

**IDENTIFICAÇÃO DE *Sarcocystis lindsayi-simile* (APICOMPLEXA:
SARCOCYSTINAE) DO GAMBÁ (*Didelphis aurita*) E SUA
PATOGENICIDADE PARA O PERIQUITO AUSTRALIANO
(*Melopsittacus undulatus*)**

CRISTIANE DA SILVA STABENOW

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

MARÇO – 2004

**IDENTIFICAÇÃO DE *Sarcocystis lindsayi-simile* (APICOMPLEXA:
SARCOCYSTINAE) DO GAMBÁ (*Didelphis aurita*) E SUA
PATOGENICIDADE PARA O PERIQUITO AUSTRALIANO
(*Melopsittacus undulatus*)**

CRISTIANE DA SILVA STABENOW

**Dissertação apresentada ao Centro de
Ciências e Tecnologias Agropecuárias
da Universidade Estadual do Norte
Fluminense Darcy Ribeiro, como parte
das exigências para obtenção do título de
Mestre em Produção Animal**

Orientador: Prof. Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MARÇO – 2004

**IDENTIFICAÇÃO DE *Sarcocystis lindsayi-simile* (APICOMPLEXA:
SARCOCYSTINAE) DO GAMBÁ (*Didelphis aurita*) E SUA
PATOGENICIDADE PARA O PERIQUITO AUSTRALIANO
(*Melopsittacus undulatus*)**

CRISTIANE DA SILVA STABENOW

**Dissertação apresentada ao Centro de
Ciências e Tecnologias Agropecuárias
da Universidade Estadual do Norte
Fluminense Darcy Ribeiro, como parte
das exigências para obtenção do título de
Mestre em Produção Animal**

Aprovada em 3 de março de 2004

Comissão Examinadora:

Prof. Carlos Wilson Gomes Lopes (*PhD*, Patologia) - UFRRJ

Prof. Eulógio Carlos Queiroz de Carvalho (*DSc*, Anatomia Patológica) - UENF

Prof. José Frederico Straggiotti Silva (*DSc*, Medicina Veterinária) - UENF

Prof. Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira (*PhD*, Parasitologia Veterinária) - UENF
(Orientador)

“Os caminhos que conduzem o homem ao saber
são tão maravilhosos quanto o próprio saber.”

Johannes Kepler

A

meu pai, principal incentivador para que eu
abraçasse a carreira científica

A

minha mãe, por todo apoio, incentivo e amor

A

meu irmão Júnior e à minha cunhada Suzye,
pelo estímulo

A

meu namorado Angelo, pela compreensão,
incentivo e amor

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, Criador de tudo, pela vida e oportunidade de chegar até aqui.

À minha família e ao meu amor, Angelo, pelo apoio, incentivo, compreensão e amor.

Aos meus amigos, por aceitarem minha ausência.

Ao meu orientador, Prof. Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira, pela orientação, incentivo, compreensão e amizade.

Ao Prof. Carlos Wilson Gomes Lopes, pelos ensinamentos e apoio vital para o desenvolvimento deste trabalho de pesquisa.

Aos amigos, George Rego Albuquerque, Paulo Roberto Carvalho Filho, Rogério Siqueira Toledo, Vagner Ricardo da Silva Fiuza, Edwards Frazão Teixeira e Helaine Haddad Simões Machado, pelo auxílio sempre presente e amizade.

Aos Professores Eulógio Carlos Queiroz de Carvalho e Antônio Peixoto Albernaz, e aos colegas, Alessa Siqueira de Oliveira dos Santos, Josias Alves Machado, Rodrigo Barros Crespo, Luciana da Silva Lemos e Luciano Grillo de Almeida, pelo auxílio laboratorial.

Ao colega Jorgeamado de Almeida Santos, pelo incentivo ao meu ingresso no Curso de Pós-graduação da UENF.

Aos professores do Curso de Pós-graduação, cujos ensinamentos contribuíram para minha formação.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, pela oportunidade de aprimoramento de meus conhecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), pelo suporte financeiro.

Ao Laboratório de Coccídios e Coccidioses – PSA (EMBRAPA/UFRRJ) do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Medicina Veterinária da UFRRJ, pela colaboração fundamental no desenvolvimento desta pesquisa.

Ao IBAMA, pela concessão da licença que permitiu a realização deste trabalho de pesquisa.

Aos gambás e periquitos que, com perda de suas vidas, contribuíram para a pesquisa científica e aquisição de novos conhecimentos.

Àqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

CRISTIANE DA SILVA STABENOW, filha de Irineu Stabenow e Maria Eugênia de Sousa Simões da Silva Stabenow, nasceu em 19 de fevereiro de 1974, na cidade do Rio de Janeiro RJ.

Graduou-se em Medicina Veterinária pelo Centro Universitário Plínio Leite, Itaboraí, RJ, em setembro de 2001.

Foi admitida em março de 2002 no Curso de Pós-graduação em Produção Animal, área de concentração Sanidade Animal, nível Mestrado, da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, em Campos dos Goytacazes - RJ, submetendo-se à defesa de dissertação de mestrado para conclusão do curso em março de 2004.

Em fevereiro de 2004, foi selecionada para ingresso no Curso de Pós-graduação em Produção Animal, área de concentração Sanidade Animal, nível Doutorado, da UENF.

CONTEÚDO

RESUMO	xiii
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. O gênero <i>Sarcocystis</i>	3
2.1.1. Histórico.....	3
2.1.2. Formas observadas nos Hospedeiros definitivos.....	5
2.1.3. Formas observadas nos Hospedeiros intermediários.....	5
2.1.4. Nuances biológicas.....	6
2.2. Patogenia das infecções por espécies do gênero <i>Sarcocystis</i>	10
2.2.1. Hospedeiro definitivo.....	10
2.2.2. Hospedeiro intermediário.....	10
2.3. Espécies do gênero <i>Sarcocystis</i> de gambás.....	11
2.4. Espécies parasitas de aves.....	14
2.5. Espécies parasitas de mamíferos.....	15
2.6. Infecções em hospedeiros terminais.....	16
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1. Locais de desenvolvimento do projeto.....	19
3.2. Origem dos Animais.....	19
3.2.1. Gambás (<i>Didelphis aurita</i>).....	19

3.2.3. Periquitos australianos (<i>Melopsittacus undulatus</i>).....	20
3.3. Eutanásia.....	20
3.3.1. Gambás.....	20
3.3.2. Periquitos australianos.....	20
3.4. Análises laboratoriais.....	20
3.4.1. Obtenção dos esporocistos de <i>Sarcocystis</i>	21
3.4.2. Digestão.....	21
3.4.3. Contagem dos esporocistos e padronização do inóculo.....	21
3.5. Infecção experimental em periquitos australianos.....	22
3.5.1. Quarentena e adaptação.....	22
3.5.2. Inoculação.....	22
3.6. Acompanhamento clínico da infecção experimental.....	23
3.7. Anatomia patológica.....	24
3.7.1. Lesões macroscópicas.....	24
3.7.2. Histopatologia.....	24
3.7.3. Decalques de órgãos.....	24
3.8. Procedimentos auxiliares.....	24
3.8.1. Morfometria.....	24
3.8.2. Contagem dos cistos.....	25
3.8.3. Fotografia.....	25
3.8.4. Análise estatística.....	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1. Esporocistos do gênero <i>Sarcocystis</i> em <i>Didelphis aurita</i>	26
4.2. Infecção experimental em periquitos australianos (<i>Melopsittacus undulatus</i>).....	29
4.3. Caracterização morfológica das formas sistêmicas encontradas em periquitos australianos.....	32
4.3.1. Merontes.....	32
4.3.2. Cistos.....	32
4.4. Alterações associadas às formas endógenas do parasito em periquitos australianos.....	35
5. CONCLUSÃO	42
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Esporocistos do gênero <i>Sarcocystis</i> obtidos de raspado de mucosa intestinal de gambás (<i>Didelphis aurita</i>).....	22
Tabela 2. Infecção experimental de periquitos australianos (<i>Melopsittacus undulatus</i>) com esporocistos do gênero <i>Sarcocystis</i> oriundos de raspado de mucosa intestinal de gambás (<i>Didelphis aurita</i>).....	23
Tabela 3. Esporocistos do gênero <i>Sarcocystis</i> obtidos do intestino delgado de gambás do gênero <i>Didelphis</i>	28
Tabela 4. Infecção experimental de <i>Melopsittacus undulatus</i> com sedimento de raspado de mucosa do intestino delgado de <i>Didelphis aurita</i> oriundos do Estado do Rio de Janeiro.....	29
Tabela 5. Contagem de cistos de <i>Sarcocystis lindsayi-simile</i> em cortes histológicos de órgãos e tecidos de <i>Melopsittacus undulatus</i> inoculados com 26 esporocistos.....	33
Tabela 6. Contagem de cistos em cortes histológicos de órgãos e tecidos de periquitos inoculados com 26 esporocistos de <i>Sarcocystis lindsayi-simile</i>	35

Tabela 7.	Medidas dos sarcocistos de <i>Sarcocystis lindsayi-simile</i> observados em tecidos e órgãos de periquitos (<i>Melopsittacus undulatus</i>) inoculados com 26 esporocistos.....	36
Tabela 8.	Alterações macroscópicas em órgãos de periquitos (<i>Melopsittacus undulatus</i>) infectados com 26 esporocistos de <i>Sarcocystis lindsayi-simile</i>.....	38

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Estimativa da distribuição geográfica de gambás (Adaptado de: GALLETI, 2002)..13..
- Figura 2.** *Sarcocystis lindsayi-simile* obtidos de raspado de mucosa de intestino delgado de *Didelphis aurita*. (A) oocisto esporulado; () parede do oocisto envolvendo os dois esporocistos. (B) esporocisto; () esporozoíta. Solução saturada de açúcar..... 27
- Figura 3.** Merontes de *Sarcocystis lindsayi-simile* em endotélio vascular de vênulas do pulmão de *Melopsittacus undulatus* inoculado experimentalmente com 26 esporocistos, 30 dias após infecção. Meronte imaturo (A) e meronte com merozoítas (B). H.E..... 30
- Figura 4.** Cisto de *Sarcocystis lindsayi-simile* em célula de tecido muscular estriado esquelético de *Melopsittacus undulatus* inoculado experimentalmente com 26 esporocistos, 30 dias após a infecção (corte transversal). H.E..... 31
- Figura 5.** Cisto de *Sarcocystis lindsayi-simile* em célula de tecido muscular estriado cardíaco de *Melopsittacus undulatus* inoculado experimentalmente com 26 esporocistos, 30 dias após a infecção (corte longitudinal). H.E..... 31

Figura 6. Cistos de <i>Sarcocystis lindsayi-simile</i> em células de tecido muscular estriado esquelético de <i>Melopsittacus undulatus</i> inoculado experimentalmente com 26 esporocistos, 30 dias após a infecção. Língua (A) e perna (B). H.E.....	34
Figura 7. Corte histológico de pulmão de <i>Melopsittacus undulatus</i> inoculado experimentalmente com 26 esporocistos, 30 dias após a infecção. () Meronte em vênula. () Hipertrofia da íntima. H.E.....	39
Figura 8. Edema e infiltração perivascular por linfócitos em pulmão de <i>Melopsittacus undulatus</i> inoculado experimentalmente com 26 esporocistos, 30 dias após a infecção. H.E., 400x.....	39
Figura 9. Atelectasia em pulmão de <i>Melopsittacus undulatus</i> inoculado experimentalmente com 26 esporocistos, 30 dias após a infecção. H.E., 400x.....	40
Figura 10. Hiperplasia de baço de <i>Melopsittacus undulatus</i> inoculado experimentalmente com 26 esporocistos, 30 dias após a infecção. H.E., 400x.....	40
Figura 11. Congestão e hemorragia perivascular em cérebro de <i>Melopsittacus undulatus</i> inoculado experimentalmente com 26 esporocistos, 30 dias após a infecção. H.E., 400x.....	41
Figura 12. Cistos imaturos em células da musculatura estriada esquelética da língua de <i>Melopsittacus undulatus</i> inoculado experimentalmente com 26 esporocistos, 30 dias após a infecção. H.E.....	41

RESUMO

STABENOW, Cristiane da Silva, M. S., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; março de 2004; Identificação de *Sarcocystis lindsayi-simile* (Apicomplexa: Sarcocystinae) do gambá (*Didelphis aurita*) e sua patogenicidade para o periquito australiano (*Melopsittacus undulatus*); Professor Orientador: Prof. Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira.

Vinte e um periquitos australianos (*Melopsittacus undulatus*) foram inoculados com sedimento de raspado de intestino delgado de gambás (*Didelphis aurita*) da seguinte forma: cinco periquitos receberam, cada um, via oral, um inóculo de 100 l contendo 26 esporocistos de um gambá, procedente de Seropédica, Região Metropolitana do Rio de Janeiro; dez outros periquitos, divididos em dois grupos de cinco, receberam cada um, inóculo de 200 l contendo $0,8 \times 10^3$ e $9,18 \times 10^5$ esporocistos de dois gambás, respectivamente, procedentes também do município de Seropédica; um terceiro e um quarto grupos receberam, cada um, inóculo de 500 l de sedimento de intestino delgado, negativo para a presença de esporocistos ao exame microscópico, de dois gambás, oriundos do município de Campos dos Goytacazes, região norte do estado do Rio de Janeiro. O grupo-controle, constituído de três periquitos, foi inoculado com 500 l de PBS. Dos periquitos inoculados, apenas nos pertencentes ao grupo que recebeu 26 esporocistos foi observado parasitismo tecidual. Destes, dois morreram no 25° e 29° dias após a inoculação (DAI), e os outros três foram eutanasiados no 30° DAI. Os sinais clínicos foram caracterizados por anorexia, letargia, penas arrepiadas e dispnéia. Foram observados, nos cortes histológicos, merontes no endotélio de vênulas do parênquima pulmonar e sarcocistos na musculatura do peito, perna, língua e coração, observando-se que a espessura média da parede cística foi de 1,12 a 0,23 μ m. A quantidade de sarcocistos foi observada, em ordem crescente, no coração, peito, língua e perna, sendo estatisticamente diferente o número observado na perna em

relação ao coração. A medida do comprimento e largura dos cistos variou, no corte transversal, de 17,73 5,43 a 41,43 4,79 m e 12,35 2,98 a 27,44 4,49 m, respectivamente; e no corte longitudinal, de 65,25 23,25 a 118,06 39,17 m e 13,98 5,72 a 29,38 11,58 m, respectivamente. Verificou-se diferença ($p < 0,05$) entre as medidas nos diversos órgãos e tecidos, não se observando, entretanto, diferença no índice morfométrico, o que caracterizou uma variação no tamanho, sem alteração da forma dos cistos. Hiperplasia do baço e congestão hepática foram também verificadas, contudo, sem serem observadas formas proliferativas do parasita nestes órgãos. Quanto ao encéfalo, observaram-se congestão e hemorragia perivascular. Merontes foram encontrados nas células endoteliais das vênulas pulmonares, associados, algumas vezes, à hiperplasia da íntima, edema e infiltrado perivascular por linfócitos. Nenhuma lesão significativa foi observada nos demais periquitos, inclusive nos do grupo-controle. Isto determina que o parasita em pauta seja semelhante ao *S. lindsayi*, com base na prova biológica utilizada, sendo este o primeiro relato de *S. lindsayi-simile* em *D. aurita* no Brasil.

