

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS AGROPECUÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

BRENDA SAICK PETRONETO

**DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO DA SARCOCISTOSE EM ATOBÁS-PARDO -
Sula leucogaster (BODDAERT, 1783) ENCALHADOS NOS LITORAIS DO RIO DE
JANEIRO, SÃO PAULO E SANTA CATARINA - BRASIL**

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

2022

BRENDA SAICK PETRONETO

**DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO DA SARCOCISTOSE EM ATOBÁS-PARDO -
Sula leucogaster (BODDAERT, 1783) ENCALHADOS NOS LITORAIS DO RIO DE
JANEIRO, SÃO PAULO E SANTA CATARINA - BRASIL**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agrárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, na área de concentração de Sanidade Animal.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Eulógio Carlos Queiróz de Carvalho

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

2022

BRENDA SAICK PETRONETO

DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO DA SARCOCISTOSE EM ATOBÁS-PARDO -
Sula leucogaster (BODDAERT, 1783) ENCALHADOS NOS LITORAIS DO RIO DE
JANEIRO, SÃO PAULO E SANTA CATARINA - BRASIL

Projeto de dissertação apresentado ao Centro de Ciências e Tecnologias Agrárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção de título de Mestre em Ciência Animal, na área de concentração de Sanidade Animal.

Aprovado em 15 de fevereiro de 2022.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Drº. Renato Luíz Silveira
Universidade Federal Fluminense - UFF

Prof. Drº. Hassan Jerdy Leandro
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF

Prof. Drº. Raphael Mansur Medina
Universidade Iguazu - UNIG

Prof. Drº. Eulógio Carlos Queiróz de Carvalho
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro- UENF
Orientador

Dedico a minha mãe Eliana Saick Petroneto (in memoriam), um exemplo de ser humano, amiga e admirável professora, que me ensinou o amor pelo estudo, e a coragem frente aos desafios.

AGRADECIMENTOS

Uma grande etapa profissional e acadêmica se encerra nesse momento, uma etapa que foi planejada desde a graduação, uma etapa cheia de desafios, mas também cheia de aprendizados e de oportunidades. Certamente, houveram muitos dias difíceis, obstáculos e o receio de não conseguir estiveram presentes. Desta forma, fechar essa etapa agradecendo a todos que se fizeram tão importantes nesse caminho para mim é fundamental.

Agradeço a Deus pela proteção, e por estar comigo em todos os momentos.

Aos meus pais, Dreivison Henrique Hackbart Petroneto e Eliana Saick Petroneto (*in memoriam*), por me apoiarem nos estudos, me incentivando em cada etapa da vida a sempre buscar o melhor aprendizado, por me ensinarem sobre a honestidade e respeito.

À minha irmã Nicolý Saick Petroneto, por ser minha melhor amiga, por me apoiar, por ouvir todas as minhas histórias, pelos conselhos compartilhados todos os dias, e por entender a minha ausência em momentos difíceis.

Agradeço especialmente a minha avó Ercina Hackbart Petroneto, meu grande exemplo de trabalho, força e serviço. Por sempre me apoiar desde o início da graduação, por ser meu ponto de apoio nos dias de hoje. A minha tia Graciele Hackbart Petroneto, pelo carinho, e ao meu tio Vanderlei Saick, pelo apoio.

À minha amiga Bruna Fernandes Calegari, pelos anos de amizade, pela confiança, e pela parceria que formamos desde a graduação. À amiga Gabriela Bravim Lemos que esteve presente em todos os momentos, dando força e apoio. Compartilhamos muitos momentos e histórias.

Ao meu orientador Professor Dr. Eulógio Carlos Queirós de Carvalho, um exemplo de profissional a ser seguido, agradeço imensamente pela oportunidade e por compartilhar sua experiência com grande sabedoria, estando sempre pre disposto a ensinar com maestria e paciência.

A todos os colaboradores, residentes, bolsistas e demais pós-graduandos do Setor de Patologia Animal do Laboratório de Morfologia e Patologia Animal (SPA/LMPA UENF), em toda a ajuda técnica, contribuindo para minha adaptação e aprendizado nessa jornada. Em especial a Elisabeth Gonçalves Pires, que sempre esteve paciente em me ensinar e me auxiliar no que fosse preciso.

Aos colegas médicos veterinários do SPA, Dr. Hassan Jerdy Leandro e Dra. Rachel Bittencourt Ribeiro Rodrigues, responsáveis pelas análises histopatológicas e laudos técnicos.

Agradeço especialmente a amiga e colega de estudos Gêssica Vieira Gomes por toda a ajuda, você foi essencial na minha pesquisa, e me ensinou e ensina todos os dias.

Aos amigos e mestres que a UENF me apresentou, e os que me acompanham desde a graduação, que foram tão essenciais desde o início da jornada, que se fazem importantes na minha história, Professora Dra. Helena Kiyomi Hokamura, Natiele da Silva Gonçalves e Raiany Resende Moura.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão do auxílio financeiro.

Agradeço a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, pela oportunidade de fazer parte do seu grupo de discentes pós-graduandos.

Á todos os colegas médicos veterinários do Programa de Monitoramento de Praias (PMP – ICMBio) envolvidos nas pesquisas, necrópsias e coletas de material e amostras a campo: CTA Serviços em Meio ambiente, Instituto Gremar, Instituto Biopesca, Instituto Argonauta, Associação R3 Animal, Instituto de Pesquisa Cananeia- IPEC e Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC).

Á todos os animais que participaram desse estudo, contribuindo para novas descobertas.

RESUMO

PETRONETO, BRENDA SAICK. **Diagnóstico histopatológico da sarcocistose em atobás-pardo - *Sula leucogaster* (Boddaert, 1783) encalhados nos litorais do Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina – Brasil.** 2022. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, 2022.

A Sarcocistose é uma afecção parasitária, causada por um protozoário do gênero *Sarcocystis* spp., que possui grande importância em saúde pública. É um parasito intracelular obrigatório que acomete várias espécies animais como, cães, raposas, seres humanos, bovinos, passeriformes e aves marinhas. Sabe-se que as aves marinhas vêm sofrendo há vários anos com a ação antrópica, com as mudanças e invasões dos seus habitats o que, conseqüentemente, impelem esses animais a mudarem seus hábitos migratórios, alimentares, comportamentais e reprodutivos, além de serem observadas extinções ou decréscimos de suas populações. Além disso, não há dados documentados em relação ao diagnóstico de *Sarcocystis* sp. em *Sula leucogaster*, bem como a descrição dos achados histopatológicos dessa enfermidade nessas aves. Objetiva-se com este estudo relatar os primeiros casos de Sarcocistose muscular em atobás-pardo no Brasil, tal como realizar a descrição histopatológica desta parasitose em *Sula leucogaster*. Realizou-se um estudo retrospectivo analisando e utilizando dados extraídos de 496 fichas obtidas através do Sistema de Informação de Monitoramento da Biota Aquática (SIMBA), o qual disponibiliza um compilado de informações inerentes às aves *Sula leucogaster*, necropsiadas no período de setembro de 2015 a dezembro de 2018, em praias distintas dos Estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina. As amostras foram fixadas em formalina neutra tamponada à 10% e encaminhadas ao Setor de Patologia Animal (LMPA) da UENF, no qual foram submetidas as etapas de histotécnica, e posteriormente, examinadas em microscópio óptico, permitindo o diagnóstico genérico conclusivo de Sarcocistose muscular e cerebral em aproximadamente 64 (12,90%) aves. Os parasitos, se apresentavam como cistos intracelulares, de dimensões variáveis, mais abundantes nas musculaturas estriadas esquelética e cardíaca, olhos (músculo esfíncter da pupila e músculo dilatador da pupila); traqueia, língua, esôfago, orofaringe, pro-ventrículo e cérebro. Através dos resultados obtidos pode-se concluir que a análise histopatológica e coloração de rotina HE mostra-se como uma excelente ferramenta diagnóstica para protozooses musculares, o que permite, além de tudo, agregar avanços aos conhecimentos acerca das doenças parasitárias que acometem esses indivíduos, os quais são excelentes subsídios para a conservação dessas espécies e novas formas de manejo e tratamento.

PALAVRAS-CHAVE: Atobá-pardo; Histopatologia; Sarcocistose.

ABSTRACT

PETRONETO, BRENDA SAICK. **Histopathological diagnosis of sarcocystosis in brown booby - *Sula leucogaster* (Boddaert, 1783) stranded on the coast of Rio de Janeiro, São Paulo and Santa Catarina - Brazil.** 2022. Dissertation (Master Science) - Center for Agricultural Sciences and Technologies, State University of the North Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, 2022.

Sarcocystosis is a parasitic condition caused by a protozoan of the genus *Sarcocystis spp.*, which is of great importance in public health. It is an obligatory intracellular parasite that affects several animal species such as dogs, foxes, humans, cattle, passerines and sea birds. It is known that seabirds have been suffering for several years with anthropic action, with changes and invasions of their habitats, which, consequently, impel these animals to change their migratory, feeding, behavioral and reproductive habits, in addition to being observed extinctions or decreases in their populations. Furthermore, there are no documented data regarding the diagnosis of *Sarcocystis spp.* in *Sula leucogaster*, as well as the description of the histopathological findings of this disease in these birds. The aim of this study is to report the first cases of muscular sarcocystosis in brown boobies in Brazil, as well as to perform the histopathological description of this parasitosis in *Sula leucogaster*. A retrospective study was carried out analyzing and using data extracted from 496 files obtained through the Aquatic Biota Monitoring Information System (SIMBA), which provides a compilation of information inherent to *Sula leucogaster* birds, necropsied in the period from September 2015 to December 2018, on different beaches in the States of Rio de Janeiro, São Paulo and Santa Catarina. The samples were fixed in 10% neutral buffered formalin and sent to the Animal Pathology Sector (LMPA) of UENF, where they were submitted to the histotechnical steps, and later, examined under an optical microscope, allowing the conclusive generic diagnosis of muscular and brain sarcocystosis in approximately 64 (12.90%) birds. The parasites presented as intracellular cysts, of variable dimensions, more abundant in the striated skeletal and cardiac musculature, eyes (pupil sphincter muscle and pupil dilator muscle); trachea, tongue, esophagus, oropharynx, proventricle and brain. Through the results obtained, it can be concluded that the histopathological analysis and routine HE staining is an excellent diagnostic tool for muscle protozooses, which allows, moreover, to add advances in knowledge about the parasitic diseases that affect these individuals, which are excellent subsidies for the conservation of these species and new forms of management and treatment.

