N	0,058
162	347 – ES	-	-	-	N	N	N	N	0,069
163	179 – ES	02	M, F	I	N	N	N	N	0,072
164	269 – ES	01	C	I	N	N	N	N	0,057
165	301 – ES	01	F	I	N	N	N	N	0,067
166	344 – ES	01	C	V	N	N	P	P	0,089

Continuação

Amostra	Procedência da amostra	Cisticercos	Região anatômica	Viabilidade	Ponto de corte 1 + 2SD	Ponto de corte 1 + 3 SD	Ponto de corte 2 + 2 SD	Ponto de corte 2 + 3 SD	DO
167	1 - BH	05	C, M	V	N	N	N	N	0,067
168	2 - BH	02	M, L	V	N	N	N	N	0,068
169	3 - BH	10	F, L, CC	V	N	N	N	N	0,077
170	4 - BH	13	C, M, L	V	N	N	N	N	0,076
171	5 - BH	03	C, M	V	N	N	N	N	0,066
172	6 - BH	02	C, M	V	N	N	N	N	0,078
173	7 - BH	03	C, M	I	N	N	N	N	0,070
174	8 - BH	03	C, M	I	N	N	P	N	0,083
175	9 - BH	G	-	-	P	N	P	P	0,107
176	10 - BH	03	M, CC	V(01), I(02)	P	P	P	P	0,120
177	11 - BH	02	M, C	V(01), I(01)	N	N	N	N	0,067
178	12 - BH	03	C, M	V	N	N	N	N	0,059
179	13 - BH	02	M, CC	V	N	N	N	N	0,060
180	14 - BH	02	C, M	V	N	N	P	N	0,084
181	15 - BH	02	C, M	V	N	N	N	N	0,073
182	16 - BH	02	C, M	V	N	N	N	N	0,071
183	17 - BH	02	C	V	N	N	N	N	0,069
184	18 - BH	G	-	-	N	N	N	N	0,076
185	19 - BH	02	M, D	V	N	N	N	N	0,079
186	20 - BH	02	M	V	N	N	N	N	0,075
187	21 - BH	02	M	V	P	N	P	P	0,107
188	22 - BH	02	C, F	I	N	N	N	N	0,074
189	23 - BH	04	M, L, F, CC	V	N	N	N	N	0,055
190	24 - BH	02	M, E	-	N	N	N	N	0,049
191	25 - BH	02	C, M	V	N	N	P	P	0,089
192	26 - BH	03	C, M, CC	V	N	N	N	N	0,074
193	27 - BH	G	-	-	N	N	P	N	0,084
194	28 - BH	02	C	I	N	N	N	N	0,043

*Continuação*

Amostra	Procedência da amostra	Cisticercos	Região anatômica	Viabilidade	Ponto de corte 1 + 2SD	Ponto de corte 1 + 3 SD	Ponto de corte 2 + 2 SD	Ponto de corte 2 + 3 SD	DO
195	29 – BH	02	C, F	I	N	N	N	N	0,076
196	30 – BH	02	M, F	V	N	N	N	N	0,070
197	31 – BH	02	C, F	I	N	N	N	N	0,063
198	32 – BH	02	C	V	N	N	N	N	0,060
199	1 – M	01	C	I	N	N	N	N	0,060
200	2 – M	01	C	I	N	N	N	N	0,060
201	3 – M	01	C	I	N	N	N	N	0,067

\*ES – Espírito Santo. BH- Belo Horizonte- MG. M- Muriaé- MG.

C= Coração; CC=Carça; D= Diafragma; F= Fígado; G= Cisticercose generalizada; L=Língua; M= Mastigatórios; V= Cisticercos viáveis; I= Cisticercos inviáveis; P= Positivo no teste ELISA; N= Negativo no teste ELISA.

Ponto de corte 1= amostras de animais negativos para cisticercose no exame post-mortem; Ponto de corte 2= amostras de animais negativos para cisticercose e criados em isolamento. Ponto de corte com 2 desvios padrão = 0,090; Ponto de corte com 3 desvios padrão = 0,107.

Tabela 2. Resultados do teste ELISA (DO) nas amostras de soro de bovinos experimentalmente infectados, de acordo com a procedência da amostra, quantidade de cisticercos recuperados e sua viabilidade, utilizando diferentes pontos de corte adicionados de 2 ou 3 desvios-padrão.

Amostra	Procedência da amostra	Cisticercos	Região anatômica	Viabilidade	Ponto de corte 1 + 2SD	Ponto de corte 1 + 3 SD	Ponto de corte 2 + 2 SD	Ponto de corte 2 + 3 SD	DO
01	31A				P	P	P	P	0,112
02	31B				P	P	P	P	0,207
03	31C				P	N	P	P	0,210
04	31D				N	N	P	P	0,157
05	31E				N	N	P	P	0,136
06	31F				N	N	P	P	0,134
07	31G				N	N	P	P	0,131
08	31J				P	N	P	P	0,130
09	31K				N	N	P	P	0,151
10	31L				P	N	P	P	0,139
11	31M				P	N	P	P	0,150
12	31N				N	N	P	P	0,149
13	31O	37	C, AL	V(01), I(36)	P	N	P	P	0,114
14	32A				P	P	P	P	0,152
15	32B				P	P	P	P	0,272
16	32C				P	P	P	P	0,205
17	32D				P	N	P	P	0,188
18	32E				P	P	P	P	0,158
19	32F				P	P	P	P	0,181
20	32G				P	P	P	P	0,197
21	32J				P	P	P	P	0,176
22	32K				P	P	P	P	0,193
23	32L	50	M, L, C, D, F, CF, AL, AC, P		N	N	P	P	0,192
24	33A				P	P	P	P	0,099