Palavras-chave: *Sarcocystis lindsayi-simile*, *Didelphis aurita*, gambá, *Melopsittacus undulatus*, periquito australiano, infecção experimental.

ABSTRACT

STABENOW, Cristiane da Silva, M. S., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; March 2004; Identification of *Sarcocystis lindsayi*-like (Apicomplexa: Sarcocystinae) of the opossum (*Didelphis aurita*) and its pathogenicity for the budgerigar (*Melopsittacus undulatus*); Guiding teacher: Prof. Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira.

Twenty-one budgerigars (*Melopsittacus undulatus*) were inoculated with sediment of small intestine mucous scraped of opossums (*Didelphis aurita*) in the following way: five of these received, each one, orally, an inoculum of 100 μ l containing 26 sporocysts of an opossum coming from Seropédica, Municipality of Rio de Janeiro; other ten budgerigars, divided in two groups of five animals received, each one, inoculum of 200 μ l containing $0,8 \times 10^3$ and $9,18 \times 10^5$ sporocysts of two opossums, respectively, that came from the same city; a third group and a fourth group received, each one, inoculum of 500 μ l of small intestine sediment, negative for the presence of sporocysts at the microscopic examination, of two opossums originated from of the municipality of Campos dos Goytacazes, North region of the State of Rio de Janeiro. The control group, constituted of three budgerigars, was inoculated with 500 μ l de PBS. Of the inoculated budgerigars, just those belonging to the group that received 26 sporocysts were sick, and two died at 25th and 29th days after the inoculation (DAI), and the other three animals were posted at 30th DAI. Anorexia, lethargy, ruffled feathers and dyspnea characterized the clinical signs of this infection. In the histological sections were observed meronts in the endothelial cells of venules of the lungs and sarcocysts in the muscle cells of the chest, leg, tongue and heart, being observed that the average of the cystic wall was of $1.12 \pm 0.23 \mu$ m. The amount of sarcocysts observed,

0.23 m. The amount of sarcocysts was observed, in growing order, in the heart, chest, language and leg, being statistically different the number observed in the leg in relation to the heart. The measure of the length and wide of the cysts varied, in the transverse section, of 17.73 – 5.43 to 41.43 – 4.79 m and 12.35 – 2.98 to 27.44 – 4.49 m, respectively; and in the longitudinal section, of 65.25 – 23.25 to 118.06 – 39.17 m and 13.98 – 5.72 to 29.38 – 11.58 m, respectively. It was verified differences ($p < 0,05$) among the measures in the several organs and woven, but no differences in the shape index, that characterized a polymorphic size without changes in the cysts morphology. Spleen hyperplasia and hepatic congestion were also verified, without however proliferative forms of the parasite have been observed in these organs. As for the encephalon, congestion and perivascular hemorrhage were observed. Meronts were found in the endothelial cells of the pulmonary venulae, sometimes associated to the intima hyperplasia, edema and perivascular cuffins characterized by lymphocytes. No significant lesions were observed in the other budgerigars, including the control group. The parasite in focus is similar to *S. lindsayi* with base in the prey-predator life cycle, being the first report of *S. lindsayi*-like in *D. aurita* in Brazil.

Key words: *Sarcocystis lindsayi* -simile, *Didelphis aurita*, opossum, *Melopsittacus undulatus*, budgerigar, experimental infection.

1. INTRODUÇÃO

Parasitas do gênero *Sarcocystis* são heteroxenos obrigatórios, com necessidade de que em seu ciclo biológico exista uma relação presa-predador. O predador atua como hospedeiro definitivo, com desenvolvimento dos gametas e oocistos na parede intestinal. A presa é o hospedeiro intermediário, no qual ocorre a fase assexuada que culmina na formação dos cistos teciduais.

A encefalomielite eqüina por protozoários (EPM) é uma doença neurológica que atinge eqüinos de qualquer idade, determinada por parasitas do gênero *Sarcocystis* de gambás, em um ciclo errático. Esta doença é descrita no Brasil desde 1975, mas poucos estudos foram realizados até o momento, embora no território brasileiro existam três espécies de gambás, *Didelphis marsupialis*, *D. albiventris* e *D. aurita*, encontrados na Amazônia, na Mata Atlântica, e no cerrado, caatinga e pantanal, respectivamente.

As aves vêm sendo utilizadas há algum tempo como animais de experimentação para o isolamento e identificação de espécies do gênero *Sarcocystis*, cujo hospedeiro definitivo seja uma espécie do gênero *Didelphis*. Após a descrição de *S. falcatula*, o periquito australiano (*Melopsittacus undulatus*) foi incluído como um hospedeiro intermediário experimental para a identificação de espécies de *Sarcocystis* parasitas de aves, infectadas com esporocistos procedentes de gambás, mostrando-se particularmente susceptível à infecção por *S. falcatula* e *S. lindsayi*.

Sarcocystis lindsayi foi proposto recentemente como uma nova espécie para um parasita semelhante a *S. falcatula*, encontrado em *D. albiventris* no Brasil. Desta forma, o

gambá da espécie *D. albiventris* passou a ser o hospedeiro definitivo de duas espécies conhecidas do gênero *Sarcocystis* no Brasil: *S. neurona* e *S. lindsayi*, este último, tendo como hospedeiro intermediário experimental o periquito australiano. Apesar de presentes em *habitats* diferentes, os gambás das espécies *D. albiventris* e *D. aurita* coabitam uma pequena região do país.

Sendo assim, essa pesquisa teve como objetivo identificar espécies do gênero *Sarcocystis*, presentes no gambá da espécie *D. aurita*, nas Regiões Norte Fluminense e Metropolitana da cidade do Rio de Janeiro, capazes de infectar experimentalmente periquitos australianos (*M. undulatus*), e determinar a patogenicidade do parasita para esses, tendo em vista a importância dos coccídios desse gênero em infecções de aves e mamíferos, que determinam lesões diversas e morte, gerando perdas produtivas e afetando a economia da região.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1.O gênero *Sarcocystis*

2.1.1. Histórico

Segundo DUBEY (1992), o histórico do gênero *Sarcocystis* é como a seguir: *Sarcocystis* Lankester, 1882, foi primeiro relatado por Miescher (1843), que descreveu “linhas branco-leitosas” na musculatura esquelética de um camundongo doméstico (*Mus musculus*), na Suíça. Kühn (1865) encontrou um parasita similar no suíno e o nomeou *Synchytrium miescherianum*. Contudo, esse gênero foi ocupado e Lankester (1882) introduziu o gênero de nome *Sarcocystis*. Labbé (1899) mudou o nome *Synchytrium miescherianum* para *Sarcocystis miescheriana*. Assim, o parasita *S. miescheriana* (Kühn, 1865) Labbé 1899 tornou-se a espécie-tipo do gênero. O parasita originalmente encontrado por Miescher no camundongo foi descrito por Blanchard (1885) e nomeado *S. muris* por Railliet (1886).

Assim, surgiram controvérsias sobre se *S. muris* ou *S. miescheriana* era a espécie-tipo correta do gênero. *S. miescheriana* foi então considerada a espécie tipo correta do gênero por ter sido descrita antes de *S. muris* (DUBEY et al., 1989).

Entre 1885 e 1972, numerosas espécies de *Sarcocystis* foram nomeadas com base nos achados de sarcocistos na musculatura do hospedeiro intermediário. Como o ciclo de vida de *Sarcocystis* esteve desconhecido até 1972, não existia maneira de validar a identidade das diferentes espécies (DUBEY, 1992). HEYDORN et al. (1975) forneceram a primeira evidência conclusiva de que bovinos e ovinos eram infectados com mais de duas espécies de *Sarcocystis*.

BOX et al. (1984) observaram uma espécie de *Sarcocystis* que utiliza o gambá como hospedeiro definitivo, *S. falcatula*. Este tem uma grande variedade de aves como hospedeiros intermediários, incluindo Passeriformes, Psittaciformes e Columbiformes (BOX e SMITH, 1982; BOX et al., 1984).

Até 1995, *S. falcatula* era a única espécie de *Sarcocystis* conhecida nos gambás (*D. virginiana*), tendo estes como hospedeiros definitivos (BOX e DUSZYNSKI, 1978; BOX et al., 1984). FENGER et al. (1997) e DUBEY e LINDSAY (1998) relataram que *D. virginiana* era o hospedeiro definitivo para outra espécie de *Sarcocystis*, *S. neurona*. Em 1999, uma espécie de *Sarcocystis* morfologicamente distinta, *S. speeri*, foi também encontrada, usando *D. virginiana* e *D. albiventris* como hospedeiros definitivos (DUBEY e LINDSAY, 1999; DUBEY, 2000).

Na América do Sul, o gambá-de-orelha-branca *Didelphis albiventris* já foi relatado na Argentina como hospedeiro definitivo para *S. falcatula* (DUBEY et al., 1999b). No Brasil, essa espécie de gambá atua como hospedeiro definitivo de *S. falcatula-simile* (DUBEY et al., 2000a), *S. neurona* (DUBEY et al., 2001) e *S. lindsayi* (DUBEY et al., 2001b).

DAME et al. (1995), comparando o gene ssuRNA de *S. falcatula* com o mesmo gene de *S. neurona*, observaram uma similaridade de 99,6%, sugerindo que *S. falcatula* e *S. neurona* pudessem ser a mesma espécie. Porém, em estudos posteriores, utilizando a reação em cadeia da polimerase (PCR), foi demonstrado que *S. falcatula* e *S. neurona* tinham variações genéticas, portanto, sendo consideradas como espécies diferentes (TANHAUSER et al., 1999; CUTLER et al., 1999).

TANHAUSER et al. (1999) desenvolveram os “primers” (iniciadores) de PCR JNB33 e JNB54 para distinguir esporocistos de *S. neurona* daqueles de *S. falcatula*, em fezes de gambás norte-americanos, com auxílio das endonucleases de restrição Hinf e Dra . Sendo assim, o produto de PCR de *S. neurona* não é cortado por Hinf , enquanto o produto de *S. falcatula* é cortado em fragmentos. Por outro lado, o produto de *S. neurona* é cortado em fragmentos pela digestão por Dra , enquanto o produto de *S. falcatula* não é cortado por essa enzima.

Contudo, dois isolados de esporocistos oriundos de gambás possuíram tanto locais DraI e HinfI, indicativo de infecção mista ou de uma linhagem com um novo genótipo. Foram relatados então organismos provenientes do gambá sul-americano (*D. albiventris*), distintos de *S. neurona* e *S. speeri*, mas semelhantes a *S. falcatula*, cujo produto recebe a ação de ambas endonucleases de restrição (DUBEY et al., 2000a,b; ROSENTHAL et al., 2001).

2.1.2. Formas observadas nos Hospedeiros definitivos

O hospedeiro definitivo, geralmente, é predador, com desenvolvimento de gamontes e oocistos no intestino delgado (BOX e SMITH, 1982).

Os esporocistos são encontrados apenas no trato gastrintestinal, principalmente, no duodeno e jejuno, e ausentes no intestino grosso. São raros no epitélio intestinal, sendo a maioria observada na lâmina própria da vilosidade (PORTER et al., 2001).

2.1.3. Formas observadas nos Hospedeiros intermediários

A presa serve como hospedeiro intermediário, no qual multiplicações assexuadas tomam lugar, culminando em cistos musculares, dos quais vem o nome do parasita (BOX e SMITH, 1982).

O nome *Sarcocystis* vem do grego *sarkos* (músculo) e *kystis* (cisto) devido ao estágio assexuado terminal encontrado encistado, primariamente nos músculos estriados de mamíferos, aves e animais peclotérmicos. Esses animais são hospedeiros intermediários e a quantidade e distribuição de sarcocistos no corpo varia muito de hospedeiro para hospedeiro. Em adição à sua presença na musculatura estriada esquelética e cardíaca, os cistos ocorrem no sistema nervoso central e em fibras de Purkinje no coração, mas sempre em números relativamente baixos (POWELL et al., 1986; DUBEY et al., 1989).

Os cistos de musculatura esquelética e cardíaca estão localizados exclusivamente dentro de células musculares estriadas e são compostos por uma parede cística primária e, abaixo desta, substância amorfa, metrócitos e bradizoítas em desenvolvimento (NEILL et al., 1989).

No passado, dentre todos os critérios morfológicos disponíveis, a estrutura da parede do cisto era o critério mais confiável para distinguir espécies de *Sarcocystis* num determinado hospedeiro, mas não dentre hospedeiros diferentes, porque espécies biologicamente distintas podem ter sarcocistos estruturalmente idênticos em diferentes hospedeiros (DUBEY et al., 1989).

Os merontes, contendo merozoítas, são encontrados principalmente nas células endoteliais em diversos órgãos. A predileção por um endotélio em particular é característica das espécies de *Sarcocystis* e está provavelmente relacionada tanto à heterogeneidade bioquímica das superfícies endoteliais de diferentes órgãos (FISHMAN, 1982 *apud* SMITH et al., 1987a) quanto a receptores específicos das células hospedeiras (CHOBOTAR e

SCHOLTYSECK, 1982 *apud* SMITH et al., 1987a). *Sarcocystis falcatula* tem predileção particular pelo endotélio de capilares, veias e vênulas pulmonares no periquito australiano e em Columbiformes e Passeriformes (SMITH et al., 1987a,b).

Mais de 97% dos merontes em periquitos australianos infectados com *S. falcatula* são encontrados nas células endoteliais de capilares, vênulas e veias pulmonares (SMITH et al., 1989). Estes variam em tamanho e forma, com merozoítas formados central e periféricamente. Alguns merontes pequenos (10 μ m de comprimento) contêm apenas sete merozoítas, enquanto outros que são grandes (30 μ m) contêm mais de 50 merozoítas. Geralmente é difícil definir os detalhes estruturais dos merontes em “imprints” (decalques) de pulmões ou em simples cortes histológicos de 5 μ m corados por hematoxilina e eosina (H.E.) (DUBEY et al., 1999b; DUBEY et al., 2000a,b).

2.1.4. Nuances biológicas

Os coccídios do gênero *Sarcocystis* têm um ciclo biológico obrigatório de dois hospedeiros, presa-predador. Estágios assexuados desenvolvem-se apenas no hospedeiro intermediário, o qual, na natureza, é geralmente um animal-presa (herbívoro). Estágios sexuados desenvolvem-se apenas no hospedeiro definitivo, o qual é predador (carnívoro). Infecções por espécies do gênero *Sarcocystis* são amplamente distribuídas em animais de produção (BOX e SMITH, 1982; DUBEY et al., 1989; DUBEY, 1992). Existem diferentes hospedeiros definitivos e hospedeiros intermediários, para cada espécie, pertencente ao gênero *Sarcocystis*. Por exemplo, existem três espécies deste gênero parasitas de bovinos: *S. cruzi*, *S. hirsuta* e *S. hominis* (LEVINE, 1986). Os hospedeiros definitivos para essas espécies são carnívoros das famílias Canidae e Felidae, e primatas, respectivamente (DUBEY, 1992).