KEY-WORDS: Brown-booby; Histopathological; Sarcocystosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES E FIGURAS

- FIGURA 1:** Figura 1 - Classificação Taxonômica dos Parasitos do Gênero *Sarcocystis* spp. Fonte: adaptado, Llano (2019). 17
- FIGURA 2:** Fotomicrografia de Oocistos esporulados de *Sarcocystis* spp. em amostra fecal úmida em esfregaços da mucosa intestinal de uma águia do mar (*Haliaeetus albicilla*). A primeira micrografia em menor aumento demonstra vários oocistos na mucosa, e a segunda em maior aumento diversos esporocistos esporulados de parede fina (setas). Fonte: adaptado, Gjerde et al. (2018) 18
- FIGURA 3:** Diversos cistos de *Sarcocystis* spp. em músculo peitoral de uma ave da espécie *Cacicus haemorrhous*. Os cistos possuem tamanho aproximado de 2-4mm de comprimento, de aspecto esbranquiçado e ondulado, orientados longitudinalmente. Fonte: Llano (2019) 19
- FIGURA 4:** Fotomicrografia de cortes transversais de dois sarcocistos de parede fina em uma seção histológica do músculo cardíaco de uma águia de cauda branca do mar (Barra = 20 µm). A - Perfil razoavelmente grande de um cisto repleto de bradizoítos. B: Perfil menor de um sarcocisto contendo várias células arredondadas na periferia. Coloração em HE, Fonte: adaptado, Gjerde et al. (2018) 19
- FIGURA 5:** Esquema ilustrando o ciclo de vida dos protozoários do gênero *Sarcocystis* spp. Fonte: adaptado Valadas (2015); Llano (2019) 21
- FIGURA 6:** Demonstração gráfica das classes de vertebrados que já foram identificados na literatura como hospedeiros intermediários e definitivos de *Sarcocystis* spp. Fonte: Adaptado, Llano (2019) 22
- FIGURA 7:** Fotomacrografia de Atobá-pardo, evidenciando sua coloração pardo-escura, com peito posterior e barriga brancos. Fonte: adaptado, Voitina (2017)..... 25
- FIGURA 8:** Fotomicrografia de um corte transversal do músculo estriado esquelético normal de um frango de corte, corado por HE. Fonte: adaptado, Madeira et al. (2006) 28
- FIGURA 9:** Cortes histológicos de coração de um pinguim-de-magalhães, corado por hematoxilina-eosina (HE). A) Musculatura cardíaca, corte terço médio. B) Musculatura cardíaca, direções das fibras musculares: transversais (seta tracejada) e longitudinais (seta simples). Fonte: adaptado, Guimarães et al. (2018) 29
- FIGURA 10:** Fotomacrografia de um exemplar de *S. leucogaster*, encalhado na Praia de Ilha Comprida, São Paulo, demonstrando as medições realizadas a campo (A), e medições realizadas em laboratório para identificação do espécime (B,C,D), seguidas das primeiras técnicas necroscópicas (E,F). Fonte: Adaptado, SIMBA (2020) 32

FIGURA 11: Mapas com destaques das Praias onde foram realizados os estudos no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Fonte: Google Mapas, 2021 34

FIGURA 12: Mapas com destaques das Praias onde foram realizados os estudos no Estado de São Paulo, Brasil. Fonte: Google Mapas, 2021. 35

FIGURA 13: Mapa com destaques das Praias onde foram realizados os estudos no Estado de São Paulo, Brasil. Fonte: Google Mapas, 2021. 35

FIGURA 14: Gráfico demonstrando as aves da espécie *S. leucogaster* e seus principais sítios/órgãos de infecção por *Sarcocystis spp* Ressalta-se que todas as aves demonstraram parasitismo em mais de um local, concomitante. 37

FIGURA 15: Fotomicrografia de cistos íntegros de diversos tamanhos, com formato alongado e fusiforme, e formato puntiforme, de *Sarcocystis spp.* distribuídos de forma multifocal. Não se observou associação a células gigantes ou demais células inflamatórias causadoras de miosite. A- Cistos paralelos as fibras musculares esqueléticas repletos de bradizoítos (setas). Aumento: 20X. B- Cisto paralelo (seta) as fibras musculares esqueléticas repleto de bradizoítos, adjacente a um peri-neuro em permeio a musculatura. Aumento: 20X. C – Diversos cistos paralelos as fibras musculares cardíacas de aspecto puntiforme Aumento: 20X. D- Cisto de aspecto fusiforme parasitando as células cardíacas paralelo à um vaso sanguíneo. Aumento: 20X. Coloração de HE. Fonte: LMPA UENF, 2021. 38

FIGURA 16: Fotomicrografia de cistos de diversos tamanhos, com formato alongado e fusiforme, e formato puntiforme, de *Sarcocystis spp.* distribuídos de forma multifocal. A- Cistos paralelos as fibras musculares esqueléticas (músculo esfíncter e dilatador da pupila) repletos de bradizoítos (setas pretas). Aumento Obj: 5X. B- Cisto degenerado, observado em maior aumento presente no músculo esfíncter e dilatador da pupila. Observa-se irregularidade da cápsula associado a presença de eosinófilos adjacentes, podendo indicar uma discreta área focal de miosite eosinofílica/heterofílica (setas vermelhas). Aumento Obj: 20X. C- Cistos de aspecto puntiforme observados na traqueia (setas pretas). Aumento Obj: 10X. D- Cistos de aspecto puntiforme observados na orofaringe (setas pretas). Aumento Obj: 5X. Coloração de HE. Fonte: LMPA UENF, 2021..... 39

FIGURA 17: Fotomicrografia corada em HE, com aumento de Obj. 10X (A) e 40X (B), demonstrando um cisto íntegro de *Sarcocystis spp.* localizado na região cerebelar (camada molecular), com perda da arquitetura normal adjacente, próximo a meninge, e presença de células dispersas da camada da granulosa (células nervosas). Nota-se que nas estruturas adjacentes ao cisto não se observam células com características inflamatórias. Fonte: LMPA-UENF, 2021..... 40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

RNA: Ácido Ribonucleico

PCR: Reação em Cadeia pela Polimerase

ATP: Adenosina Tri Fosfato

UENF: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

UDESC: Universidade do Estado de Santa Catarina

LMPA: Laboratório de Morfologia e Patologia Animal

SMAP: Setor de Morfologia e Anatomia Patológica

HE: Hematoxilina e Eosina

HI: Hospedeiro Intermediário

HD: Hospedeiro Definitivo

HP: Hospedeiro Paratênico

PAS: Ácido Periódico de Schiff

COX1: Ciclo Oxigenase 1

SIMBA: Sistema de Monitoramento da Biota Aquática

IPEC: Instituto de Pesquisa Cananeia

<: Menor

_>: Maior ou Igual

X: Aumento do Microscópio Eletrônico

µm: Micrômetro

®: Marca Registrada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS GERAIS	14
3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
4. JUSTIFICATIVA	15
5. REVISÃO DE LITERATURA	16
5.1 SARCOCISTOSE	16
5.1.1 Identificação de <i>Sarcocystis spp.</i>	17
5.1.2 Ciclo Evolutivo de <i>Sarcocystis spp.</i>	20
5.1.3 Patogenia	23
5.1.4 Diagnóstico de <i>Sarcocystis spp.</i>	24
5.2 ATOBÁ-PARDO (<i>Sula leucogaster</i>) (BODDAERT, 1783)	25
5.3 HISTOLOGIA DO MÚSCULO ESTRIADO ESQUELÉTICO	26
5.4 HISTOLOGIA DO MÚSCULO ESTRIADO CARDÍACO	28
5.5 IMPORTÂNCIA DA SARCOCISTOSE EM SAÚDE PÚBLICA	29
6. MATERIAL E MÉTODOS	31
6.1 ESTUDO RETROSPECTIVO	31
6.2 PROCEDÊNCIA DAS AMOSTRAS	32
6.3 PREPARAÇÕES E ANÁLISES DAS LÂMINAS HISTOLÓGICAS	32
6.4 ÁREAS DE ESTUDO	33
6.4.1 Características Geográficas Do Ambiente Costeiro Em Estudo	36
6.5 CÁLCULO DE PREVALÊNCIA E GRÁFICOS	36
7. RESULTADOS	37
8. DISCUSSÃO	41
9. CONCLUSÃO	46
10. REFERÊNCIAS	47

1. INTRODUÇÃO

A Sarcocistose é uma afecção parasitária, causada por um protozoário do gênero *Sarcocystis* spp. (ALVES et al. 2018) que possui grande importância em saúde pública, por possuir os subtipos *S. hominis* e *S. suihominis*, considerados zoonóticos para espécie humana, através do consumo de carne e produtos cárneos dos hospedeiros intermediários, crus ou mal-cozidos contendo cistos do protozoário (ROMMEL, 1985). É um parasito intracelular obrigatório que acomete várias espécies animais (ALVES et al. 2018), dentre elas: cães, gatos, raposas, seres humanos (CAWTHORN et al. 1981; WICHT, 1981; PRAKAS et al. 2015), bovinos (ALVES et al. 2018), camelos (DUBEY, 2015), passeriformes e aves marinhas (PRAKAS et al. 2011; GJERDE et al. 2017).

As aves marinhas formam um grupamento diversificado de espécies que se adaptaram com grande aplicabilidade ao meio, sendo representadas por 310 espécies, dentre elas 179 são observadas na costa brasileira, classificadas em seis ordens, a saber: Sphenisciformes (pinguins), Procellariiformes (albatrozes e petreus), Phaethontiformes (rabos-de-palha), Suliformes (fragatas e atobás), Pelecaniformes (pelicanos, garças e íbis) e Charadriiformes (maçaricos, gaivotas e trinca-réis). Ademais, o Brasil é o país com um dos maiores registros de aves marinhas do mundo, o que demonstra sua importância ao se tratar da conservação destas espécies (SCHRAMM, 2018). Em suma, as aves podem ser portadoras de diversas enfermidades parasitárias e infecciosas, possuindo consequentemente fortes impactos em saúde pública, bem como na conservação da vida silvestre (SATO, 2018).