*Continuação*

Amostra	Procedência da amostra	Cisticerco	Região anatômica	Viabilidade	Ponto de corte 1 + 2SD	Ponto de corte 1 + 3 SD	Ponto de corte 2 + 2 SD	Ponto de corte 2 + 3 SD	DO
25	33B				P	P	P	P	0,275
26	33C				N	N	P	P	0,165
27	33D				N	N	P	P	0,120
28	33E				P	P	P	P	0,218
29	33F				P	P	P	P	0,195
30	33G				P	P	P	P	0,193
31	33J	53	M, L, C, F, CF, AC	V(37), I(16)	N	N	P	P	0,139
32	35A				N	N	P	P	0,111
33	35B				N	N	P	P	0,137
34	35C				N	N	P	P	0,132
35	35D				P	N	P	P	0,157
36	35E				N	N	P	P	0,134
37	35F				P	N	P	P	0,142
38	35G				N	N	P	P	0,140
39	35J				P	N	P	P	0,152
40	35K				P	N	P	P	0,158
41	35L				P	N	P	P	0,157
42	35M				P	P	P	P	0,162
43	35N				N	N	P	P	0,135
44	35O				N	N	n	n	0,108
45	35P				N	N	P	n	0,115
46	35Q	02	C	I	N	N	P	P	0,139
47	36A				N	N	P	P	0,128
48	36B				N	N	P	P	0,136
49	36C				P	N	P	P	0,151
50	36D				P	P	P	P	0,166
51	36E				P	P	P	P	0,188

Continuação

Amostra	Procedência da amostra	Cisticercos	Região anatômica	Viabilidade	Ponto de corte 1 + 2SD	Ponto de corte 1 + 3 SD	Ponto de corte 2 + 2 SD	Ponto de corte 2 + 3 SD	DO
52	36F				P	N	P	P	0,144
53	36G				P	N	P	P	0,144
54	36J				P	N	P	P	0,141
55	36K				N	N	P	P	0,140
56	36L				N	N	P	P	0,133
57	36M				P	N	P	P	0,147
58	36N				N	N	P	P	0,136
59	36O				P	P	P	P	0,258
60	36P	26	M, C, F, P	I	N	N	P	P	0,135
61	37A				P	P	P	P	0,256
62	37B				P	N	P	P	0,154
63	37C				P	P	P	P	0,167
64	37D				N	N	P	P	0,132
65	37E				N	N	P	P	0,116
66	37F				P	N	P	P	0,150
67	37G				P	N	P	P	0,147
68	37J				P	P	P	P	0,165
69	37K				P	P	P	P	0,183
70	37L				P	P	P	P	0,205
71	37M				P	N	P	P	0,156
72	37N	48	L, C, D, F, CF, AL, AC, P	V(47), I(01)	N	N	N	N	0,108
73	38A				N	N	P	N	0,122
74	38B				P	P	P	P	0,248
75	38C				N	N	P	P	0,120
76	38D				N	N	N	N	0,116
77	38E				N	N	P	P	0,128

Continuação

Amostra	Procedência da amostra	Cisticercos	Região anatômica	Viabilidade	Ponto de corte 1 + 2SD	Ponto de corte 1 + 3 SD	Ponto de corte 2 + 2 SD	Ponto de corte 2 + 3 SD	DO
78	38F				N	N	P	N	0,123
79		32	M, L, C, E, CF, AL, AC, P	V(17), I(15)					
	38G				P	N	P	P	0,156
80	39A				N	N	P	N	0,118
81	39B				P	P	P	P	0,242
82	39C				P	P	P	P	0,189
83	39D				P	N	P	P	0,142
84		05	M, L, C, F, CF	I					
	39E				N	N	N	N	0,116
85	40A				P	P	P	P	0,262
86	40B				N	N	P	N	0,122
87	40C				P	N	P	P	0,129
88	40D				N	N	N	N	0,105
89	40E				N	N	N	N	0,106
90	40F				N	N	N	N	0,110
91	40G				P	P	P	P	0,356
92	40J				N	N	P	P	0,103
93	40K	04	M, P	V(01), I(03)	N	N	N	N	0,092

AC= Acém; AL= Alcatra; CF= Contra-filé; C= Coração; D= Diafragma; F= Fígado; L=Língua; M= Mastigatórios; V= Cisticercos viáveis; I= Cisticercos inviáveis; P= Positivo no teste ELISA; N= Negativo no teste ELISA.

Ponto de corte 1= amostras de animais negativos para cisticercose no exame *post-mortem*; Ponto de corte 2= amostras de animais negativos para cisticercose e criados em isolamento. Ponto de corte com 1 + 2 desvios padrão = 0,141; Ponto de corte 1 + 3 desvios-padrão= 0,162; Ponto de corte 2 + 2 desvios-padrão = 0,080; Ponto de corte 2 + 3 desvios-padrão = 0,088.