O hospedeiro definitivo se torna infectado pela ingestão de tecido muscular ou neural contendo cistos maduros. Bradizoítas liberados dos cistos, por digestão no estômago e intestino, penetram na mucosa do intestino delgado e se transformam em gamontes masculino (microgamonte) e feminino (macrogamonte). Os microgametas liberados do microgamonte se movem ativamente para a periferia do macrogamonte. Após a fertilização, desenvolve-se uma parede em volta do zigoto e o oocisto é formado (SHEFFIELD e FAYER, 1980). A localização da gametogonia e o tipo de célula parasitada variam com a espécie de *Sarcocystis* e o estágio de gametogênese (DUBEY, 1992).

Em contraste com os gêneros *Toxoplasma* e *Hammondia*, os oocistos do gênero *Sarcocystis* esporulam na lâmina própria. A massa principal do oocisto (esporonte) divide-se em dois esporocistos (FAYER, 1974). Quatro esporozoítas são formados em cada esporocisto. Devido à falta de sincronia da esporulação, oocistos esporulados e não-esporulados são encontrados simultaneamente. Oocistos esporulados são geralmente de parede fina ($< 1 \mu\text{m}$) e transparentes, contendo dois esporocistos alongados. Não há resíduos no oocisto e nem micrópila. Cada esporocisto contém quatro esporozoítas alongados e um resíduo do esporocisto granular, o qual pode ser compacto ou disperso, e não há corpo de "Stieda". Cada esporozoíta tem um núcleo central a terminal, diversos grânulos citoplasmáticos e um corpo cristalóide, mas não há corpo refrátil (DUBEY, 1992).

A parede do oocisto é fina e, geralmente, se rompe. Os esporocistos livres, liberados no lúmen intestinal, passam para as fezes. Ocasionalmente, oocistos não-esporulados e parcialmente esporulados são liberados nas fezes. Os períodos pré-patente e patente variam, mas, para a maioria das espécies de *Sarcocystis*, os oocistos são primeiramente liberados nas fezes entre 7 e 14 dias após a ingestão do cisto (DUBEY, 1992).

O hospedeiro intermediário se torna infectado pela ingestão do esporocisto em alimento ou água contaminados. Os esporozoítas excistam de esporocistos no intestino delgado (CAWTHORN et al., 1986). O destino do esporozoíta, do momento de ingestão do esporocisto até o desenvolvimento inicial nas artérias dos linfonodos mesentéricos, não é conhecido. A merogonia de

primeira geração pode iniciar-se nas células endoteliais logo aos sete dias pós-inoculação (DPI) e pode ser completada aos 15 DPI. A segunda geração de merontes tem sido vista no endotélio de 19 a 46 DPI, predominantemente, em capilares, mas também em pequenas artérias, praticamente por todo o corpo. Esses merontes são mais numerosos nos glomérulos renais (DUBEY, 1992).

Os merontes se dividem por endopoligenia (DUBEY et al., 1989). O núcleo se torna lobulado e divide-se em diversos núcleos (mais de 37). Merozoítas se formam na periferia, sendo a forma e o tamanho dos merontes variados (DUBEY, 1992).

O número de gerações de merogonia e o tipo de célula hospedeira, na qual a merogonia pode ocorrer, variam com cada espécie de *Sarcocystis* (DUBEY, 1982a,b; DUBEY et al., 1982, 1989; HEYDORN, 1977, 1985; HEYDORN e GESTRICH, 1976; HEYDORN e KARAER, 1986; HEYDORN e UNTERHOLZNER, 1983; OBENDORF e MUNDAY, 1987). Por exemplo, todas as espécies de *Sarcocystis* de animais de produção (ovinos, caprinos, bovinos, suínos, eqüinos) formam a 1ª e a 2ª geração de merontes no endotélio (DUBEY, 1992).

Os merozoítas liberados da geração terminal de merogonia iniciam a formação do cisto. O merozoíta intracelular forma um metrócito e cada metrócito produz duas progênes de metrócitos por endogenia. Depois de várias gerações assim, alguns dos metrócitos, pelo do processo de endopoligenia, produzem zoítas em forma de banana, chamados bradizoítas (também chamados cistozoítas). Finalmente, o cisto é preenchido com bradizoítas, que são o estágio infectivo para o predador. Os bradizoítas contêm grânulos de amilopectina proeminentes que se coram em vermelho brilhante, quando empregado o método do ácido periódico de Schiff (PAS) (FAYER e JOHNSON, 1974; DUBEY, 1992).

A estrutura dos parasitas dentro dos cistos muda com a maturação deste. Os cistos, geralmente, se tornam infecciosos cerca de 75 DPI, mas nisso existe considerável variação entre as espécies de *Sarcocystis*. Os cistos imaturos contêm apenas metrócitos (células-mãe), e os merontes não são infecciosos para o hospedeiro definitivo. Mesmo os cistos maduros podem conter alguns metrócitos

(células-mãe), e os merontes não são infecciosos para o hospedeiro definitivo. Mesmo os cistos maduros podem conter alguns metrócitos arrumados perifericamente (DUBEY, 1992). Não há transmissão pelo leite (FAYER et al., 1982).

Os cistos variam em tamanho e forma, dependendo da espécie do parasita. Alguns sempre permanecem microscópicos, enquanto outros se tornam macroscópicos. Os cistos microscópicos variam de muito longos e estreitos a curtos e largos, enquanto os macroscópicos aparecem filamentosos, tipo grãos de arroz, ou globulares (DUBEY, 1992).

O cisto consiste em uma parede cística que circunda os estágios de metrócitos ou bradizoítas parasitas. A estrutura e espessura da parede cística diferem entre as espécies de *Sarcocystis* e, dentro de cada espécie, entre cistos maduros. Histologicamente, a parede do cisto pode ser lisa, estriada, ou filamentosa, ou pode possuir complexas projeções ramificadas. Internamente, os grupos de bradizoítas são divididos entre compartimentos por septos que se originam da parede do sarcocistos ou podem não ser compartimentalizados. Septos estão presentes na maioria das espécies de *Sarcocystis* (DUBEY, 1992).

Os esporocistos ou oocistos permanecem viáveis por muitos meses no ambiente, podendo ser disseminados ou protegidos por hospedeiros-transportadores invertebrados (DUBEY, 1992). Grande número de esporocistos pode ser liberado (FAYER, 1975). Os oocistos ou esporocistos são resistentes ao congelamento e, assim, podem sobreviver ao inverno na pastagem. Aparentemente, os esporocistos podem ser mortos por dessecação e por aquecimento a 56° C por 10 minutos (HEYDORN, 1980); contudo, são resistentes a desinfetantes (BARUTZKI et al., 1981). Diferentemente de muitas outras espécies de coccídios, os do gênero *Sarcocystis* são liberados com as fezes na forma infectiva e não dependem de condições climáticas para maturação e infectividade (DUBEY, 1992).

Sarcocystis falcatula usa espécies de aves, como hospedeiros intermediários, e o gambá norte-americano (*D. virginiana*), como hospedeiro definitivo (BOX e DUSZYNSKI, 1978; BOX et al., 1984). É uma espécie não usual

de *Sarcocystis* por sua ampla gama de hospedeiros intermediários (Passeriformes, Psittaciformes e Columbiformes), sua prolongada merogonia (durando mais de cinco meses) e pela alta patogenicidade para seu hospedeiro intermediário (BOX e SMITH, 1982; SMITH et al., 1987a, b, 1990a, b; NEILL et al., 1989; CLUBB e FRENKEL, 1992).

2.2. Patogenia das infecções por espécies do gênero *Sarcocystis*

Somente algumas espécies de *Sarcocystis* são patogênicas, sendo as espécies do gênero geralmente mais específicas para seus hospedeiros intermediários que para seus hospedeiros definitivos (BOX e SMITH, 1982; DUBEY et al., 1989).

2.2.1. Hospedeiro definitivo

Os parasitas do gênero *Sarcocystis* são geralmente considerados não-patogênicos para seus hospedeiros definitivos (DUBEY, 1976). Entretanto, PORTER et al. (2001) evidenciaram a hiperplasia das criptas e a hipertrofia do epitélio intestinal de gambás (*D. virginiana*), além de infiltrado eosinofílico na lâmina própria da vilosidade, especialmente, em áreas de concentração de esporocistos.

2.2.2. Hospedeiro intermediário

Sarcocystis falcatula produz uma doença amplamente disseminada em múltiplos órgãos no periquito australiano, mas o sistema mais seriamente comprometido é o trato respiratório inferior (SMITH et al., 1989).

Na maioria dos casos, não são observados sinais clínicos em periquitos australianos (*M. undulatus*) inoculados, mas alguns podem se mostrar inativos e lentos ao voar (DUBEY et al., 1999b; SPEER e DUBEY, 1999).

Em experimentos realizados, os periquitos australianos tiveram infecção aguda e vieram a óbito, sem sinais clínicos, entre 8 e 14 dias pós-inoculação (DPI), no estágio de multiplicação do parasita nos pulmões duas semanas pós-infecção (PI), presumivelmente por causa da anóxia. À macroscopia, os pulmões encontravam-se hemorrágicos, entretanto não foram observados sarcocistos (BOX e SMITH, 1982; DUBEY et al., 1999b; DUBEY et al., 2000a,b). Em esfregaços e cortes histológicos, foram observados numerosos merontes e merozoítas nos pulmões e em outros órgãos, tais como, cérebro, coração, fígado, baço, rins e musculatura esquelética, que são os órgãos e tecidos mais intensamente infectados (BOX e SMITH, 1982; DUBEY et al., 1999b; SPEER e DUBEY, 1999).

BOX e SMITH (1982) relataram a ocorrência de um periquito australiano, inoculado experimentalmente com *S. falcatula*, ter atingido a 12^a semana PI, e, à necrópsia, foram encontrados cistos musculares.

Os merontes causam necrose de células e tecidos do hospedeiro intermediário. O grau de necrose desenvolvida depende da espécie de *Sarcocystis*, de sua localização e de seu potencial de multiplicação. *Sarcocystis falcatula* se multiplica extensivamente nas células endoteliais, principalmente, nas dos capilares pulmonares, produzindo muitas gerações de merogonia (BOX et al., 1984; SMITH et al., 1987a). O dano físico, que pode resultar apenas em vasculite, também pode ocasionar a morte das aves com infecções maciças por *S. falcatula* (SMITH et al., 1987b).

A merogonia inicial ocorre no endotélio pulmonar (BOX et al., 1984; BOX e SMITH, 1982; SMITH et al., 1987b), resultando em hipertrofia das células endoteliais, obstrução capilar precedendo a lise endotelial, endoflebite aguda e periflebite crônica. Isto impede o fluxo de saída do sistema vascular pulmonar, resultando em edema intersticial, subpneumocítico e, finalmente, do espaço aéreo. O edema é associado com perda do surfactante e atelectasia (SMITH et al., 1987b).

Outras lesões histopatológicas mais freqüentemente encontradas em periquitos australianos experimentalmente infectados com *S. falcatula* são: no fígado, inflamação portal, endo e periflebite, degeneração hidrópica de hepatócitos, necrose, e infiltrado de linfócitos e macrófagos; no baço, hiperplasia, congestão, endoflebite e hiperplasia endotelial arterial e arteriolar; e no cérebro, congestão de vasos aferentes, hipertrofia endotelial, endoflebite aguda focal e hemorragia perivascular (SMITH et al., 1989).

2.3. Espécies do gênero *Sarcocystis* de gambás

Existe considerável confusão envolvendo a identidade de espécies do gênero *Sarcocystis* parasitas de gambás. STILES (1893) *apud* DUBEY et al. (2001b), descreveu inicialmente *S. falcatula* baseado na estrutura do sarcocisto de um pardal-do-norte de peito rosa (*Pheucticus ludovicianus*). BOX e SMITH (1982) e BOX et al. (1984) redescreveram *S. falcatula*, baseados em estudos do seu ciclo de vida e na variação de hospedeiros experimentais que foi capaz de infectar, incluindo pássaros da espécie *Molothrus ater*, periquitos australianos (*M. undulatus*), mandarins diamante (*Poephila guttata*), canários (*Serinus canarius*), pardais (*Passer domesticus*), e pombos (*Columba livia*), mas nenhuma galinha (*Gallus gallus*) ou galinha d'Angola (*Numida meleagris*) foi infectada. *S. falcatula* era a única espécie conhecida do gênero que usava *D. virginiana* como hospedeiro definitivo. *Sarcocystis neurona* foi então identificado e considerado como a maior causa de doença neurológica em cavalos americanos (DUBEY et al., 1991; DUBEY e LINDSAY, 1998). *Sarcocystis speeri* foi em seguida identificado em *D. virginiana* (DUBEY e LINDSAY, 1999). Embora a similaridade no DNA ribossomal de *S. falcatula* e *S. neurona* sugerisse que poderiam corresponder a uma única espécie (DAME et al., 1995), análises posteriores forneceram base para a sua diferenciação (TANHAUSER et al., 1999).

O gambá norte-americano (*D. virginiana*) é o hospedeiro definitivo de pelo menos três espécies de *Sarcocystis*: *S. falcatula* (BOX e DUSZYNSKI, 1978; BOX et al., 1984; DUBEY, 2000), *S. neurona* (FENGER et al., 1995, 1997; DUBEY e LINDSAY, 1998; DUBEY et al., 1999b; DUBEY, 2000) e *S. speeri* DUBEY, 2000.

Há três espécies de gambás no Brasil: *D. albiventris*, de orelhas brancas, encontrado no cerrado, na caatinga e no pantanal; *D. aurita*, orelhas pretas, presente na Mata Atlântica; e *D. marsupialis*, orelhas pretas, proveniente da Amazônia (SILVA e ROSSI, 2003). A estimativa da distribuição destas espécies pode ser verificada na Figura 1.

Didelphis albiventris (anteriormente conhecido como *D. azarae* e *D. paraguayensis*) é distribuído nas zonas temperadas e tropicais de altitude da América do Sul, incluindo os países dos Andes, exceto o Chile (DUBEY et al., 1999b) (Figura 1), sendo hospedeiro definitivo para *S. falcatula* na Argentina (DUBEY et al., 1999b) e, no Brasil, para *S. falcatula-simile* DUBEY et al., 2000a, *S. neurona* DUBEY et al., 2001a e *S. lindsayi* DUBEY et al., 2001b.

A ampla distribuição de certas espécies de *Sarcocystis* pode ser derivada de sua capacidade de parasitar aves migratórias, hospedeiras do parasita em seu estágio intermediário (ROSENTHAL et al., 2001).



Figura 1 - Estimativa da distribuição geográfica de gambás (Adaptado de: GALLETI, 2002).

Enquanto os esporocistos de *S. neurona* e *S. speeri* infectam camundongos imunodeficientes, mas não periquitos australianos, o reverso é verdadeiro para parasitas designados *S. falcatula* (MARSH et al., 1997a, b; DUBEY e LINDSAY, 1998). Os merontes de *S. falcatula* são encontrados intravascularmente, enquanto os merontes de *S. neurona* e de outras espécies de *Sarcocystis* são encontrados extravascularmente (DUBEY et al., 1998).

A identificação do *S. falcatula* é baseada nos estágios de merogonia, similaridade estrutural, reação positiva ao soro anti-*S. falcatula* e patogenicidade para periquitos (*M. undulatus*) (DUBEY et al., 1999b).