Dentre tais espécies de aves há o Atobá-pardo (*S. leucogaster*), uma ave marinha que nidifica em ilhas costeiras e oceânicas situadas dentro da zona tropical de todos os oceanos (BRANCO et al. 2001), sendo o representante mais comum da família *Sulidae* na costa brasileira (CARDOSO et al. 2020). Uma das suas características é o dimorfismo sexual evidente, sendo as fêmeas maiores que os machos, com reprodução contínua e assincronizada (BRANCO et al. 2001). Contudo, por se tratar de uma espécie cosmopolita e habitar diversas regiões costeiras do Brasil, tais indivíduos podem atuar como importantes reservatórios de parasitos, participando intimamente da cadeia de disseminação de infecções para outras espécies de aves e animais.

De acordo com Llano (2019) cerca de 30 espécies de *Sarcocystis spp.* foram identificadas em aves silvestres, podendo o *S. falcatula* e o *S. calchasi* ser considerados patogênicos à hospedeiros excepcionais. Contudo, os estudos relacionados à diversidade de *Sarcocystis sp.* em aves na América do Sul ainda são escassos.

Diante do exposto, tornam-se fundamentais estudos mais detalhados sobre os potenciais efeitos negativos e biológicos do gênero *Sarcocystis spp.* e seus subtipos nessas aves. Ao passo, que as aves *S. leucogaster* podem ser consideradas importantes sentinelas de condições diversas, bem como bioindicadoras naturais. Além disso, há a possibilidade de se expandir os conhecimentos de hábitos biológicos, perfil epidemiológico, e ascensão nas formas de conservação das populações de aves marinhas da zona costeira brasileira (BRANCO, 2004). Em consonância, a pesquisa epidemiológica de agentes parasitários e os conhecimentos acerca de seus comportamentos em uma população de aves marinhas é de extrema transcendência, pois impulsiona medidas de controle e prevenção.

Desta forma, propõe-se no presente estudo relatar os primeiros casos de Sarcocistose musculoesquelética, cardíaca e cerebral em atobás-pardo no Brasil e descrever microscopicamente as lesões pelo *Sarcocystis spp.* em aves da espécie *S. leucogaster*.

2. OBJETIVOS GERAIS

Objetivou-se com este estudo relatar os primeiros casos de Sarcocistose musculoesquelética e muscular cardíaca, e Sarcocistose cerebral em atobás-pardo no Brasil, demonstrando a variabilidade de infecção entre os indivíduos, relacionando a taxa de prevalência dessa protozoose. Além disso, buscou-se realizar a descrição histopatológica deste parasito em *Sula leucogaster*, a fim de evidenciar os aspectos macroscópicos e microscópicos da infecção gerada por este coccídeo. Enfatizando as aves marinhas encalhadas no litoral do Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina, diagnosticados previamente pela histopatologia.

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Relatar os primeiros casos de Sarcocistose muscular, cardíaca e cerebral em atobás-pardo no Brasil e no mundo;
- Realizar a descrição histopatológica de *Sarcocystis* spp. em aves marinhas da espécie *Sula leucogaster*;
- Avaliar a prevalência de *Sarcocystis* spp. nas populações de *Sula leucogaster* na zona costeira, do sudeste e sul brasileiro;
- Comparar as taxas de infecção nas aves utilizando a variável gênero;
- Comparar as taxas de infecção nas aves utilizando a variável maturidade sexual;
- Comparar as taxas de infecção nas aves utilizando a variável maturidade sexual versus gênero.

4. JUSTIFICATIVA

As aves marinhas vêm sofrendo há vários anos com a ação antrópica, mudanças e invasão de seus *habitats*, e conseqüentemente impelindo esses animais a mudarem seus hábitos migratórios, alimentares, comportamentais e reprodutivos, além de serem observados extinções ou decréscimos de suas populações. Conhecimentos acerca das doenças parasitárias que acometem esses indivíduos são excelentes subsídios para a biologia e conservação dessas espécies e novas formas de manejo e tratamento.

Desta forma, o presente estudo torna-se de grande importância em razão dos ínfimos índices de relatos sobre a infecção parasitária causada por *Sarcocystis* spp. em aves da espécie *Sula Leucogaster*, além de não haver dados em relação á histopatologia referente a esta enfermidade nessa espécie de aves marinhas. Contudo, os dados na literatura especializada sobre incidência e/ou prevalência e subespécies parasitárias dessa afecção nessa espécie de aves no Brasil é insuficiente, além disso, poucos relatos são descritos no continente sul- americano.

Destaca-se ainda que os indivíduos que participarão dessa pesquisa serão provenientes do litoral sul e sudeste brasileiro, inseridos dentro dos biomas da Mata Atlântica e áreas remanescentes de restingas, os quais encontram-se devastados e

fragmentados em pequenas reservas, que abrangem a zona costeira. Contudo, o registro do *Sarcocystis* spp. na musculatura de aves silvestres constituir-se-á uma evidência do papel desses indivíduos como hospedeiros intermediários dessa afecção, bem como a inferência sobre a ocorrência real da infecção (LLANO; 2019).

A Sarcocistose é uma doença de origem parasitária e caráter zoonótico, e novas descobertas nesse campo serão de grande contribuição, principalmente em relação à descrição histopatológica, e em saúde pública, através do conhecimento de novos hospedeiros, e cadeias de disseminação de infecções para o homem, e outras espécies animais.

5. REVISÃO DE LITERATURA

5.1 SARCOCISTOSE

A Sarcosporidiose ou Sarcocistose é causada por um parasito intracelular obrigatório, denominado *Sarcocystis* spp. Foi relatado pela primeira vez na Suíça por Miescher em 1843, quando observou cistos longos, finos e brancos nos músculos de um rato doméstico, cujo nome e identificação científica não eram descritos (CASTRO-FORERO et al. 2020; QUADROS et al. 2019), contudo, foram designados, portanto, como “Túbulos de Miescher” (DUARTE, 2017).

Posteriormente, em 1865 Kühn identificou estruturas semelhantes no músculo de um porco (DUARTE, 2017), no entanto, este gênero de parasito foi descrito pela primeira vez por Lankester em 1882 após sua experimentação em ratos (FAYER; 2004). O nome do gênero *Sarcocystis*, deriva do Grego sarkos, que significa carne e kystis, que significa quisto. Desde então, sempre que estes quistos filiformes eram observados no músculo de um hospedeiro diferente, foram classificados como espécies diferentes (DUARTE, 2017).

Pertencente à família Sarcocystidae, a qual segundo Urquhart (1998) compreende cerca de 200 espécies de coccídeos heteroxenos que formam cistos teciduais em hospedeiros intermediários, classe conoidasida, subclasse coccidia, subfamília *Sarcocystinae* (GUILLEN; 2011), ordem Eucoccidiorida, subclasse Coccidiasina (Figura 1), normalmente apresentam multiplicação por esquizogonia ou por endodiogenia (CASTRO-FORERO et al. 2020; QUADROS et al. 2019).

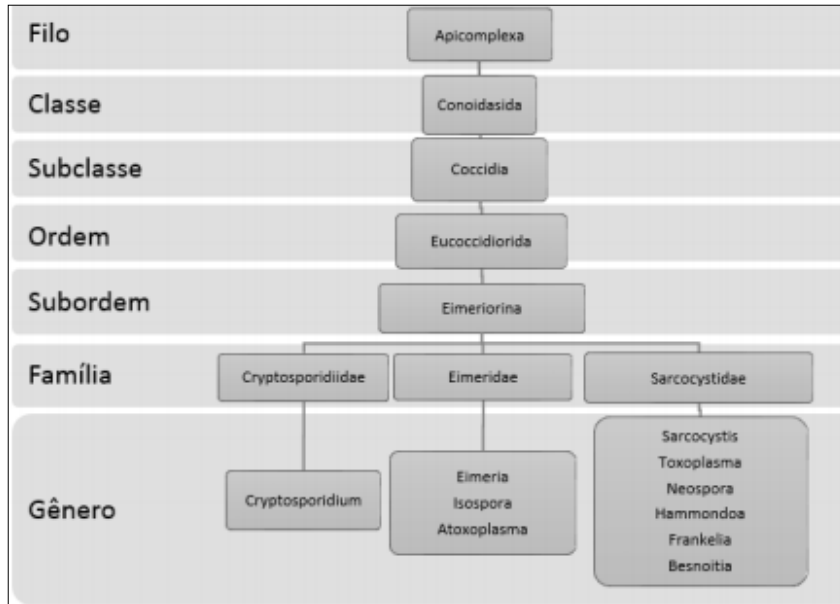


Figura 1 - Classificação Taxonômica dos Parasitos do Gênero *Sarcocystis* spp. Fonte: adaptado, Llano (2019).

Além disso, são classificados como pertencentes ao filo Apicomplexa (CASTRO-FORERO et al. 2019), pois desenvolvem em alguma fase de sua vida, uma estrutura chamada complexo apical que tem como função a fixação e penetração do parasito nas células dos hospedeiros (GUILLEN; 2011). É normalmente encontrado parasitando a musculatura estriada de mamíferos domésticos como bovinos, equinos, bubalinos e suínos, além de mamíferos silvestres, bem como aves, peixes e répteis (PEREIRA; CARVALHO, 1989).

5.1.1 Identificação de *Sarcocystis* spp.

Quando observados em forma de oocistos nas fezes dos hospedeiros, são esporulados e contém dois esporocistos, cada um deles com quatro esporozoítos, normalmente o esporocisto esporulado é encontrado livre nas fezes (URQUAHRT; 1998) (Figura 2).

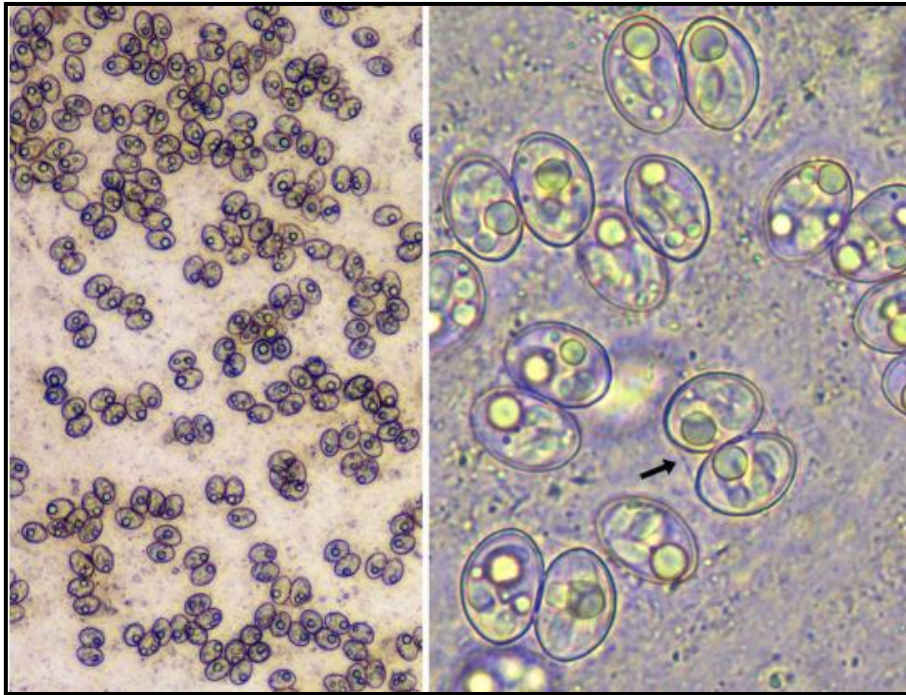


Figura 2: Fotomicrografia de Oocistos esporulados de *Sarcocystis* spp. em amostra fecal úmida em esfregaços da mucosa intestinal de uma águia do mar (*Haliaeetus albicilla*). A primeira micrografia em menor aumento demonstra vários oocistos na mucosa, e a segunda em maior aumento diversos esporocistos esporulados de parede fina (setas). Fonte: adaptado, Gjerde et al. (2018).

A infecção tecidual por *Sarcocystis* spp. apresenta características como a ocorrência de esquizontes nas células endoteliais dos hospedeiros intermediários, apresentando-se com diâmetro bem pequeno, de aproximadamente dois a oito micrômetros. Na sequência, os bradizoítos formam cistos na musculatura estriada dos hospedeiros intermediários que podem ser grandes o bastante para serem observados a olho nu. Macroscopicamente, apresentam estrias esbranquiçadas que seguem a direção da fibra muscular (URQUHART, 1998; MARTINS, 2019) (Figura 3).

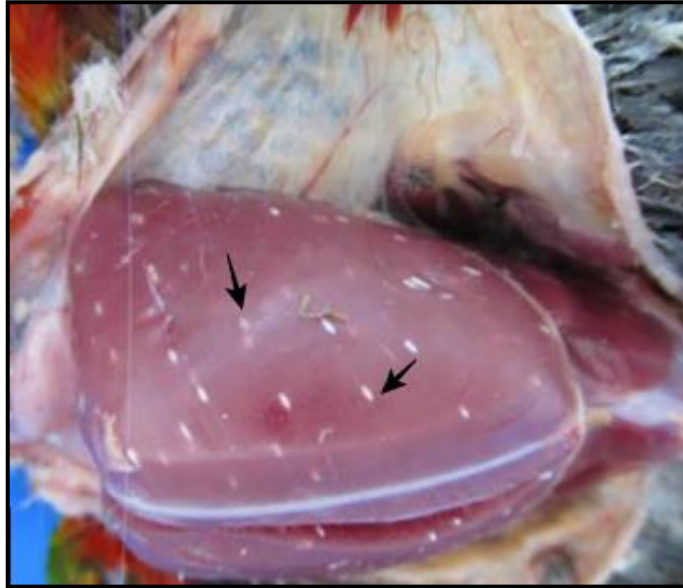


Figura 3: Diversos cistos de *Sarcocystis* spp. em músculo peitoral de uma ave da espécie *Cacicus haemorrhous*. Os cistos possuem tamanho aproximado de 2-4mm de comprimento, de aspecto esbranquiçado e ondulado, orientados longitudinalmente. Fonte: Llano (2019).

O cisto consiste em uma parede que circunda os estágios de metrócitos ou bradizoítas do parasito. As características histológicas do cisto consistem em parede lisa, ou estriada, ou filamentosa, ou apresentando complexas projeções ramificadas (Figura 4). Internamente, os grupos de bradizoítas são divididos em compartimentos limitados por septos que se originam na parede do sarcocisto, porém, podem não ser compartimentalizados (STABENOW, 2004).

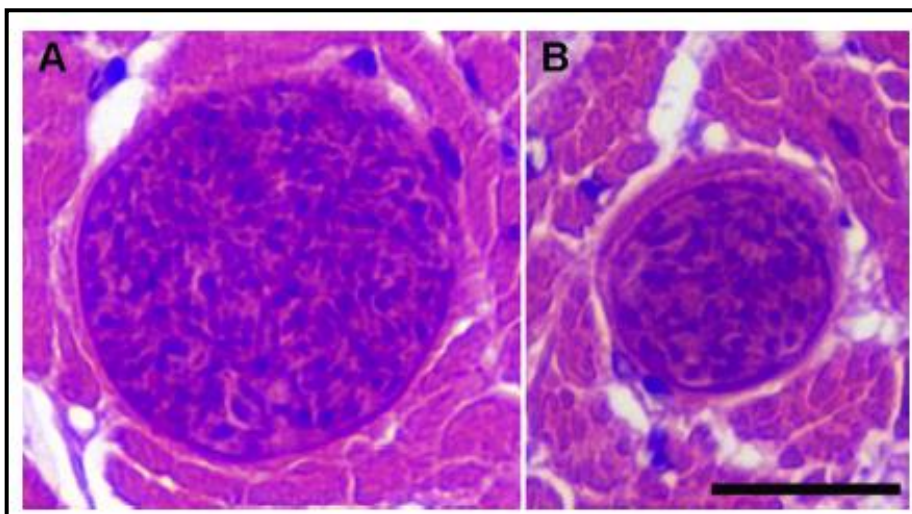


Figura 4 – Fotomicrografia de cortes transversais de dois sarcocistos de parede fina em uma seção histológica do músculo cardíaco de uma águia de cauda branca do mar (Barra = 20 µm). A - Perfil razoavelmente grande de um cisto repleto de bradizoítas. B: Perfil menor de um sarcocisto contendo várias células arredondadas na periferia. Coloração em HE, Fonte: adaptado, Gjerde et al. 2018.

5.1.2 Ciclo Evolutivo de *Sarcocystis* spp.

Sarcocystis spp. são protozoários intracelulares heteroxenos obrigatórios que necessitam de um hospedeiro intermediário (HI), normalmente a presa, que pode ser um herbívoro ou onívoro, para a fase assexuada de seu ciclo e um hospedeiro definitivo (HD), o predador, normalmente um carnívoro vertebrado, onde o parasito realiza a fase sexuada (GONÇALVES et al. 2016; CASTRO-FORERO et al. 2020).

O ciclo se inicia após o HI ingerir esporocistos através de alimentos contaminados, e posteriormente infectar-se. Tais esporocistos se desencistam liberando esporozoítos, que através da corrente sanguínea chegam às células endoteliais de vários órgãos, dentre eles o fígado e os pulmões (URQUART,1998; MARTINS 2019). Posteriormente, ocorre um processo de esquizogonia e os merozoítos se distribuem para atingir a musculatura estriada cardíaca ou esquelética (MARTINS, 2019), bem como, ocasionalmente, no sistema nervoso central e nas fibras de Purkinje do coração (PORTELLA, 2015). Formam-se então metrócitos, que se multiplicam por endodiogenia, dando origem aos bradizoítos em forma de banana, que estão em um cisto septado, este formato é o Sarcocisto maduro e constitui o estágio infectante para o hospedeiro final carnívoro (URQUHART,1998; PORTELLA, 2015; MARTINS 2019).

Após o HD ingerir os sarcocistos maduros presentes na musculatura do HI, as enzimas proteolíticas liberam os bradizoítos no intestino delgado e estômago, nos quais movem-se penetrando na lâmina própria do intestino delgado, e posteriormente realizam a reprodução sexuada (VALADAS, 2015), onde se diferenciam em micro e macrogametócitos (URQUHART,1998). Adicionalmente, ocorre a gametogonia, na qual evoluem para um zigoto dentro do epitélio, ocorrendo a formação de oocistos não esporulados de paredes finas (URQUHART,1998; VALADAS, 2015). Ocasionalmente, formam-se dois esporocistos, cada qual contendo quatro esporozoítos (URQUHART, 1998). A esporogonia ocorre na luz do tubo digestivo, e o oocisto já chega ao meio ambiente esporulado (MARTINS, 2019) (Figura 5).

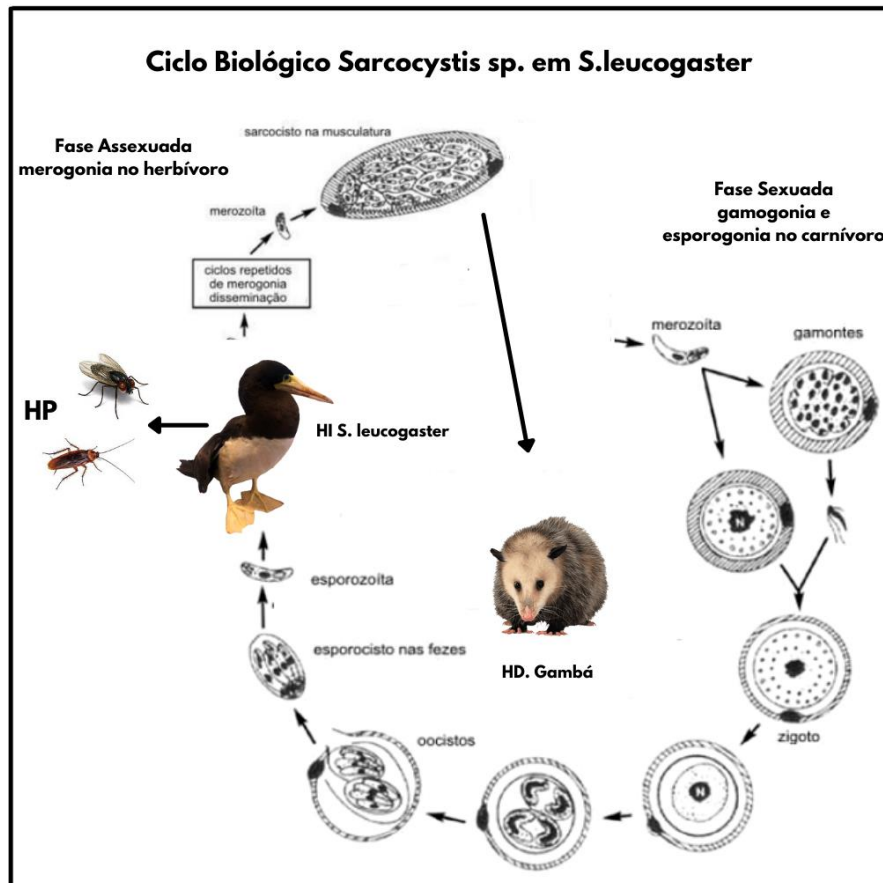


Figura 5: Esquema ilustrando o ciclo de vida dos protozoários do gênero *Sarcocystis* spp. Fonte: Adaptado, Valadas (2015); Llano (2019).