Sarcocystis lindsayi foi proposto como uma nova espécie por DUBEY et al. (2001b) para um parasita semelhante à espécie *S. falcatula*, oriundo de *D. albiventris*, proveniente de Jaboticabal, São Paulo, Brasil. Seu hospedeiro intermediário natural é desconhecido, porém o seu hospedeiro intermediário experimental é o periquito australiano.

Foram encontrados poucos sarcocistos, presentes apenas nas pernas; entretanto, as doses utilizadas foram de 50 e 500 esporocistos. Estes sarcocistos eram microscópicos, com até 600m de comprimento e 50 m de largura, com a espessura da parede entre 1 e 2 m. Os esporocistos mediram aproximadamente 12 x 7 m, e os esporozoítas tinham aproximadamente 6 m de comprimento (DUBEY et al., 2001b).

Os merontes dessa espécie foram encontrados apenas nos pulmões e, em cultura, dividiram-se por endopoligenia (DUBEY et al., 2001b).

Sarcocystis lindsayi foi distinguido de *S. falcatula* por características estruturais e genéticas. Infelizmente, existe considerável confusão em relação à identidade de *S. falcatula* porque não existem espécimes-tipo e todos os merontes em tecidos de aves foram considerados como sendo de *S. falcatula* até então (DUBEY et al., 2001b).

2.4. Espécies parasitas de aves

As espécies parasitas de aves, obtidas de cistos musculares de pássaros da família Icteridae, são capazes de usar o gambá (*D. virginiana*) como hospedeiro definitivo (DUSZYNSKI e BOX, 1978), e os esporocistos fecais obtidos destes, posteriormente, infectam outras aves passeriformes nas famílias Fringilidae e Ploceidae (BOX e

E DUSZYNSKI, 1978).

Os periquitos australianos, como hospedeiros intermediários, são particularmente susceptíveis à infecção por espécies de *Sarcocystis* de aves (BOX e SMITH, 1982). Contudo, *S. neurona* não é infectivo para periquitos australianos (MARSH et al., 1997b; DUBEY e LINDSAY, 1998).

Anseriformes e galiformes são refratários à infecção por espécies de *Sarcocystis* parasitas de aves, e Psittaciformes e Passeriformes são susceptíveis a todos os estágios do parasita. Columbiformes, representados por pombos, são intermediários na susceptibilidade (BOX e SMITH, 1982).

Não são encontrados relatos de casos naturais de infecção por *S. falcatula* em pássaros residentes fora dos Estados Unidos (DUBEY et al., 2000b).

2.5. Espécies parasitas de mamíferos

A espécie *Sarcocystis muris* é infecciosa para camundongos, mas não, para ratazanas e outros roedores testados (RUIZ e FRENKEL, 1976).

As espécies de *Sarcocystis* parasitas de bovinos (*Bos taurus*) são: *S. cruzi*, *S. hirsuta* e *S. hominis*. *Sarcocystis cruzi* é patogênico e tem como hospedeiros definitivos o cão, o coioite, a raposa vermelha, o guaxinim e o lobo. *Sarcocystis hirsuta* e *S. hominis* são também patogênicos, ainda que em menor grau, e seus hospedeiros definitivos são o gato e os primatas humanos e não-humanos, respectivamente (DUBEY et al., 1989; DUBEY, 1992).

Os ovinos (*Ovis aries*) são infectados por *S. tenella*, *S. arieticanis*, *S. gigantea* e *S. medusiformis*. *S. tenella* é patogênico e tem, como hospedeiros definitivos, o cão, o coioite e a raposa vermelha. *Sarcocystis arieticanis* também é patogênico, embora em menor grau, tendo o cão como hospedeiro definitivo. As espécies *S. gigantea* e *S. medusiformis* não são patogênicas e tem, como hospedeiro definitivo, o gato (DUBEY et al., 1989; DUBEY, 1992).

Sarcocystis capracanis, *S. hircicanis* e *S. moule* são espécies parasitas de caprinos (*Capra hircus*). *Sarcocystis capracanis* é patogênica, tendo, como hospedeiros definitivos, o cão, a raposa vermelha e o coioite. O cão também é hospedeiro definitivo de outra espécie patogênica, *S. hircicanis*. A patogenidade de

S. moule é desconhecida, mas seu hospedeiro definitivo é o gato (DUBEY et al., 1989; DUBEY, 1992).

As espécies parasitas de suínos (*Sus scrofa*) são: *S. miescheriana*, *S. porcifelis* e *S. sui hominis*. O gato é o hospedeiro definitivo de *S. porcifelis*, cuja patogenicidade é desconhecida. *Sarcocystis miescheriana* e *S. sui hominis* são patogênicos e seus hospedeiros definitivos são, respectivamente, cão, guaxinim, lobo, raposa vermelha e chacal, e primatas, humanos e não-humanos (DUBEY et al., 1989; DUBEY, 1992).

O cão é o hospedeiro definitivo para as duas espécies parasitas de eqüinos (*Equus caballus*), *S. fayeri* e *S. equicanis* (sin. *S. bertrami*); para uma espécie que infecta camelos (*Camelus spp.*), *S. cameli* (DUBEY et al., 1989; DUBEY, 1992); e para uma espécie que parasita lhamas (*Lama glama*), *S. aucheniae* (LEGUÍA, 1991).

Sarcocystis levinei e *S. fusiformis* parasitam búfalos (*Bubalus bubalis*) e têm, como hospedeiros definitivos, o cão e o gato, respectivamente (DUBEY et al., 1989; DUBEY, 1992).

2.6. Infecções em hospedeiros terminais

A EPM é a doença neurológica eqüina mais comumente diagnosticada nos Estados Unidos, causando perdas de mais de 100 milhões de dólares à indústria eqüina (DUBEY et al., 2001a). Foi inicialmente atribuída ao *T. gondii*, mas hoje se sabe que o agente causal principal é um parasito do gênero *Sarcocystis*, com o envolvimento da espécie *S. neurona* (DUBEY, 1976; SIMPSON e MAYHEW, 1980; MASRI et al., 1992; FENGER et al., 1997).

As lesões na medula espinhal características da EPM foram primeiramente relatadas em 1964 por Rooney nos Estados Unidos (PRICKETT, 1967). ROONEY et al. (1970) publicaram uma série de 52 casos em cavalos do Kentucky e Pensilvânia. No mesmo período, MACRUZ et al. (1975) reportaram-se à presença de protozoários em lesões no Sistema Nervoso Central (SNC) de cavalos no Brasil. Em todos esses casos, o parasita foi identificado como *T. gondii*. Subseqüentemente, em ambos países, o agente foi classificado como do gênero *Sarcocystis* (DUBEY, 1976; SIMPSON e MAYHEW, 1980; MASRI et al., 1992).

Além de espécies do gênero *Sarcocystis*, a espécie *Toxoplasma gondii* e algumas do gênero *Neospora* são protozoários que podem causar encefalomielite em animais de produção, incluindo eqüinos DUBEY, 1992; DUBEY e LINDSAY, 1996; HAMIR et al., 1998, constituindo outros possíveis agentes causais de EPM (MARSH

et al., 1996; entretanto, a EPM é mais freqüentemente causada por *S. neurona* (DUBEY et al., 1991; MACKAY, 1997).

Neospora hughesi pode culminar em EPM, assim como *S. neurona*. Contudo, a espécie *N. hughesi* representa um desafio ao tratamento devido à representação de cistos teciduais que podem resultar em recidiva da infecção, mesmo após o tratamento DUBEY et al., 1999a,c; CHEADLE et al., 2000.

Desde o seu primeiro relato, a EPM já foi identificada em muitas regiões dos Estados Unidos (DUBEY et al., 1991), no Brasil (BARROS et al., 1986), Panamá (GRANSTROM et al., 1992), Canadá (MACKAY et al., 2000), e Argentina (DUBEY et al., 1999c).

Os estudos sobre prevalência sorológica de *S. neurona* em cavalos no Brasil mostraram que 36% destes, clinicamente normais, têm sido expostos ao *S. neurona*. A alta prevalência de anticorpos específicos para *S. neurona* indica grande contaminação ambiental com este parasita no Brasil (DUBEY et al., 1999a).

Esses resultados são similares aos encontrados em outros estudos. Na Argentina, a prevalência sorológica é de 35,5% (DUBEY et al., 1999c). Nos Estados Unidos, foram encontrados os seguintes resultados quanto à soroprevalência de anticorpos específicos para *S. neurona*: 45,3% dos cavalos residentes em um condado do sudeste da Pensilvânia (BENTZ et al., 1997); mais de 53% de animais positivos em 81 condados de Ohio (SAVILLE et al., 1997); 60% de eqüídeos no estado de Michigan (ROSSANO et al., 2001); 33,6% no norte do Colorado (TILLOTSON et al., 1999); e 45% em Oregon (BLYTHE et al., 1997).

A maioria dos cavalos infectados tem de um a cinco anos de idade (BOY et al., 1990; FAYER et al., 1990), porém cavalos mais velhos também podem ser infectados. Embora a doença tenha sido confirmada em um animal de dois meses, é rara em potros (FAYER et al., 1990).

O protozoário pode ser encontrado em qualquer parte do SNC, geralmente associado a células inflamatórias e à destruição do tecido nervoso. Os merontes, em vários estágios de maturação, ou merozoítas livres, são comumente vistos no citoplasma dos neurônios ou em fagócitos (SIMPSON e MAYHEW, 1980; BOWMAN et al., 1992).

Em 1991, o protozoário foi isolado da medula espinhal de um eqüino e mantido em cultura de células da linhagem M617, quando foi denominado *S. neurona* (DUBEY et al., 1991).

FENGER et al. (1994), utilizando PCR, compararam esse agente com nove outros protozoários e confirmaram pertencer ao gênero *Sarcocystis*, apresentando uma estreita

Estreita relação com *S. muris*, *S. gigantea* e *T. gondii*, todos parasitas de felinos. Dessa forma, sugeriram que o hospedeiro definitivo poderia ser um membro da família Felidae.

Na tentativa de descobrir o hospedeiro definitivo, comparou-se o gene ssuRNA de *S. neurona* com os esporocistos de gatos, cangambás, gambás, coiotes, falcões e raposas, encontrando uma similaridade de 99,89% com os esporocistos eliminados nas fezes dos gambás e, com base nesses dados, o gambá do continente norte americano (*D. virginiana*) foi considerado como hospedeiro definitivo de *S. neurona* (FENGER et al., 1995).

Didelphis virginiana é encontrado em toda a área de propagação da EPM nos EUA. No Brasil, não se encontra essa espécie, mas *D. marsupialis*, *D. albiventris* e *D. aurita* são encontrados, podendo funcionar como hospedeiros definitivos (SUNQUIST e EISENBERG, 1993).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Locais de desenvolvimento do projeto

O projeto foi desenvolvido no Setor de Parasitologia do Laboratório de Sanidade Animal (LSA) do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), em colaboração com o Laboratório de Coccídios e Coccidioses (Projeto Sanidade Animal/EMBRAPA/UFRRJ), Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

3.2. Origem dos animais

3.2.1. Gambás (*Didelphis aurita*)

Os gambás, em número de cinco, foram capturados de acordo com a licença n 96/02-RJ, processo IBAMA n 02022.008098/02-91, no Estado do Rio de Janeiro, sendo três em Seropédica e dois em Campos dos Goytacazes.

3.2.2. Periquitos australianos (*Melopsittacus undulatus*)

Os periquitos australianos (*M. undulatus*) foram obtidos de criatórios localizados no município do Rio de Janeiro.

3.3. Eutanásia

Os procedimentos de eutanásia foram realizados de acordo com a Resolução n 714, de 20 de junho de 2002, do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV) e em conformidade com a Lei Estadual n° 3900/02.

3.3.1. Gambás

Os gambás foram eutanasiados pelo método utilizado por PORTER et al. (2001), em concordância com a legislação brasileira. Após sedação com 1ml de cloridrato de quetamina (Ketalar, Parke Davis), a eutanásia foi feita através de injeção intracardíaca de pentobarbital sódico (Hypnol, Cristália) na dose de 120mg/kg.

3.3.2. Periquitos australianos

Os animais inoculados que sobreviveram foram eutanasiados em câmara de CO₂ no 30° DAI, de acordo com a legislação brasileira.

3.4. Análises laboratoriais

As abreviações de medidas utilizadas nesta pesquisa estão padronizadas pelo Sistema Internacional de Unidades (INMETRO, 2003).

3.4.1. Obtenção dos esporocistos de *Sarcocystis*

A mucosa do intestino delgado foi raspada para obtenção dos esporocistos retidos na lâmina própria (DUBEY et al., 1999b; PORTER et al., 2001).

3.4.2. Digestão

O raspado da mucosa do intestino delgado foi macerado em gral com pistilo e digerido em hipoclorito de sódio aquoso a 10% por 10 minutos em agitador magnético (MEDINGEN SITZ FREITAL, modelo 2374). Após esse processo, o material foi passado em tamis com gaze dupla, depositado em tubo cônico de 15 ml e centrifugado (Centrífuga CELM, Modelo LS-3 Plus) três vezes com solução salina tamponada (PBS) para remoção do cloro. Os esporocistos obtidos foram suspensos em solução salina balanceada de Hanks (HBSS), acrescida de 10mg de estreptomicina, 10.000U de penicilina, 500U de micostatin e 0,05mg de anfotericina B por ml de solução. Os esporocistos foram estocados à temperatura de refrigeração (DUBEY et al., 1999b).

3.4.3. Contagem dos esporocistos e padronização do inóculo

O número de esporocistos (Tabela 1) foi estabelecido de acordo com a metodologia descrita por OLIVEIRA et al. (2001), para contagem de oocistos de *Cystoisospora ohioensis*.

Uma alíquota de 10 l de suspensão de esporocistos foi colocada entre lâmina e lamínula e observada em microscópio óptico (JENAVAL, Zeiss) em aumento de 400x. O número foi obtido pela fórmula $H = n \cdot 100 \cdot v$, onde **n** é o número de esporocistos contidos na alíquota de 10 l, **100** é a correção para 1000 l e **v** o volume total da amostra em ml.

3.5. Infecção experimental em periquitos australianos

3.5.1. Quarentena e adaptação

Os periquitos foram mantidos em isolamento por duas semanas antes da inoculação, recebendo água e alimento *ad libitum*.

Tabela 1- Esporocistos do gênero *Sarcocystis* obtidos de raspado de mucosa intestinal de gambás (*Didelphis aurita*).

Nº	Gambá Origem	Inóculo	Nº de esporocistos	
			Por ml	Total
D1	Seropédica	100 l	260	26
D2	"	200 l	$0,8 \times 10^3$	$0,16 \times 10^3$
D3	"	200 l	$9,18 \times 10^5$	$18,36 \times 10^3$
D4	Campos dos Goytacazes	500 l	NO ¹	NO
D5	"	500 l	NO	NO

¹ Não observado

3.5.2. Inoculação

Foram utilizados 24 periquitos, divididos em três grupos de cinco animais, inoculados com amostras positivas para esporocistos do gênero *Sarcocystis* ao exame microscópico, dois grupos de três animais, inoculados com amostras negativas ao exame microscópico, e um grupo de três animais, inoculado com solução salina em mesmo volume, constituindo o controle (Tabela 2). O inóculo foi depositado diretamente no papo dos animais com auxílio de uma sonda de gavagem, e cada grupo foi mantido separado.