O ciclo nas aves se inicia quando estas se infectam pela ingestão de esporocistos em alimentos ou água contaminados por fezes, bem como através da ingestão de hospedeiros paratênicos (HP), como moscas e baratas que transportam esporocistos dentro dos seus corpos. (LLANO, 2019).

Nos últimos anos, um número crescente de *Sarcocystis* spp. também foi relatado em várias aves. Os hospedeiros definitivos da maioria dos *Sarcocystis* spp., incluindo aqueles com hospedeiros intermediários aviários, são ainda desconhecidos (GJERDE et al. 2018). Em contrapartida, Prakas et al. (2020) afirmaram que são conhecidas 25 espécies de *Sarcocystis* spp., que utilizam pássaros como hospedeiros intermediários.

Nos casos envolvendo a infecção de *Sarcocystis* spp. em hospedeiros intermediários aviários notou-se que alguns usam carnívoros mamíferos como hospedeiros definitivos, como o *Sarcocystis falcatula* parasitando gambás, *Sarcocystis rileyi* parasitando gambás listrados, raposas, cães e guaxinins e o *Sarcocystis albifronsi* e, possivelmente, o *Sarcocystis anasi* parasitando raposas,

enquanto que em outros *Sarcocystis* spp., descobriu-se que usavam aves de rapina (raptore) como hospedeiros definitivos (GJERDE et al. 218) (Figura 6).

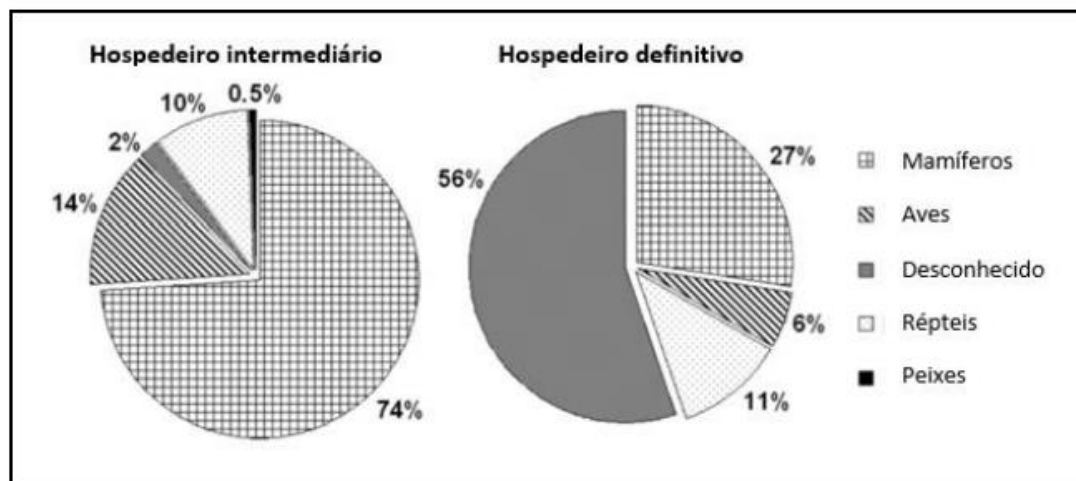


Figura 6: Demonstração gráfica das classes de vertebrados que já foram identificados na literatura como hospedeiros intermediários e definitivos de *Sarcocystis* spp. Fonte: Adaptado, Llano (2019).

Algumas espécies, tais como *S. falcatula*, *S. calchasi* e *S. Wobeseri* não são estritamente específicos para o hospedeiro intermediário e podem formar sarcocistos em pássaros de várias ordens diferentes. Em contrapartida, outras espécies como *S. fulicae*, *S. lari* e *S. ramphastosi* são rigorosamente específicos para uma única espécie de ave (PRAKAS et al. 2020).

Em relação ao período pré-patente desta parasitose, sabe-se que há variações quanto aos períodos de infecção e eliminação dos esporocistos frente aos hospedeiros, no qual o período pré-patente nos carnívoros é variável, ocorrendo entre o sétimo e o décimo quarto dia após a ingestão de sarcocistos (VALADAS, 2015). Contudo, a eliminação dos esporocistos nas fezes pode durar de uma semana a vários meses, além disso, a ingestão de esporocistos até a presença de bradizoítos infectantes nos músculos do hospedeiro intermediário pode durar até doze meses (URQUHART, 1998).

Em consonância, Valadas (2015) afirma que a quantidade e distribuição dos sarcocistos podem variar entre os diferentes hospedeiros, pois são influenciados por fatores como, quantidade de esporocistos ingeridos, estado imunológico do hospedeiro, a espécie do hospedeiro, bem como a espécie de *Sarcocystis* sp. no qual se implica a infecção.

A Sarcosporidiose pode causar nas aves um quadro hiperagudo, levando os animais a uma morte súbita, antes mesmo de apresentarem sinais e/ou sintomas. Porém, algumas aves podem apresentar fraqueza, dispneia, anormalidades neurológicas e anorexia. Macroscopicamente podem ser observados edema pulmonar, congestão e hemorragia, esplenomegalia e hepatomegalia. A maioria dos sarcocistos irá se desenvolver nos músculos estriados esquelético, cardíaco, esofágico, lingual e diafragmático; podendo ser ocasionalmente observados na musculatura lisa dos intestinos, fibras de Purkinje do coração e até mesmo no sistema nervoso central (DUBEY et al. 2016).

5.1.3 Patogenia

Determinadas espécies de *Sarcocystis* spp. são patogênicas, sendo as espécies do gênero geralmente mais específicas para seus hospedeiros intermediários que para os definitivos (STABENOW, 2004).

De acordo com Ferreira (2018) a infecção por *Sarcocystis* spp. está comumente associada a miosites eosinofílicas, bem como a presença de miopatia inflamatória específica com a presença de lesões cinza-esverdeada multifocais nos músculos estriados dos mamíferos. Adicionalmente, observam-se nos achados histológicos lesões inflamatórias eosinofílicas com concomitante degeneração da fibra muscular, e o no centro da lesão podem ser observados *Sarcocystis* spp. associados à granulócitos eosinofílicos, em consequência a uma resposta imunitária frente aos antígenos do parasito (VANGEEL et al., 2012).

Foram documentadas lesões histopatológicas em aves silvestres, no qual se relacionam a inflamação portal do fígado, 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 (STABENOW, 2004).

5.1.4 Diagnóstico de *Sarcocystis* spp.

Segundo Gonçalves et al. (2016) as diferentes espécies de sarcocistos possuem características morfológicas distintas, que são de extrema importância na identificação de suas espécies. Tais características são as seguintes: tamanho total, presença ou não de septos e a morfologia ultraestrutural de sua parede cística. Porém, os autores ainda afirmam que tais características podem sofrer variações com a idade do sarcocisto, o tipo de célula infectada no hospedeiro, bem como, pelos métodos de fixação utilizados na Histotécnica.

O exame histopatológico permite a diferenciação entre cistos espessos ($\geq 3\mu\text{m}$) e cistos de paredes finas ($< 1\mu\text{m}$), mas nenhuma diferenciação de espécies dentro de cistos de paredes espessas (*S. Hirsuta* e *S. hominis*) (CASTRO-FORERO et al. 2020). No entanto, a técnica histopatológica pode não ser adequada para a identificação precisa da espécie infectante uma vez que, além do gênero apresentar grande número de espécies, estas, apresentam características morfológicas semelhantes (SATO, 2018).

Diante do exposto, Guillen (2011) afirma que os métodos diagnósticos moleculares vêm sendo amplamente utilizados para a identificação de espécies de *Sarcocystis* spp., permitindo esclarecer pontos previamente destacados como aspectos coevolutivos e relação entre parasito e hospedeiro, biologia do parasito e diferenciação de espécies morfológicamente iguais.

Dentre tais métodos há o PCR (Reação em Cadeia pela Polimerase), que representa uma importante ferramenta para pesquisas epidemiológicas de sarcocitose (CASTRO-FORERO et al. 2020). O método consiste, após a extração do DNA, na amplificação da nested-PCR direcionado ao sequenciamento do primeiro espaço transcrito interno do DNA ribossômico (ITS1), com o objetivo de detectar primers de uma ampla gama de organismos da família Sarcocystidae, pois hibridizam nas regiões 18S e 5.8S. Genes codificadores SAG2, SAG3 e SAG4 também devem ser sequenciados, bem como, o PCR a partir do gene mitocondrial (cox1), que permite a caracterização genotípica entre as espécies de *Sarcocystis* spp. (LLANO, 2019). Essa variedade de testes em regiões dos genes codificadores diferentes ocorre pelo fato do número variado de espécies de *Sarcocystis* spp. e sua grande variabilidade (LLANO, 2019).

5.2 ATOBÁ-PARDO (*Sula leucogaster*) (BODDAERT, 1783)

Sula leucogaster que é conhecida popularmente por atobá pardo, constitui uma espécie de ave marinha que possui coloração pardo-escura, com peito posterior e barriga brancos (Figura 7), apresentam dimorfismo sexual aparente, no qual os machos são menores que as fêmeas, além de vocalizarem em tom mais baixo. Contudo, os gêneros se diferem aparentemente pelo fato de os machos apresentarem uma coloração azul em torno dos olhos, em contrapartida as fêmeas apresentam coloração amarelo-clara, bem como bico mais grosso (ALMEIDA, 2017).