3.6. Acompanhamento clínico da infecção experimental

A cada grupo de animais foi dada ração comercial própria para a espécie e água *ad libitum*. Os periquitos foram observados diariamente a fim de serem verificadas quaisquer alterações clínicas ou óbito.

Tabela 2- Infecção experimental de periquitos australianos (*Melopsittacus undulatus*) com esporocistos do gênero *Sarcocystis* oriundos de raspado de mucosa intestinal de gambás (*Didelphis aurita*).

Grupos	Periquito	Gaiola	Dose (I)
D1	01	A	100
	02	"	"
	03	"	"
	04	"	"
	05	"	"
D2	06	B	200
	07	"	"
	08	"	"
	09	"	"
	10	"	"
D3	11	C	200
	12	"	"
	13	"	"
	14	"	"
	15	"	"
D4	16	D	500
	17	"	"
	18	"	"
D5	19	E	500
	20	"	"
	21	"	"
Controle	31	"	500
	32	"	"
	33	"	"

3.7. Anatomia patológica

Os animais que vieram a óbito ou foram eutanasiados no 30º DAI, foram necropsiados e eviscerados. As amostras de cérebro, língua, coração, pulmões, fígado, baço, musculatura peitoral e musculatura das pernas foram coletadas e fixadas em formalina neutra tamponada a 10%.

3.7.1. Lesões macroscópicas

As lesões macroscópicas foram descritas, com coleta de amostras para posterior avaliação histopatológica.

3.7.2. Histopatologia

Após fixação em formalina neutra tamponada a 10%, os fragmentos dos órgãos foram clivados, processados, incluídos em parafina e cortados em 5 µm. Os cortes foram então corados pelo método de HE.

3.7.3. Decalques de órgãos

Foram realizados decalques de pulmões e baço, quando alterado macroscopicamente, sendo estes fixados em álcool metílico e corados por Giemsa.

3.8. Procedimentos auxiliares

3.8.1. Morfometria

Os esporocistos e cistos musculares foram mensurados com auxílio de ocular micrométrica GF-P16X em microscópio binocular JENAVAL (ZEISS-JENA-

RDA) com ocular micrométrica 15X (PZO-Polônia) e objetiva de 40x e 25x, respectivamente.

3.8.2. Contagem dos cistos

Os cistos musculares foram contados separadamente por periquito infectado e por órgão/tecido, em microscópio binocular JENAVAL com objetiva de 12,5x.

3.8.3. Fotografia

Foram fotografados em microscópio binocular NIKON, modelo ECLIPSE E400, os esporocistos diagnosticados nos raspados de mucosa intestinal, bem como os cistos musculares e os merontes pulmonares observados nos cortes histológicos.

Os fragmentos de órgãos dos animais do grupo-controle e as lesões histopatológicas dos periquitos infectados observadas nos cortes histológicos foram fotografadas em microscópio binocular JENAVAL com auxílio de Câmera Digital Mavica SONY, modelo MVC-CD250.

3.8.4. Análise estatística

Para análise estatística dos dados, foi utilizado o Teste de Tuckey (GOMES, 1984).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Esporocistos do gênero *Sarcocystis* em *Didelphis aurita*

Dos cinco gambás examinados, somente observaram-se esporocistos (Figura 2) de raspado de mucosa do intestino delgado de três animais, oriundos do município de Seropédica, região metropolitana da cidade do Rio de Janeiro. Quanto às medidas dos esporocistos (Tabela 3), estas não são suficientes para determinar à qual espécie pertence, necessitando com isso de infecção experimental para determinação da relação presa-predador, na qual se possa determinar o hospedeiro definitivo com aparecimento dos esporocistos nas fezes e o hospedeiro intermediário, com as formas sistêmicas, ou seja, merontes e cistos. Para determinar o pleomorfismo observado entre os esporocistos das espécies de *Sarcocystis* de gambá, podem-se tomar como base as afirmações de FAYER (1980) e HEMENWAY et al. (2001) de que o tamanho do oocistos ou esporocistos de um coccídia pode variar de acordo com o tamanho da dose infectante e com as amostras de oocistos ou esporocistos obtidas ao longo do período de patência. Da mesma maneira, o pleomorfismo pode estar relacionado com as afinidades entre o parasita e os hospedeiros intermediários ou definitivos (FIGUEIREDO, 1989; BOMFIM e LOPES, 1995; PEREIRA et al., 2001).



Figura 2- *Sarcocystis lindsayi-simile* obtidos de raspado de mucosa de intestino delgado de *Didelphis aurita*. (A) Oocisto esporulado; () parede do oocisto envolvendo os dois esporocistos. (B) Esporocisto; () esporozoíta. Solução saturada de açúcar.

Tabela 3 - Esporocistos do gênero *Sarcocystis* obtidos do intestino delgado de gambás do gênero *Didelphis*.

Espécie	Diâmetros ^a		IM ^b	Hospedeiros		Autores		
	Maior	Menor		Definitivo	Intermediário ^c			
<i>S. falcatula</i>	12,00	7,10	NR ^d	<i>D. virginiana</i>	<i>Melopsittacus undulatus</i>	Cheadle et al. (2001)		
<i>S. lindsayi</i>	12,00	7,00	NR	<i>D. albiventris</i>	"	Dubey et al. (2001)		
<i>S. lindsayi-simile</i>	8,47	0,19	5,68	0,24	1,49	0,05	<i>D. aurita</i>	Presente trabalho

^a Medidas em micrômetros

^b Índice morfométrico

^c Infecção experimental

^d Não referenciado

4.2. Infecção experimental em periquitos australianos (*Melopsittacus undulatus*)

Dos 24 periquitos utilizados na infecção experimental, somente cinco que receberam sedimento de rapado de mucosa de intestino delgado do gambá D1 vieram a desenvolver infecção (Tabela 4). Quanto à utilização de aves como animal experimental para o isolamento e identificação de espécies do gênero *Sarcocystis*, cujo hospedeiro definitivo seja uma espécie do gênero *Didelphis*, a primeira foi relatada por BOX e DUSZYNSKI (1978), quando inocularam pardais e canários com esporocistos obtidos de gambás da espécie *D. virginiana*. Mais tarde, com a descrição de *S. falcatula*, BOX et al. (1984) incluíram o periquito australiano como um hospedeiro intermediário experimental para a identificação de espécies de *Sarcocystis* parasitas de pássaros infectados com esporocistos procedentes de gambás.

Tabela 4- Infecção experimental de *Melopsittacus undulatus* com sedimento de raspado de mucosa do intestino delgado de *Didelphis aurita* oriundos do Estado do Rio de Janeiro.

Gambás	Procedência	Inóculo (I)	Positivos/inoculados
D1	Seropédica	100	5/5
D2	"	200	0/5
D3	"	200	0/5
D4	Campos dos Goytacazes	500	0/3
D5	"	500	0/3

Em todos os periquitos positivos, foram encontradas formas proliferativas, merontes (Figura 3), em endotélio vascular, e cistos, em células de tecido muscular estriado esquelético (Figura 4) e cardíaco (Figura 5), caracterizando a capacidade de não só desenvolver formas proliferativas, merontes, como também a formação final de cistos na musculatura, que o aproximam biologicamente das espécies *S. falcatula* de *D. virginiana* nos EUA (CHEADLE et al., 2001) e *S. lindsayi* de *D. albiventris* no Brasil (DUBEY et al., 2001b).

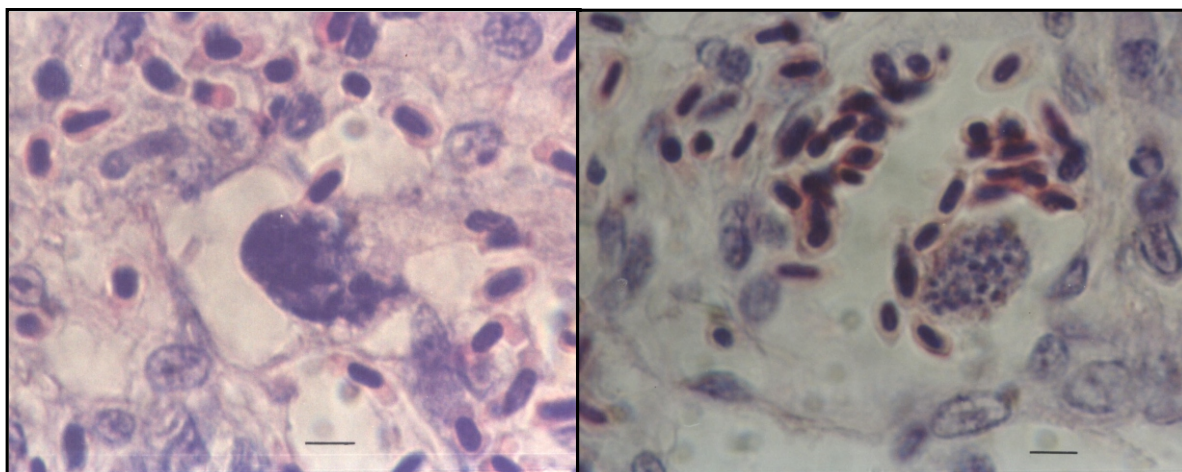


Figura 3- Merontes de *Sarcocystis lindsayi-simile* em endotélio vascular de vênulas do pulmão de *Melopsittacus undulatus* inoculado experimentalmente com 26 esporocistos, 30 dias após a infecção. Meronte imaturo (A) e meronte com merozoítas (B). H.E.

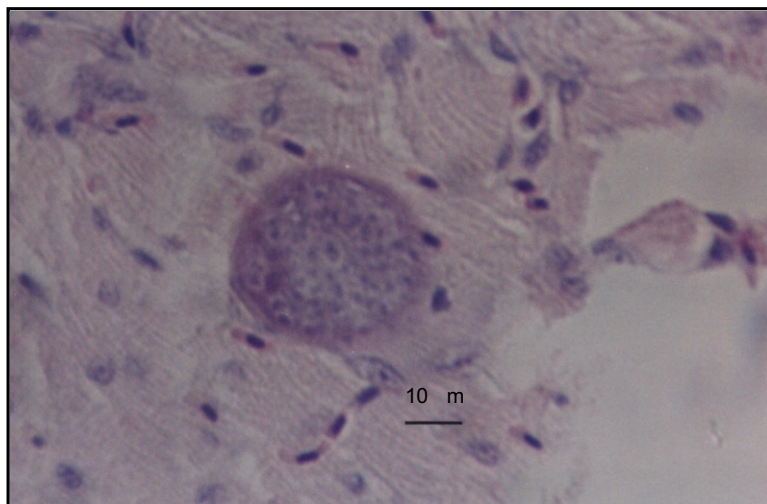


Figura 4- Cisto de *Sarcocystis lindsayi-simile* em célula de tecido muscular estriado esquelético de *Melopsittacus undulatus* inoculado experimentalmente com 26 esporocistos, 30 dias após a infecção (corte transversal). H.E.

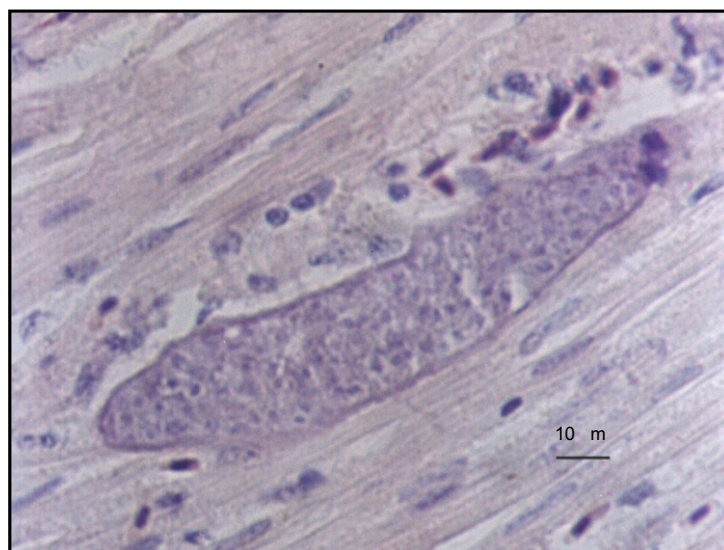


Figura 5- Cisto de *Sarcocystis lindsayi-simile* em célula de tecido muscular estriado cardíaco de *Melopsittacus undulatus* inoculado experimentalmente com 26 esporocistos, 30 dias após a infecção (corte longitudinal). H.E.

4.3. Caracterização morfológica das formas sistêmicas encontradas em periquitos australianos

4.3.1. Merontes

Em todos os animais positivos, foram encontrados merontes (Figura 3) no endotélio vascular de vênulas, localizadas no parênquima pulmonar, onde estes se caracterizaram por aparência esferóide com presença em seu interior de vários merozoítas. Estruturas semelhantes às encontradas para *S. falcatula* (SMITH et al., 1987a,b) e *S. lindsayi* (DUBEY et al., 2001b) em periquitos australianos.

4.3.2. Cistos

Dos sarcocistos observados nos cinco periquitos, vários deles foram encontrados na musculatura peitoral, patas, língua e coração (Tabela 5). A parede desses cistos, apesar de espessa, variou de acordo com o corte histológico observado (1,12 – 0,23 μ m). Observações semelhantes a essa foram feitas por NEILL et al. (1989) para *S. falcatula* e por DUBEY et al. (2001b) para *S. lindsayi*. Além disso, inúmeros cistos foram observados neste trabalho (Figura 6), contendo ainda formas em divisão, metrócitos, sugerindo para estes um longo período para a formação de merozoítas, conforme afirmações de NEILL et al. (1989), SMITH et al. (1989) e DUBEY et al. (2001b).

NEILL et al (1989) verificaram que os cistos de *S. falcatula* no coração e na musculatura peitoral degeneram enquanto cistos na musculatura da perna e da língua amadurecem, sem diferença ultra-estrutural na morfologia do miócito hospedeiro entre cistos em degeneração e maduros. Como o músculo peitoral das aves tem funções especializadas e, provavelmente, um papel bioquímico distinto, presumiram que a musculatura peitoral e cardíaca deve ser deficiente em um ou mais fatores necessários para a maturação do cisto.

Tabela 5- Contagem de cistos de *Sarcocystis lindsayi-simile* em cortes histológicos de órgãos e tecidos de *Melopsittacus undulatus* inoculados com 26 esporocistos.

Periquito	Coração	Língua	Musculatura	
			Peito	Perna
P01	16	91	94	810
P02	17	96	74	163
P03	5	70	18	177
P04	87	724	398	833
P05	36	23	112	495
Total	161	1004	696	2478

Quanto ao número de cistos na musculatura, existem várias afirmações que relacionam a quantidade destes ao número de esporocistos dados ao hospedeiro intermediário. Sobre este aspecto, HEMENWAY et al. (2001) associaram o aumento da dose de esporocistos ao aumento linear dos cistos de *S. falcatula* na musculatura de pássaros da espécie *Molothrus ater*. Ao mesmo tempo, DUBEY et al. (2001b) observaram poucos cistos de *S. lindsayi* na musculatura de periquitos australianos, cuja posição vai de encontro ao que foi observado neste trabalho, segundo o qual, o melhor hospedeiro intermediário é aquele que, ao receber um pequeno número de esporocistos, tem capacidade de produzir um grande número de cistos no hospedeiro intermediário (Tabelas 1 e 5).