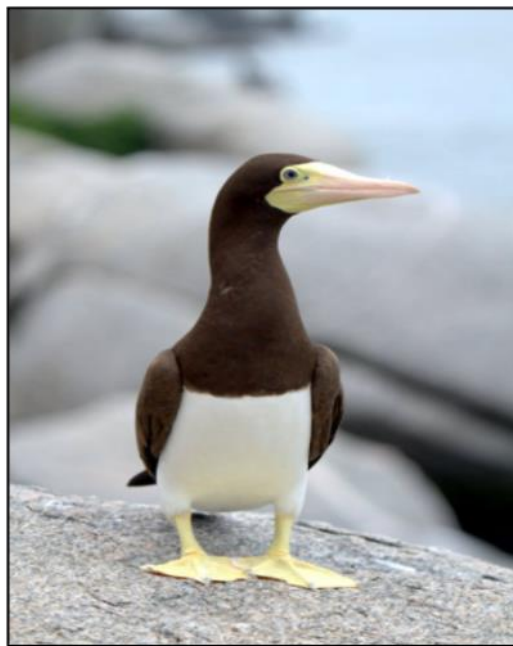


Figura 7: Fotomacrografia de Atobá-pardo, evidenciando sua coloração pardo-escura, com peito posterior e barriga brancos. Fonte: adaptado, Voitina (2017).

Essa espécie de ave marinha é classificada cientificamente dentro do reino Animalia, filo Chordata e ordem Suliforme, possuem aproximadamente 140 centímetros de uma ponta da asa a outra (VOITINA, 2017). Tais aves podem ser observadas em toda a América do Sul, exceto em países como Paraguai e Bolívia, além de ser considerada a espécie de Sulidae mais popular na costa brasileira (GROSE et al. 2011).

A nidificação do atobá pardo ocorre nas ilhas costeiras e oceânicas do Brasil, desde a região sul em Santa Catarina até os Penedos de São Paulo e São Pedro,

incluindo os Arquipélagos de Fernando de Noronha, Abrolhos e Atol das Rocas (BRANCO et al. 2005). É encontrado durante todo o ano, normalmente pousado sobre as pedras dos costões e ilhas, ou sobrevoando o mar (VOITINA, 2017). Sobre sua longevidade, foram documentados indivíduos no sul do Brasil apresentando cerca de 22 (vinte e dois) anos (BRANCO et al. 2001).

A reprodução dessas aves marinhas ocorre durante todo o ano, porém durante o período de seca há picos reprodutivos registrados (ALMEIDA, 2017), além disso, a reprodução é contínua e assíncrona, onde ambos os sexos tomam parte na incubação de ovos e cuidado com a prole (BRANCO et al. 2001). Na maioria das vezes os ninhos são construídos sobre rochas ou sobre o solo, ou seja, em locais com pouca vegetação, utilizando-se de gravetos e folhas secas em sua arquitetura (ALMEIDA, 2017). Contudo, os eventos reprodutivos dessa espécie de aves também podem ocorrer em estuários, normalmente com a postura de dois ovos, aonde somente um irá se desenvolver, caso os dois ovos se desenvolvam apenas um filhote irá viver, pois a espécie é considerada fraticida obrigatória. Adicionalmente, a incubação dos ovos dura entre 42 e 45 dias e os jovens estão emplumados e aptos para o voo em aproximada de 120 dias (GROSE et al. 2011; ALMEIDA, 2017).

A alimentação do Atobá-pardo consiste na predação de peixes e lulas, que são capturados em mergulhos rápidos, precisos e rasos (10 e 15 metros de profundidade), bem como pela ingestão de camarões descartados na pesca (BRANCO, 2001; BRANCO et al. 2005; VOITINA, 2017).

Por conseguinte, o atual estado de conservação desta espécie é reconhecido como "menos preocupante" (BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2018), mas a população diminuiu drasticamente, atingindo atualmente apenas 10% dos níveis históricos (CARDOSO et al. 2020).

5.3 HISTOLOGIA DO MÚSCULO ESTRIADO ESQUELÉTICO

O tecido muscular é constituído por células alongadas, que contêm grande quantidade de filamentos citoplasmáticos de proteínas contráteis, no qual são responsáveis pela contração desse tecido através das forças necessárias utilizando a energia proveniente das moléculas de ATP (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Os músculos esquelético e cardíaco são também chamados estriados por apresentarem bandas claras e escuras quando observados ao microscópio. Característica esta, ausente no músculo liso (GUIMARÃES; ADELL, 1995).

O músculo estriado esquelético é formado por feixes de células cilíndricas muito longas (miócitos) e multinucleadas, que apresentam estriações transversais. Essas células, ou fibras, têm contração rápida e vigorosa estão sujeitas ao controle voluntário (Figura 8). Os diversos núcleos normalmente são observados na periferia das fibras e proximidade do sarcolema, tal característica auxilia na diferenciação microscópica do músculo cardíaco que apresenta núcleos centrais (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Assim como nos mamíferos, nas aves as fibras musculares normais são classificadas em tipo 1 e tipo 2. As fibras do tipo 1 são de contração lenta e fadiga difícil, e as fibras do tipo 2 são de contração rápida e fadiga fácil (MADEIRA et al. 2006). Neste caso as aves possuem ambos os tipos de fibras, a depender da função de cada local em que este músculo esteja localizado. Nos músculos peitorais, por exemplo, há o predomínio de fibras do tipo 2, devido ao fato dessa região dar sustentação para o ato de bater as asas durante o voo (ANATPAT, 2021).

As fibras musculares estão organizadas em grupos de feixes, sendo o conjunto de feixes envolvidos por tecido conjuntivo denso: o epimísio uma membrana de tecido conjuntivo que envolve o músculo; o perimísio que é uma membrana de tecido conjuntivo que envolve um feixe de fibras, e o endomísio uma membrana de tecido conjuntivo que envolve uma fibra (célula) muscular (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

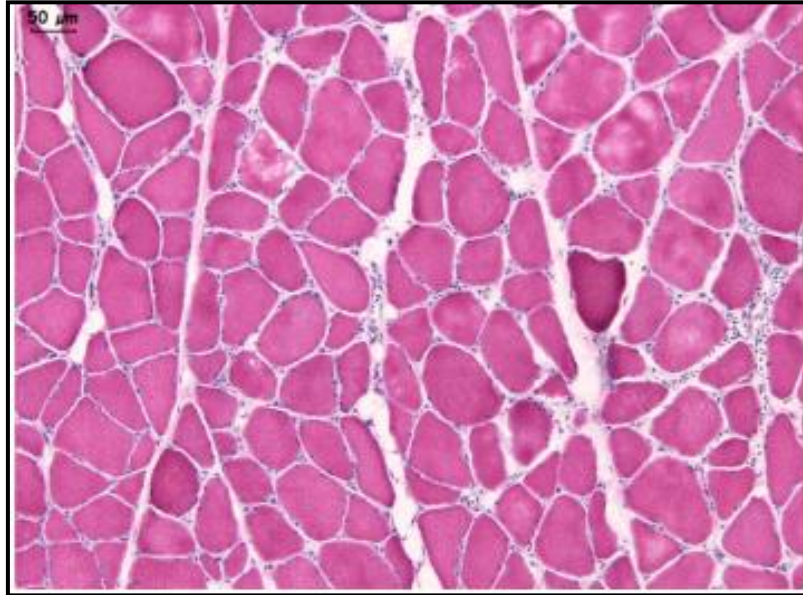


Figura 8: Fotomicrografia de um corte transversal do músculo estriado esquelético normal de um frango de corte, corado por HE. Fonte: adaptado, Madeira et al. (2006).

5.4 HISTOLOGIA DO MÚSCULO ESTRIADO CARDÍACO

O músculo do coração é constituído por células alongadas e ramificadas, que se prendem por meio de junções intercelulares complexas, os discos intercalares. Essas estruturas são responsáveis pela manutenção de uma firme coesão entre as fibras, e pela transmissão da tensão das fibrilas ao longo do eixo da fibra de uma unidade celular para a seguinte (GUIMARÃES; ADELL, 1995).

Essas células apresentam estriações transversais semelhantes às do músculo esquelético, porém as fibras cardíacas contêm apenas um ou dois núcleos localizados centralmente, e são circundadas por uma delicada bainha de tecido conjuntivo, equivalente ao endomísio do músculo esquelético, que contém abundante rede de capilares sanguíneos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

(Figura 9).

A distribuição do tecido conjuntivo, dos vasos sanguíneos e linfáticos e das fibras nervosas no músculo cardíaco, não se mostra diferente ao ser comparada com os outros tipos de músculos, exceto por ser constituída por uma grande rede de capilares sanguíneos, o que está intimamente relacionado com a sua capacidade representativa para o metabolismo oxidativo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

No entanto, segundo Guimarães et al. (2016) a maioria das aves possuem grandes quantidades de colágeno tipo I, seguido pelo colágeno tipo III. As fibras de colágeno desempenham um papel importante na manutenção da integridade estrutural dos tecidos saudáveis

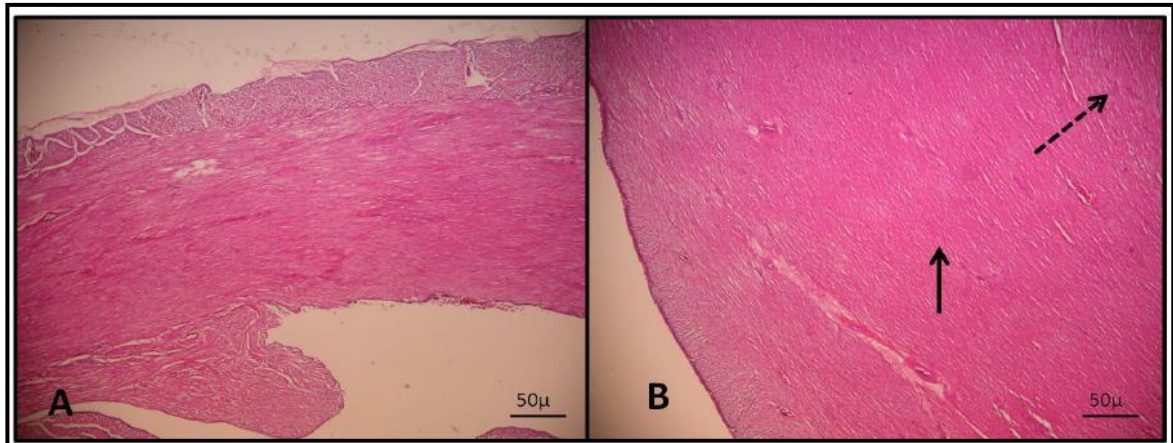


Figura 9: Cortes histológicos de coração de um pinguim-de-magalhães, corado por hematoxilina-eosina (HE). A) Musculatura cardíaca, corte terço médio. B) Musculatura cardíaca, direções das fibras musculares: transversais (seta tracejada) e longitudinais (seta simples). Fonte: adaptado, Guimarães et al. (2018).