Em relação à quantidade de sarcocistos nos periquitos positivos, esses foram observados, em ordem crescente, no coração, peito, língua e perna (Tabela 5), inclusive sendo estatisticamente diferente o número observado na perna em comparação ao coração (Tabela 6). A presença de cistos na musculatura da perna e da língua diferiu quantitativamente em relação à musculatura do peito e coração, sendo bem maior na perna e língua (SMITH et al., 1989; DUBEY, 2000). Tal fato vem corroborar as observações de ataques de gambás a aves domésticas em relatos populares, quando ocorre uma predileção do animal pela ingestão das pernas e da cabeça, aumentando a probabilidade de infecção do hospedeiro definitivo e, conseqüentemente, da perpetuação do parasita.

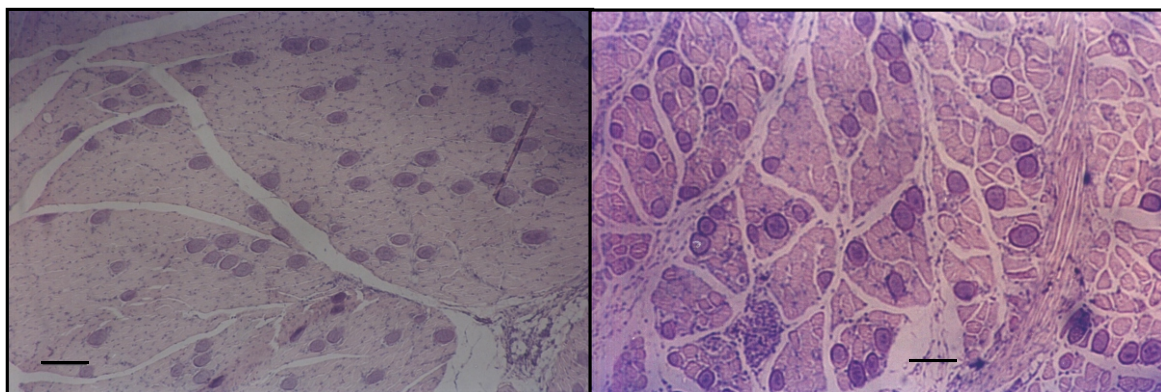


Figura 6- Cistos de *Sarcocystis lindsayi-simile* em células de tecido muscular estriado esquelético de *Melopsittacus undulatus* inoculado experimentalmente com 26 esporocistos, 30 dias após a infecção. Língua (A) e perna (B). H.E.

Tabela 6- Contagem de cistos em cortes histológicos de órgãos e tecidos de periquitos inoculados com 26 esporocistos de *Sarcocystis lindsayi-simile*.

Dados	Coração	Língua	Musculatura	
			Peito	Perna
Média	32,20 ^a	208,00 ^{ab}	139,20 ^{ab}	495,60 ^b
Desvio Padrão	32,60	293,90	148,91	325,89

Médias com letras iguais não diferem ($p > 0,05$) pelo Teste de Tuckey.

As médias das medidas da largura, comprimento e índice morfométrico (IM) dos cistos podem ser observadas na Tabela 7, onde se pode verificar a diferença ($p > 0,05$) entre as medidas de largura e comprimento entre os diversos órgãos e tecidos. A não-diferença estatística de IM entre os diversos órgãos e tecidos sugere uma variação no tamanho, sem alterar a forma do cisto, tanto em cortes histológicos longitudinais quanto em cortes transversais. Desta forma, podemos inferir que os cistos verificados são de uma mesma espécie do gênero *Sarcocystis*.

Outros autores verificaram também variação a nos diâmetros dos cistos, observando-se cistos de até 600 μ m de comprimento por 50 μ m de largura (DUBEY et al., 2001b), o que coincide com os resultados em cortes longitudinais verificados nesta pesquisa (Tabela 7).

4.4. Alterações associadas às formas endógenas do parasita em periquitos australianos

Os sinais clínicos observados em periquitos restringiram-se aos cinco animais inoculados com sedimento de intestino delgado do gambá D1, caracterizando-se por anorexia, letargia, penas arrepiadas e dispnéia, este último acentuado no animal P03. Outros autores também verificaram os mesmo sinais

clínicos em periquitos australianos inoculados com esporocistos de *S. falcatula* (DUBEY et al., 1999b; SPEER e DUBEY, 1999).

Dos periquitos do grupo inoculado com 26 esporocistos de *S. lindsayi-simile*, apenas dois vieram a óbito no 25^o e 29^o DAI. Em experimentos realizados por BOX e SMITH (1982), DUBEY et al. (1999b, 2000), os periquitos australianos inoculados com esporocistos de *S. falcatula* tiveram infecção aguda e vieram a óbito, sem sinais clínicos, entre o 8^o e o 14^o DAI, sem observação de sarcocistos. SMITH et al. (1987a,b, 1989) relataram que há alguma relação entre a intensidade da infecção, ou seja, a dose de esporocistos e a severidade da doença: uma maior dose de esporocistos acarreta uma infecção aguda.

Quanto aos outros periquitos-controle e periquitos inoculados com sedimento de raspado de mucosa intestinal dos gambás D2, D3, D4 e D5, não foi observada nenhuma alteração clínica.

Tabela 7- Medidas dos sarcocistos de *Sarcocystis lindsayi-simile* observados em tecidos e órgãos de periquitos (*Melopsittacus undulatus*) inoculados com 26 esporocistos.

Cistos	Coração		Língua		Musculatura				
					Peito		Perna		
Corte Transversal									
Largura	17,73	5,43 ^a	41,43	4,79 ^b	23,76	6,20 ^a	37,22	5,48 ^b	
Comprimento	12,35	2,98 ^a	27,44	4,49 ^b	17,10	3,24 ^c	26,22	4,56 ^b	
Índice Morfométrico ¹	1,40	0,29 ^a	1,57	0,25 ^a	1,39	0,25 ^a	1,44	0,23 ^a	
Corte Longitudinal									
Largura	65,25	23,25 ^a	92,90	29,32 ^{ab}	101,63	53,12 ^{ab}	118,06	39,17 ^b	
Comprimento	13,98	5,72 ^a	24,77	7,47 ^{bc}	16,80	3,63 ^{ac}	29,38	11,58 ^b	
Índice Morfométrico	5,12	1,81 ^a	3,97	1,65 ^a	6,09	2,66 ^a	4,39	1,64 ^a	

¹ Relação do comprimento sobre a largura.

Médias com letras iguais não diferem (p < 0,05) pelo Teste de Tuckey.

Em relação às alterações macroscópicas (Tabela 8) dos órgãos e tecidos removidos para identificação das formas endógenas, os pulmões e a musculatura estriada esquelética e cardíaca foram os mais importantes na identificação deste parasito.

Os merontes desse parasito foram encontrados nas células endoteliais das vênulas pulmonares, associados, algumas vezes, à hipertrofia da íntima (Figura 7), ao edema e à infiltração perivascular por linfócitos (Figura 8) que, em alguns animais, chegou a comprometer a parede do vaso sanguíneo, caracterizando uma vasculite. Congestão foi observada no pulmão, com maior frequência associada às vênulas. Ao lado disso, foram observadas pequenas áreas de enfisema, sendo que, em um dos animais, a presença de atelectasia envolveu o órgão na sua plenitude (Figura 9).

Hiperplasia do baço (Figura 10) e congestão hepática foram também observadas, sem, contudo, encontrarem-se formas proliferativas do parasito nestes órgãos.

Quanto ao cérebro, observou-se congestão e hemorragia perivascular (Figura 11).

Por outro lado, inúmeros cistos imaturos, caracterizados pela presença de grande número de metrócitos, estavam presentes na musculatura, porém sem reação inflamatória aparente (Figura 12).

Nenhuma lesão significativa foi observada em outros periquitos que receberam sedimento de raspado de mucosa do intestino dos gambás D2, D3, D4 e D5, ou mesmo, naqueles utilizados como controle.

Lesões semelhantes às citadas acima foram também assinaladas anteriormente por SMITH et al. (1987a,b, 1989) e NEILL et al. (1989) em periquitos australianos, quando infectados com *S. falcatula*, elegendo os pulmões como órgão importante para a proliferação de merontes no endotélio das vênulas.

Finalmente, apesar da similaridade entre os achados experimentais encontrados nesta pesquisa e os observados para *S. falcatula* de *D. virginiana* nos EUA (CHEADLE et al., 2001) e *S. lindsayi* de *D. albiventris* no Brasil (DUBEY et al., 2001b), pode-se inferir que, por haver superposição de *habitat* entre *D. aurita* e *D. albiventris* (Figura 1), o parasita em pauta deve ser semelhante ao *S. lindsayi* com base na prova biológica utilizada, sendo este o primeiro relato de *S. lindsayi-simile* em *D. aurita* no Brasil.

Tabela 8- Alterações macroscópicas em órgãos de periquitos (*Melopsittacus undulatus*) infectados com 26 esporocistos de *Sarcocystis lindsayi-simile*.

Observações	Periquitos				
	Eutanasiados ^a			Óbito	
	P01	P03 ^b	P04 ^b	P02 ^c	P05 ^d
Aspectos Gerais					
Caquexia	+	+	++	+	+
Mucosas pálidas	+	+	+	+	+
Icterícia	+	+	++	-	-
Fígado					
Hepatomegalia	+	+	-	++	+
Em noz-moscada	-	-	++	-	-
Áreas amareladas	+	-	-	-	+
Coloração esverdeada	-	-	++	-	-
Consistência friável	-	-	-	+	-
Baço					
Esplenomegalia	+	+	++++	-	-
Palidez	+	+	-	-	-
Estrias esbranquiçadas	-	-	+	-	-
Pulmões					
Hepatização	+	+	-	-	-
Áreas amareladas	+	-	-	-	-
Volume aumentado	+	+	+	+	+
Cérebro					
Hiperemia de vasos	+	+	+	-	-

^a 30° dia após a inoculação (DAI)

^b Animal moribundo

^c 29° DAI

^d 25° DAI

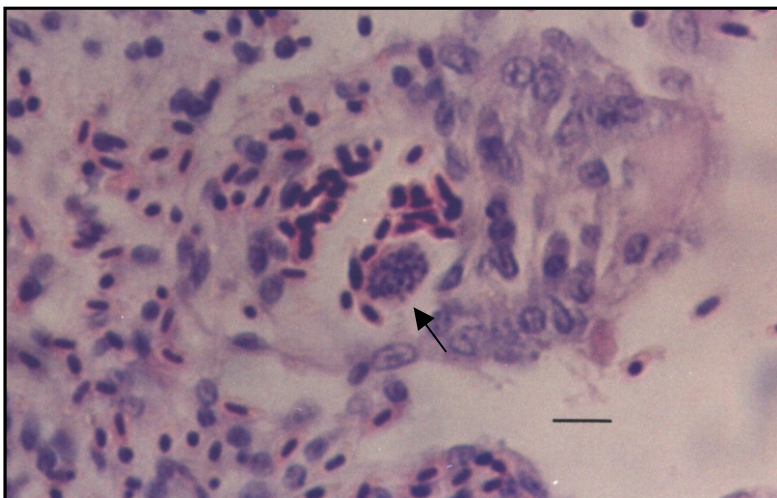


Figura 7- Corte histológico de pulmão de *Melopsittacus undulatus* inoculado experimentalmente com 26 esporocistos, 30 dias após a infecção. () Meronte em vênula. () Hipertrofia da íntima. H.E.

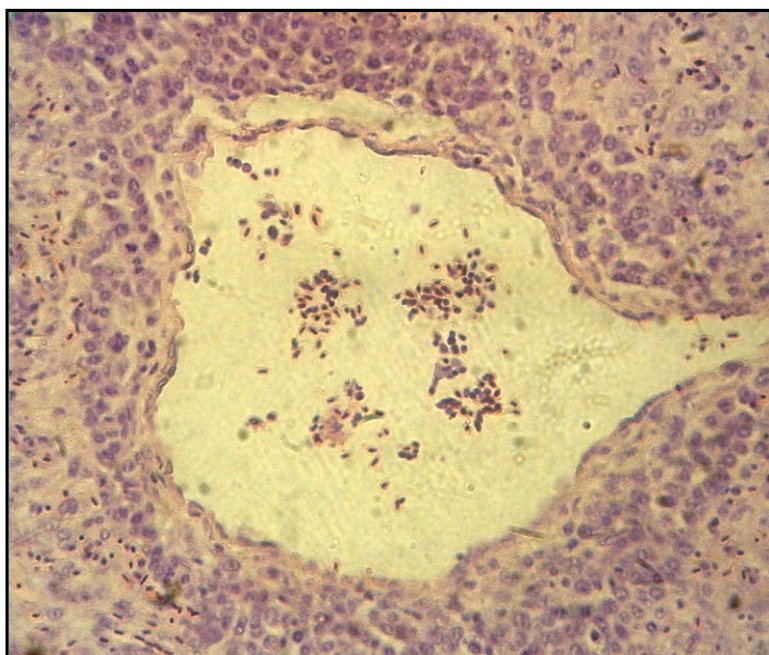


Figura 8- Edema e infiltrado perivascular de linfócitos em pulmão de *Melopsittacus undulatus* inoculado experimentalmente com 26 esporocistos, 30 dias após a infecção. H.E., 400x.

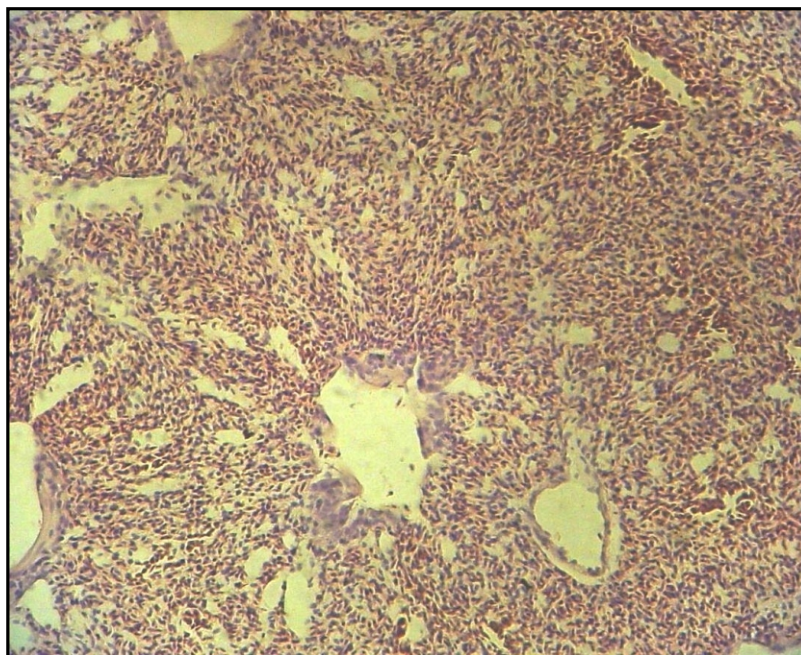


Figura 9- Atelectasia em pulmão de *Melopsittacus undulatus* inoculado experimentalmente com 26 esporocistos, 30 dias após a infecção. H.E., 400x.

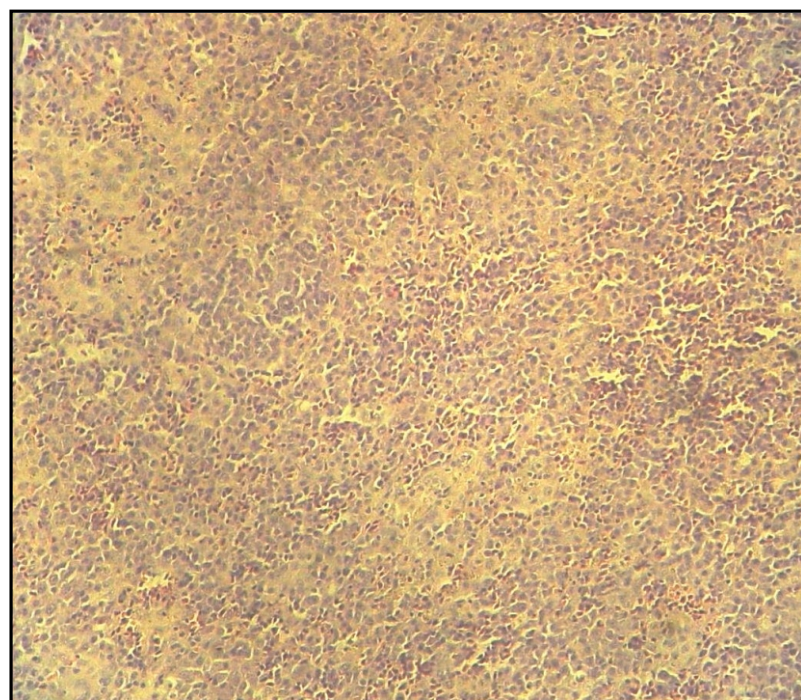


Figura 10- Hiperplasia linfóide de baço de *Melopsittacus undulatus* inoculado experimentalmente com 26 esporocistos, 30 dias após a infecção. H.E., 400x.

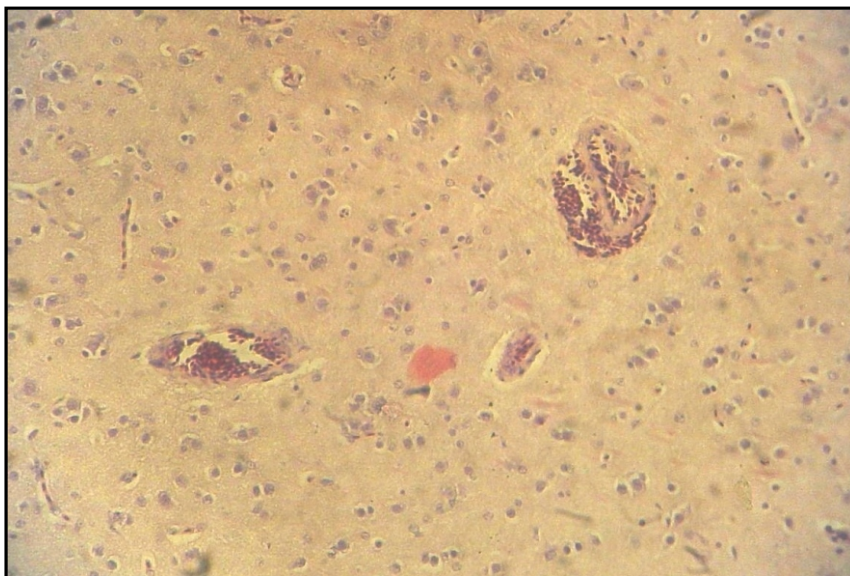


Figura 11- Congestão e hemorragia perivascular em cérebro de *Melopsittacus undulatus* inoculado experimentalmente com 26 esporocistos, 30 dias após a infecção. H.E., 400x.

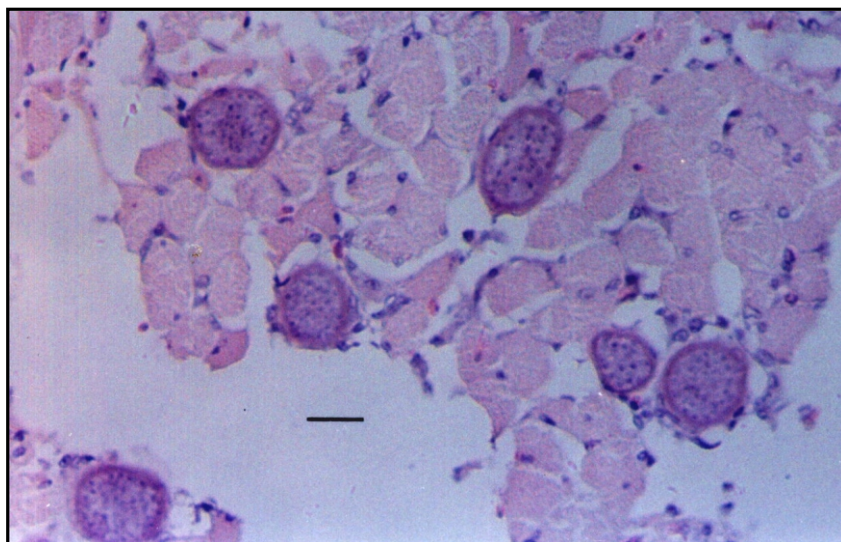


Figura 12- Cistos imaturos em células da musculatura estriada esquelética da língua de *Melopsittacus undulatus* inoculado experimentalmente com 26 esporocistos, 30 dias após a infecção. H.E.

5. CONCLUSÃO

Após análise dos resultados, podemos chegar às seguintes conclusões:

1. O parasita observado nesta pesquisa é semelhante ao *Sarcocystis lindsayi*;
2. Os esporocistos obtidos do raspado de mucosa intestinal do gambá D1 da espécie *Didelphis aurita* foram patogênicos para periquitos australianos;
3. Os órgãos de eleição para as formas proliferativas foram os pulmões, enquanto para os cistos, a musculatura estriada esquelética; e
4. As lesões observadas foram mais acentuadas nos pulmões, onde foram observadas as formas proliferativas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARROS, C.S.L., BARROS, S.S., SANTOS, M.N. (1986) Equine protozoal myeloencephalitis in southern Brazil. *Vet. Rec.*, 119: 283-284.
- BARUTZKI, D., ERBER, M., BOCH, J. (1981) Möglichkeiten der Desinfektion bei Kokzidiose (*Eimeria*, *Isospora*, *Toxoplasma*, *Sarcocystis*). *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.*, 94: 451-455.
- BENTZ, B.G., GRANSTROM, D.E., STAMPER, S. (1997) Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses residing in a county of southeastern Pennsylvania. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 210: 517-518.
- BLYTHE, L.L., GRANSTROM, D.E., HANSEN, D.E., WALKER, L.L., BARTLETT, J., STAMPER, S. (1997) Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses residing in Oregon. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 210: 525-527.
- BOMFIM, T.C.B., LOPES, C.W.G. (1995) Aspectos comparativos dos oocistos de *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae), procedentes de suínos (*Sus scrofa domestica*), camundongos (*Mus musculus*) e ratos (*Rattus rattus*) coabitando o mesmo local. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 4: 29-32.

- BOWMAN, D.D., CUMMINGS, J.F., DAVIS, S.W., DELAHUNTA, A., DUBEY, J.P., SUTER, M.M., ROWLAND, P.H., CORNER, D.L. (1992) Characterization of *Sarcocystis neurona* from a thoroughbred with equine protozoal myeloencephalitis. *Cornell Vet.*, 82: 41-52.
- BOX, E.D., DUSZYNSKI, D.W. (1978) Experimental transmission of *Sarcocystis* from icterid birds to sparrows and canaries by sporocysts from the opossum. *J. Parasitol.*, 64: 682-688.
- BOX, E.D., SMITH, J.H. (1982) The intermediate host spectrum in a *Sarcocystis* species of birds. *J. Parasitol.*, 68: 608-673.
- BOX, E.D., MEIER, J.L., SMITH, J.H. (1984) Description of *Sarcocystis falcatula* Stiles, 1893, a parasite of birds and opossums. *J. Protozool.*, 31: 521-524.
- BOY, M.G., GALLIGAN, D.T., DIVERS, T.J. (1990) Protozoal encephalomyelitis in horses: 82 cases (1972-1986). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 196: 632-634.
- BRASIL. Assembléia Legislativa do Estado do Rio de Janeiro. *Lei nº 3900 de julho de 2002*. Rio de Janeiro, RJ, 2002; <http://notes.a.../3a78021f7425852103256c0504f796f> em 19/10/02.
- BRASIL. Conselho Federal de Medicina Veterinária. *Resolução nº 714 de 20 de junho de 2002*. Brasília, DF, 2002; <http://www.cfmv.org.br/res714.htm> em 19/10/02.
- CAWTHORN, R., REDUKER, D.W., SPEER, C.A., DUBEY, J.P. (1986) In vitro excystation of *Sarcocystis capracanis*, *Sarcocystis cruzi*, and *Sarcocystis tenella* (Apicomplexa). *J. Parasitol.*, 72: 880-884.
- CHEADLE, M.A., DAME, J.B., GREINER, E.C. (2001) Sporocyst size of isolates of *Sarcocystis* shed by the Virginia opossum (*Didelphis virginiana*). *Vet. Parasitol.*, 95:305-311.
- CHEADLE, M.A., LINDSAY, D.S., ROWE, S., DYKSTRA, C.C., WILLIAMS, M.A., SPENCER, J.A., TOIVIO-KINNUCAN, M.A., LENZ, S.D., NEWTON, J.C., ROLSMA, M.D., BLAGBURN, B.L. (2000) Erratum to Prevalence of *Neospora* species in horses from Alabama and characterization of an isolate recovered from a naturally infected horse. *Int. J. Parasitol.*, 30: 677.

- CHOBOTAR B., SCHOLTYSECK, E. (1982) Ultrastructure. In: LONG, P.L. (ed) *The biology of coccidia*. Baltimore: University Park Press, p. 101. Apud SMITH, J.H., MEIER, J.L., NEILL, P.J.G., BOX, E.D. (1987a) Pathogenesis of *Sarcocystis falcatula* in the budgerigar. I. Early pulmonary schizogony. *Lab. Invest.*, 56: 60-71.
- CLUBB, S.L., FRENKEL, J.K. (1992) *Sarcocystis falcatula* of opossums: transmission by cockroaches with fatal pulmonary disease in psittacine birds. *J. Parasitol.*, 78: 116-124.
- CUTLER, T.J., MACKAY, R.J., GINN, P.E., GREINER, E.C., PORTER, R., YOWELL, C.A., DAME, J.B. (1999) Are *Sarcocystis neurona* and *Sarcocystis falcatula* synonymous? A horse infection challenge. *J. Parasitol.*, 85: 301-305.
- DAME, J.B., MACKAY, R.J., YOWELL, C.A., CUTLER, T.J., MARSH, A., GREINER, E.C. (1995) *Sarcocystis falcatula* from passerine and psittacine birds: synonymy with *Sarcocystis neurona*, agent of equine protozoal myeloencephalitis. *J. Parasitol.*, 81: 930-935.
- DUBEY, J.P. (1976) A review of *Sarcocystis* of domestic animals and of other coccidia of cats and dogs. *J. Am. Med. Vet. Assoc.*, 169: 1061-1078.
- DUBEY, J.P. (1982a) Development of ox-cat cycle of *Sarcocystis hirsuta*. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.*, 49: 295-304.
- DUBEY, J.P. (1982b) Quantitative parasitemia in calves fed *Sarcocystis cruzi* sporocysts from coyotes. *Am. J. Vet. Res.*, 43: 1085-1086.
- DUBEY, J.P. (1992) *Toxoplasma*, *Neospora*, *Sarcocystis*, and other tissue cyst-forming coccidia of humans and animals. In: KREIER, J. P. (ed.) *Parasitic protozoa*. 2. ed. San Diego: Academic Press, p. 1-131.
- DUBEY, J.P. (2000) Prevalence of *Sarcocystis* species sporocysts in wild-caught opossums (*Didelphis virginiana*). *J. Parasitol.*, 86: 705-710.
- DUBEY, J.P., LINDSAY, D.S. (1996) A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol.*, 67: 1-59.
- DUBEY, J.P., LINDSAY, D.S. (1998) Isolation in immunodeficient mice of *Sarcocystis neurona* from opossum (*Didelphis virginiana*) faeces, and its differentiation from

Sarcocystis falcatula. *Int. J. Parasitol.*, 28: 1823-1828.

- DUBEY, J.P., LINDSAY, D.S. (1999) *Sarcocystis speeri* n. sp. (Protozoa: Sarcocystidae) from the opossum (*Didelphis virginiana*). *J. Parasitol.*, 85: 903-909.
- DUBEY, J.P., DAVIS, S.W., SPEER, C.A., BOWMAN, D.D., DELAHUNTA, A., GRANSTROM, D.E., TOPPER, M.J., HAMIR, A.N., CUMMINGS, J.F., SUTER, M.M. (1991) *Sarcocystis neurona* n. sp. (Protozoa: Apicomplexa), the etiological agent of equine protozoal myeloencephalitis. *J. Parasitol.*, 77: 212-218.
- DUBEY, J.P., KERBER, C.E., GRANSTROM, D.E. (1999a) Serologic prevalence of *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* in horses from Brazil. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 215: 970-972.
- DUBEY, J.P., LINDSAY, D.S., KERBER, C.E., KASAI, N., PENA, H.F.J., GENNARI, S.M., KWOK, O.C.H., SHEN, S.K., ROSENTHAL, B.M. (2001a) First isolation of *Sarcocystis neurona* from the South America opossum, *Didelphis albiventris*, from Brazil. *Vet. Parasitol.*, 95: 295-304.
- DUBEY, J.P., LINDSAY, D.S., REZENDE, P.C.B., COSTA, A.J. (2000a) Characterization of an unidentified *Sarcocystis falcatula*-like parasite from the South America opossum, *Didelphis albiventris* from Brazil. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 47: 538-544.
- DUBEY, J.P., LINDSAY, D.S., VENTURINI, L., VENTURINI, C. (2000b) Characterization of *Sarcocystis falcatula* isolates from the Argentinian opossum, *Didelphis albiventris*. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 47: 260-263.
- DUBEY, J.P., ROSENTHAL, B.M., SPEER, C.A. (2001b) *Sarcocystis lindsayi* n. sp. (Protozoa: Sarcocystidae) from the South American opossum, *Didelphis albiventris* from Brazil. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 48: 595-603.
- DUBEY, J.P., SPEER, C.A., EPLING, G.P. (1982) Sarcocystosis in newborn calves fed *Sarcocystis cruzi* sporocysts from coyotes. *Am. J. Vet. Res.*, 43: 2147-2164.
- DUBEY, J.P., SPEER, C.A., FAYER, R. (1989) *Sarcocystosis of animals and man*. Boca Raton: CRC Press, 215p.
- DUBEY, J.P., SPEER, C.A., LINDSAY, D.S. (1998) Isolation of a third species of *Sarcocystis* in immunodeficient mice fed feces from opossums (*Didelphis virginiana*) and its differentiation from *Sarcocystis falcatula* and *Sarcocystis neurona*. *J.*

Parasitol., 84: 1158-1164.