5.5 IMPORTÂNCIA DA SARCOCISTOSE EM SAÚDE PÚBLICA

A Sarcocistose é uma zoonose cosmopolita, diagnosticada em várias espécies animais e no homem, desde que se esteja atento para essa possibilidade e usando os métodos diagnósticos mais adequados (DUARTE, 2017).

No Homem, essa enfermidade pode se apresentar de duas formas, a sarcocistose intestinal e sarcocistose muscular (DUARTE, 2017). Quadros et al. (2019) afirmam que o desenvolvimento da fase assexuada do parasito forma os cistos teciduais na musculatura, onde o homem torna-se seu hospedeiro intermediário, já a fase sexuada ocorre nos intestinos, tornando o homem seu hospedeiro definitivo. Assim, os seres humanos adquirem sarcocistose intestinal ao ingerirem carne crua ou mal-cozida de bovinos ou suínos, contendo sarcocistos maduros de *S. hominis* e *S. suis hominis*, respectivamente (GONÇALVES et al. 2016). Os produtos cárneos, portanto, consumidos crus ou mal cozidos são considerados alimentos de alto risco epidemiológico na veiculação de tal agente patogênico (ALVES et al. 2018).

A sarcocistose intestinal não é uma doença de notificação obrigatória na União Europeia, porém existem casos de infecções não notificadas oficialmente,

principalmente em países como Alemanha, França e Polônia, em contrapartida na Eslováquia são conhecidos raros casos. Esse índice provavelmente está ligado ao hábito de consumo de carne mal-passada nos países do velho mundo. No continente africano há poucos casos, no qual é provavelmente subnotificado (DUARTE, 2017). Assim, partindo do pressuposto que as zoonoses representam 75% das doenças infecciosas emergentes no mundo e 60% dos patógenos humanos são zoonóticos, é importante reforçar a importância do médico veterinário na inspeção de produtos de origem animal, bem como consumir de preferência produtos cárneos de boa procedência (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Já a sarcocistose muscular é amplamente diagnosticada no sudeste asiático, especificamente na Malásia. Também há casos no Egito, Índia e Tailândia (FAYER, 2004). Até o ano de 2011 o número de casos dessa doença não ultrapassava cem indivíduos infectados em todo o mundo, no qual grande parcela era proveniente dos países asiáticos e a outra metade países do ocidente, porém, a partir do final de 2011 e até 2014 registou-se um aumento significativo no número de casos reportados, com um total de aproximadamente 163 novos casos (DUBEY, 2015)

No Brasil os primeiros relatos de humanos infectados datam dos anos 1946 e 1958, respectivamente, ambos diagnosticados através de exame necroscópico do músculo cardíaco. Naquele período não havia provas sorológicas amplamente disponíveis, estando o diagnóstico ligado principalmente a achados *post mortem* (KOUYOUMDJIAN; TOGNOLA, 1985). Posteriormente, no ano de 1985 relatou-se o caso de uma mulher jovem, que apresentava uma síndrome miopática e mialgia dos membros pélvicos e torácicos com progressão de quatro anos. O diagnóstico foi realizado através de biópsia do músculo deltoide, onde foi possível observar formações císticas em permeio às fibras musculares (KOUYOUMDJIAN; TOGNOLA, 1985).

Duarte (2017) ainda afirma que além de sinais clínicos como gastroenterites e miopatias, os seres humanos também podem desenvolver quadros clínicos mais raros como: cardiomiopatia, glomerulopatia, neoplasia (da cavidade oral, nasofaringe e laringe) e doenças reumatológicas. O grau de severidade da infecção dependerá unanimemente do estado imunológico do indivíduo, carga parasitária, bem como quais espécies de *Sarcocystis* spp. causaram a infecção.

Além disso, está definido que a sarcocistose muscular em humanos é menos frequente, desta forma, não há muitos relatos a respeito no mundo, mesmo assim,

casos têm sido relatados principalmente em regiões tropicais e subtropicais da Ásia, Estados Unidos, América Central e América do Sul (CASTRO-FORERO et al. 2020).

6. MATERIAL E MÉTODOS

6.1 ESTUDO RETROSPECTIVO

Para a realização deste estudo foram analisados e utilizados dados retirados de 496 fichas obtidas através do Sistema de Informação de Monitoramento da Biotaquática (SIMBA), o qual disponibiliza um compilado de informações inerentes às aves *Sula leucogaster*, necropsiadas no período de Setembro de 2015 a Dezembro de 2018. Os dados utilizados das aves necropsiadas foram: sexo, presença de parasitos do gênero *Sarcocystis spp.*, órgão/tecido que são observados o parasito, sinais clínicos concomitantes a infecção parasitária, causa *mortis* e local de ocorrência (região geográfica).

6.2 PROCEDÊNCIA DAS AMOSTRAS

As necropsias de *S. leucogaster* foram realizadas por médicos veterinários das seguintes empresas ambientais: CTA Serviços em Meio ambiente, Instituto Greinar, Instituto Biopesca, Instituto Argonauta, Associação R3 Animal e Instituto de Pesquisa Cananeia- IPEC, bem como amostras provenientes da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC).

As necropsias e colheita das amostras foram realizadas seguindo o protocolo de Matushima (2007), em animais encontrados encalhados mortos ou que vieram a óbito após resgate em praias nos litorais do Estado do Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina. Durante o procedimento foi realizado a identificação da espécie, medidas corporais (Figura 10), avaliação da maturidade sexual (juvenil e adulto) pelos padrões de coloração do bico, plumagem, e do sexo pela avaliação das gônadas através do exame de maturidade sexual.

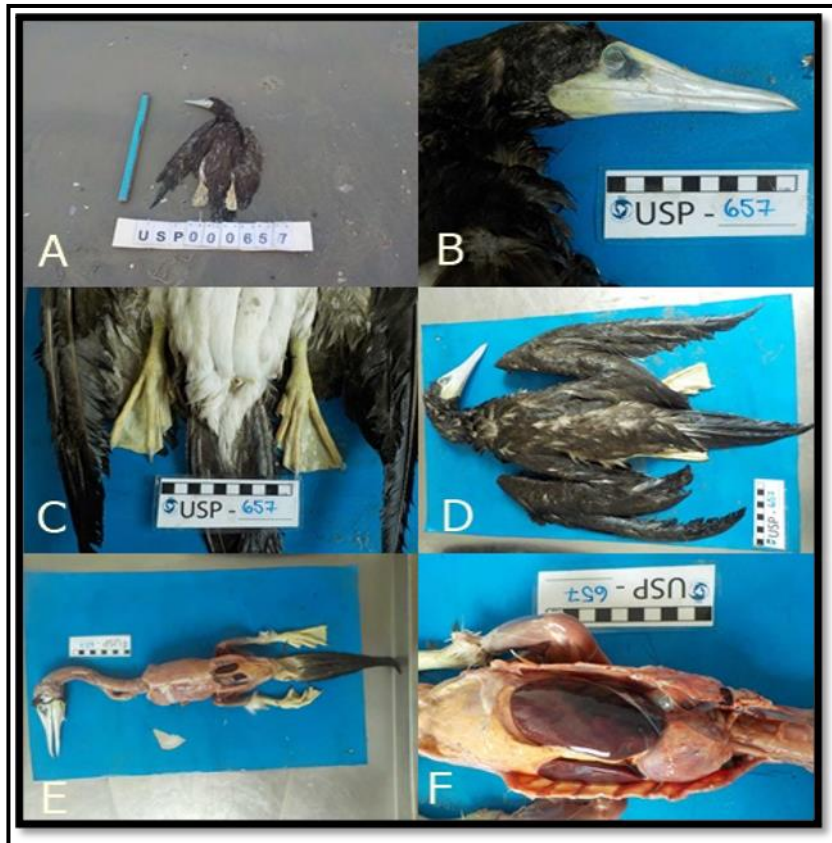


Figura 10: Fotomacrografia de um exemplar de *S. leucogaster*, encalhado na Praia de Ilha Comprida, São Paulo, demonstrando as medições realizadas a campo (A), e medições realizadas em laboratório para identificação do espécime (B,C,D), seguidas das primeiras técnicas necroscópicas (E,F). Fonte: Adaptado, SIMBA (2020).

6.3 PREPARAÇÕES E ANÁLISES DAS LÂMINAS HISTOLÓGICAS

As amostras de tecidos e órgãos das aves *S. leucogaster* necropsiadas, foram coletadas, e acondicionadas em recipientes próprios e fixadas com Formalina neutra tamponada a 10%.

Posteriormente, o material foi encaminhado para o Setor de Morfologia e Anatomia Patológica (SMAP) do Laboratório de Morfologia e Patologia Animal (LMPA) no Hospital Veterinário da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), onde foi submetido ao processo de técnicas histológicas baseadas nas metodologias descritas por Caputo et al. (2009), no qual se referem as seguintes etapas: clivagem, desidratação, diafanização, impregnação, inclusão em parafina, microtomia, coloração de rotina Hematoxilina e Eosina (HE) e por último a montagem das lâminas.

Em seguida, as lâminas foram observadas ao microscópio óptico, onde foram realizados os diagnósticos de Sarcosporidiose (com a presença de cistos de *Sarcocystis* spp. nas fibras musculares esqueléticas, fibras musculares cardíacas e encéfalo).