DUBEY, J.P., VENTURINI, L., VENTURINI, C., BASSO, W., UNZAGA, J. (1999b) Isolation of *Sarcocystis falcatula* from the South American opossum (*Didelphis albiventris*) from Argentina. *Vet. Parasitol.*, 86: 239-244.

DUBEY, J.P., VENTURINI, M.C., VENTURINI, L., MCKINNEY, J., PECORARO, M. (1999c) Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses from Argentina. *Vet. Parasitol.*, 86: 59-62.

DUSZYNSKI, D. W., BOX, E. D. (1978) The opossum (*Didelphis virginiana*) as a host for *Sarcocystis debonei* from cowbird (*Molothrus ater*) and grackles (*Cassidix mexicanus*, *Quiscalus quiscula*). *J. Parasitol.*, 64: 326-329.

FAYER, R. (1974) Development of *Sarcocystis fusiformis* in the small intestine of the dog. *J. Parasitol.*, 60: 660-665.

FAYER, R. (1975) Effect of refrigeration, cooking and freezing on *Sarcocystis* in beef from retail food stores. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.*, 42: 138-140.

FAYER, R. (1980) Epidemiology of protozoan infections: the Coccidia. *Vet. Parasitol.*, 6: 75-103.

FAYER, R., JOHNSON, A.J. (1974) *Sarcocystis fusiformis*: development of cysts in calves infected with sporocysts from dogs. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.*, 41: 105-108.

FAYER, R., LEEK, R.G., LYNCH, G.P. (1982) Attempted transmission of *Sarcocystis bovicanis* from cows to calves via colostrum. *J. Parasitol.*, 68: 1127-1129.

FAYER, R., MAYHEW, I.G., BAIRD, J.D., DILL, S.G., FOREMAN, J.H., FOX, J.C., HIGGINS, R.J., REED, S.M., RUOFF, W.W., SWEENEY, R.W. (1990) Epidemiology of equine protozoal myeloencephalitis in North America based on histologically confirmed cases. A report. *J. Vet. Intern. Med.*, 4: 54-57.

FENGER, C.K., GRANSTROM, D.E., GAJADHAR, A.A., WILLIAMS, N.M., MCCRILLIS, S.A., STAMPER, S., LANGEMEIER, J.L., DUBEY, J.P. (1997) Experimental induction of equine protozoal myeloencephalitis in horses using *Sarcocystis* sp. sporocysts from the opossum (*Didelphis virginiana*). *Vet. Parasitol.*,

68: 199-213.

- FENGER, C.K., GRANSTROM, D.E., LANGEMEIER, J.L., GAJADHAR, A., COTHRAN, G., TRAMONTIN, R.R., STAMPER, S., DUBEY, J.P. (1994) Phylogenetic relationship of *Sarcocystis neurona* to other members of the family Sarcocystidae based on small subunit ribosomal RNA gene sequence. *J. Parasitol.*, 80: 966-975.
- FENGER, C.K., GRANSTROM, D.E., LANGEMEIER, J.L., STAMPER, S., DONAHUE, J.M., PATTERSON, J.S., GAJADHAR, A.A., MARTENIUK, J.V., XIAOMIN, Z., DUBEY, J.P. (1995) Identification of opossums (*Didelphis virginiana*) as the putative definitive host of *Sarcocystis neurona*. *J. Parasitol.*, 81: 916-919.
- FIGUEIREDO, P.C. (1989) *Espécies dos gênero Sarcocystis LANKESTER, 1882 (Apicomplexa: Sarcocystidae) parasitos de ruminantes domésticos que têm o cão como hospedeiro definitivo: morfologia, biologia e diagnóstico*. Tese (Doutorado em Parasitologia) Seropédica RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro UFRRJ, 124p.
- FISHMAN, A.P. (ed) (1982) Endothelium. *Ann. NY Acad. Sci.*, 401:1. *Apud* SMITH, J.H., MEIER, J.L., NEILL, P.J.G., BOX, E.D. (1987a) Pathogenesis of *Sarcocystis falcatula* in the budgerigar. I. Early pulmonary schizogony. *Lab. Invest.*, 56: 60-71.
- GALLETI, M. (2002) *Guia de Mamíferos da Mata Atlântica*; <http://www.rc.unesp.br/ib/ecologia/caeco/4.pdf> em 01/07/03.
- GOMES, F.P. (1984) *A estatística moderna na pesquisa agropecuária*. Piracicaba: POTAFOS, 160p.
- GRANSTROM, D.E., ALVAREZ, JR., O., DUBEY, J.P., COMER, P.F., WILLIAMS, N.M. (1992) Equine protozoal myelitis in panamanian horses and isolation of *Sarcocystis neurona*. *J. Parasitol.*, 78: 909-912.
- HAMIR, A.N., TORNQUIST, S.J., GERROS, T.C., TOPPER, M.J., DUBEY, J.P. (1998) *Neospora caninum*-associated equine protozoal myeloencephalitis. *Vet. Parasitol.*, 79: 269-274.
- HEMENWAY, M.P., AVERY, M.L., GINN, P.E., SCHAACK, S., DAME, J.B., GREINER, E.C. (2001) Influence of size of sporocyst inoculum upon the size and number of sarcocysts of *Sarcocystis falcatula* which develop in the brown-headed cowbird. *Vet.*

Parasitol., 95: 321-326.

HEYDORN, A.O. (1977) Beiträge zum lebenszyklus der Sarkosporidien. IX. Entwicklungszyklus von *Sarcocystis sui hominis* n. spec. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.*, 90: 218-224.

HEYDORN, A.O. (1980) Zur widerstandsfähigkeit von *Sarcocystis bovicanis*-sporozysten. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.*, 93: 267-270.

HEYDORN, A.O. (1985) Zur entwicklung von *Sarcocystis arieticanis* n. sp. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.*, 98: 231-241.

HEYDORN, A.O., GESTRICH, R. (1976) Beiträge zum lebenszyklus der Sarkosporidien. VII. Entwicklungsstadien von *Sarcocystis ovicanis* im schaf. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.*, 89: 1-5.

HEYDORN, A.O., KARAER, Z. (1986) Zur schizogonie von *Sarcocystis ovicanis*. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.*, 99: 185-189.

HEYDORN, A.O., UNTERHOLZNER, J. (1983) Zur Entwicklung von *Sarcocystis hircicanis* n. sp. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.*, 96: 275-282.

HEYDORN, A.O., GESTRICH, R., MEHLHORN, H., ROMMEL, M. (1975) Proposal for a new nomenclature of the Sarcosporidia. *Z. Parasitenkd*, 48: 73-82.

INMETRO (2003) *Sistema internacional de unidades*. 8. ed. Rio de Janeiro: Inmetro, 116p.

LEVINE, N.D. (1986) The taxonomy of *Sarcocystis* (Protozoa, Apicomplexa) species. *J. Parasitol.*, 72: 372-382.

LEGUÍA, G. (1991) The epidemiology and economic impact of llama parasites. *Parasitol. Today*, 7: 54-56.

MACRUZ, R., LENCI, O., ISHIZUKA, M.M. (1975) Toxoplasmosis in the equine: serological evaluation. *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 12: 277.

MACKAY, R.J. (1997) Equine protozoal myeloencephalitis. *Vet. Clin. N. Am. Equine Pract.*, 13: 79-96.

- MACKAY, R.J., GRANSTROM, D.E., SAVILLE, W.J., REED, S.M. (2000) Equine protozoal myeloencephalitis. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 16: 405-425.
- MARSH, A.E., BARR, B.C., LAKRITZ, J., NORDHAUSEN, R., MADIGAN, J.E., CONRAD, P.A. (1997a) Experimental infection of nude mice as a model for *Sarcocystis neurona*-associated encephalitis. *Parasitol. Res.*, 83: 706-711.
- MARSH, A.E., BARR, B.C., MADIGAN, J., LAKRITZ, J., NORDHAUSEN, R., CONRAD, P.A. (1996) Neosporosis as a cause of equine protozoal myeloencephalitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 209: 1907-1913.
- MARSH, A.E., BARR, B.C., TELL, L., KOSKI, M., GREINER, E., DAME, J., CONRAD, P.A. (1997b) In vitro cultivation and experimental inoculation of *Sarcocystis falcatula* and *Sarcocystis neurona* merozoites into budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *J. Parasitol.*, 83: 1189-1192.
- MASRI, M.D., ALDA, J.L., DUBEY, J.P. (1992) *Sarcocystis neurona*-associated ataxia in horses in Brazil. *Vet. Parasitol.*, 44: 311-314.
- NEILL, P.J.G., SMITH, J.H., BOX, E.D. (1989) Pathogenesis of *Sarcocystis falcatula* (Apicomplexa: Sarcocystidae) in the budgerigar (*Melopsittacus undulatus*). IV. Ultrastructure of developing, mature and degenerating sarcocysts. *J. Protozool.*, 36: 430-437.
- OBENDORF, D.L., MUNDAY, B.L. (1987) Experimental infection with *Sarcocystis medusiformis* in sheep. *Vet. Parasitol.*, 24: 59-65.
- OLIVEIRA, F.C.R., ALBUQUERQUE, G.R., LOPES, C.W.G., MASSAD, F.V., MUNHOZ, A.D. (2001) Hipnozoítas de *Cystoisospora ohioensis* (Dubey, 1975) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) recuperados de órgãos de camundongos através da digestão péptica. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 10: 29-35.
- PEREIRA, M.J.S., FONSECA, A.H., LOPES, C.W.G. (2001) Regressão linear na caracterização de variações morfométricas em coccídia. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 10: 75-78.
- PORTER, R.A., GINN, P.E., DAME, J.B., GREINER, E.C. (2001) Evaluation of the shedding of *Sarcocystis falcatula* sporocysts in experimentally infected Virginia

- opossums (*Didelphis virginiana*). *Vet. Parasitol.*, 95: 313-319.
- POWELL, E.C., PEZESHKPOUR, G., DUBEY, J.P., FAYER, R. (1986) Types of myofibers parasitized in experimentally induced infections with *Sarcocystis cruzi* and *Sarcocystis capracanis*. *Am. J. Vet. Res.*, 47: 514-517.
- PRICKETT, M.E. (1967) Equine spinal ataxia. In: *Proceedings of the American Association of Equine Practitioners 14th Annual Convention*, St. Louis, 147p.
- ROONEY, J.R., PRICKETT, M.E., DELANEY, F.M., CROWE, M.W. (1970) Focal myelitis-encephalitis in horses. *Cornell Vet.*, 60: 494-501.
- ROSENTHAL, B.M., LINDSAY, D.S., DUBEY, J.P. (2001) Relationships among *Sarcocystis* species transmitted by New World opossums (*Didelphis* spp.). *Vet. Parasitol.*, 95: 133-142.
- ROSSANO, M.G., KANEENE, J.B., MARTENIUK, J.V., BANKS, B.D., SCHOTT II, H.C., MANSFIELD, L.S. (2001) The seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in Michigan equids. *Prev. Vet. Med.*, 48: 113-128.
- RUIZ, A., FRENKEL, J.K. (1976) Recognition of cyclic transmission of *Sarcocystis muris* by cats. *J. Infect. Dis.*, 133: 409-418.
- SAVILLE, W.J., REED, S.M., GRANSTROM, D.E., HINCHCLIFF, K.W., KOHN, C.W., WITTUM T.E., STAMPER, S. (1997) Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses residing in Ohio. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 210: 519-524.
- SHEFFIELD, H.G., FAYER, R. (1980) Fertilization in the coccidia: fusion of *Sarcocystis bovicanis* gametes. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.*, 47: 118-121.
- SILVA, J., ROSSI, R.V. Gambá; <http://www.editorasaraiva.com.br/biosonialopes> em 01/07/03.
- SIMPSON, C.F., MAYHEW, I.G. (1980) Evidence for *Sarcocystis* as the etiologic agent of equine protozoal myeloencephalitis. *J. Protozool.*, 27: 288-292.
- SMITH, J.H., CRAIG, T.M., DILLARD III, E.A., NEILL, P.J.G., JONES, L.P. (1990a) Naturally occurring apicomplexan acute interstitial pneumonitis in thick-billed parrots (*Rhynchopsitta pachyrhyncha*). *J. Parasitol.*, 76: 285-288.

- SMITH, J.H., MEIER, J.L., NEILL, P.J.G., BOX, E.D. (1987a) Pathogenesis of *Sarcocystis falcatula* in the budgerigar. I. Early pulmonary schizogony. *Lab. Invest.*, 56: 60-71.
- SMITH, J.H., MEIER, J.L., NEILL, P.J.G., BOX, E.D. (1987b) Pathogenesis of *Sarcocystis falcatula* in the budgerigar. II. Pulmonary pathology. *Lab. Invest.*, 56: 72-84.
- SMITH, J.H., NEILL, P.J.G., BOX, E.D. (1989) Pathogenesis of *Sarcocystis falcatula* (Apicomplexa: Sarcocystidae) in the budgerigar (*Melopsittacus undulatus*). III. Pathologic and quantitative parasitologic analysis of extrapulmonary disease. *J. Parasitol.*, 75: 270-287.
- SMITH, J.H., NEILL, P.J.G., DILLARD III, E.A., BOX, E.D. (1990b) Pathology of experimental *Sarcocystis falcatula* infections of canaries (*Serinus canarius*) and pigeons (*Columba livia*). *J. Parasitol.*, 76: 59-68.
- SPEER, C.A., DUBEY, J.P. (1999) Ultrastructure of schizonts and merozoites of *Sarcocystis falcatula* in the lungs of budgerigars *Melopsittacus undulatus*. *J. Parasitol.*, 85: 630-637.
- STILES, C.W. (1893) On the presence of Sarcosporidia in birds. *USDA Bur. Anim. Indus. Bull.*, 3:79-88. *Apud* DUBEY, J.P., ROSENTHAL, B.M., SPEER, C.A. (2001b) *Sarcocystis lindsayi* n. sp. (Protozoa: Sarcocystidae) from the South American opossum, *Didelphis albiventris* from Brazil. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 48: 595-603.
- SUNQUIST, M.E., EISENBERG, J.F. (1993) Reproductive strategies of female *Didelphis*. *Bull. Fl. Museum Nat. History*, 36: 109-140.
- TANHAUSER, S.M., YOWELL, C.A., CUTLER, T.J., GREINER, E.C., MACKAY, R.J., DAME, J.B. (1999) Multiple DNA markers differentiate *Sarcocystis neurona* and *Sarcocystis falcatula*. *J. Parasitol.*, 85: 221-228.
- TILLOTSON, K., MCCUE, P.M., GRANSTROM, D.E., DARGATZ, D.A., SMITH, M.O., TRAUB-DARGATZ, J.L. (1999) Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses residing in northern Colorado. *J. Equine Vet. Sci.*, 19: 122-126.