6.4 ÁREAS DE ESTUDO

O estudo foi realizado com material biológico coletado de aves provenientes dos litorais dos Estados do Rio de Janeiro (Figura 11), São Paulo (Figura 12) e Santa Catarina (Figura 13), nas seguintes praias:

- Praia de Grumari (Lat: -23.0485, Long: -43.52292) situada na zona oeste da cidade do Rio de Janeiro-RJ;
- Praia do Leme (Lat: -22.964118, Long: -43.168322) situada na zona sul da cidade do Rio de Janeiro-RJ;
- Praia da Barra da Tijuca (Lat: -23.01122, Long: -43.36658) situada na zona oeste da cidade do Rio de Janeiro-RJ;
- Praia da Bandeira (Lat.: -22.80932, Long: -43.17753) situada na cidade de Ilha do Governador-RJ;
- Praia de Itaipuaçu – Jaconé (Lat: -22,9566, Longitude : -42,9562) Cidade de Maricá-RJ;

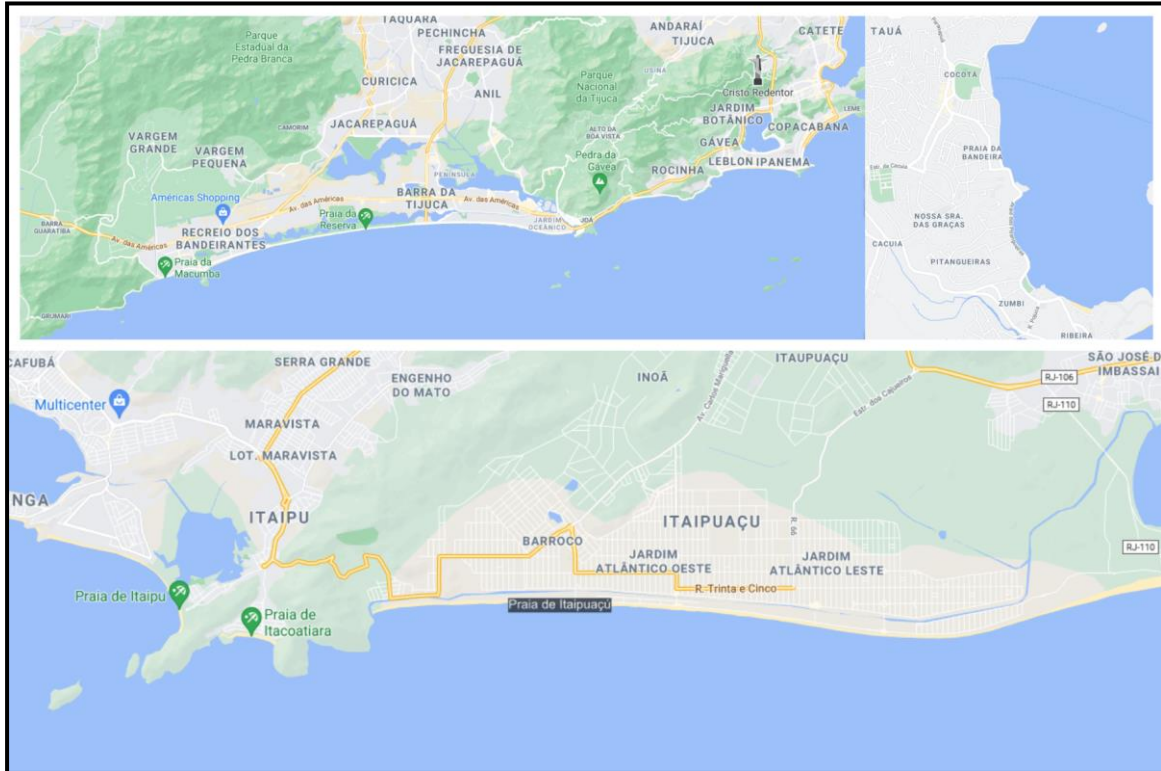


Figura 11: Mapas com destaques das Praias onde foram realizados os estudos no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Fonte: Google Maps, 2021.

- Praia de Ilha Comprida (Latitude: -24.7313 , Longitude: -47.5589 $24^{\circ} 43' 53''$ Sul, $47^{\circ} 33' 32''$ Oeste) situada na cidade de Iguapé-SP;
- Praia da Jureia (Latitude: -24.6167 , Longitude -47.3167), ambas situadas na cidade de Iguapé-SP;
- Praia do Ilhote na cidade de Ilabela-SP (Latitude: -23.7787 , Longitude: -45.3584 $23^{\circ} 46' 43''$ Sul, $45^{\circ} 21' 30''$ Oeste);
- Ilha do Cardoso ($-25^{\circ}07'32.40''$ S $-47^{\circ}57'35.39''$ W) no Pontal Marujá na cidade de Cananeia-SP;

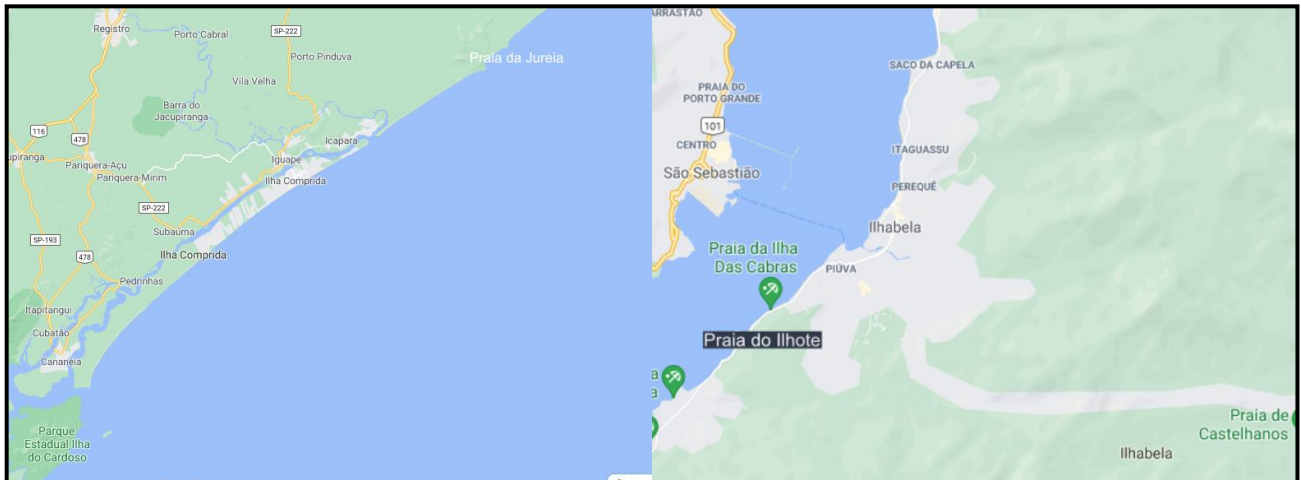


Figura 12: Mapas com destaques das Praias onde foram realizados os estudos no Estado de São Paulo, Brasil. Fonte: Google Maps, 2021.

- Praia de Ibraquera/Ribanceira (Latitude: $-28.228^{\circ} 12' 0''$ Sul, Longitude: $-48.6548^{\circ} 39' 0''$ Oeste) na cidade de Imbituba-SC;
- Praia de Itapirubá (Latitude $-28.3333^{\circ} 28' 19' 60''$ Sul; Longitude: $48^{\circ} 42' 0''$ Oeste) na cidade de Laguna-SC.

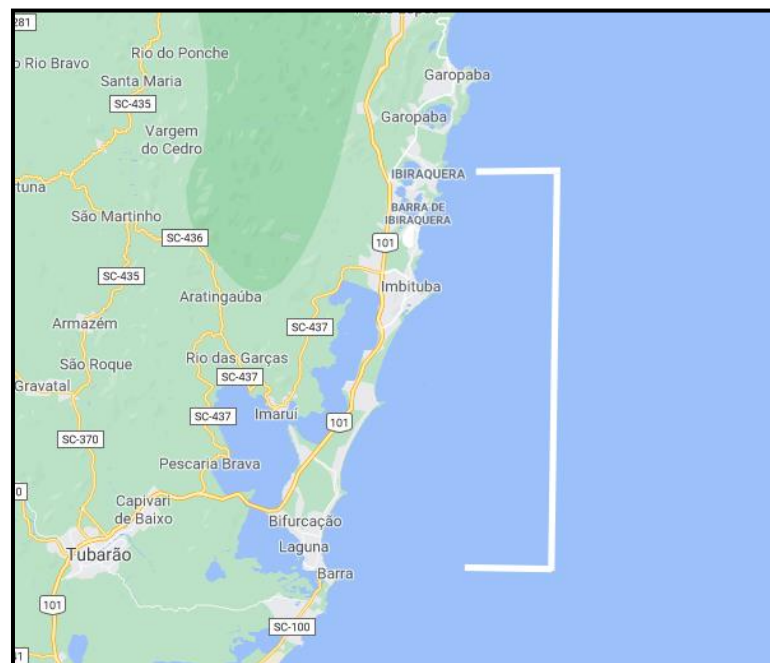


Figura 13: Mapa com destaques das Praias onde foram realizados os estudos no Estado de São Paulo, Brasil. Fonte: Google Maps, 2021.

6.4.1 Características Geográficas Do Ambiente Costeiro Em Estudo

A costa do Brasil estende-se sobre 39 graus de latitude, desde 05° Norte até 34° Sul, e sobre a distância de mais de 9200 km de linha real. Em suas adjacências encontram-se as águas litorâneas oceânicas, bem como as ilhas, ambas constituem em conjunto a zona costeira (VILLWOCK, 1994). O ambiente costeiro é caracterizado como o encontro da terra, da água (doce e salgada) e do ar, é neste ambiente que coabitam diversas espécies animais, aves marinhas e aquáticas, plantas e também os seres humanos (GERLING et al. 2016)

Nas áreas desta pesquisa prevalecem as características de restinga que estão em praticamente toda extensão costeira do Brasil, ocupando quase 79% dessa área. São Paulo e Rio de Janeiro são estados brasileiros em que mais ocorrem as formações desse ambiente. As principais características das restingas são: praias arenosas, vegetação herbácea arbustiva, arbórea inundável e mata seca. Além disso são observadas dunas frontais, litoral rochoso, as planícies lodosas de maré, as marismas e os manguezais (VOOREN; BRUSQUE, 1999; GERLING et al. 2016).

A distribuição espacial das aves marinhas deste estudo, está inserida em duas regiões da costa continental brasileira, respectivamente. As praias do Estado de Santa Catarina estão incluídas dentro da zona Subtropical, com características de praia arenosa com dunas, sem reentrâncias. Invertebrados bentônicos vivem em elevada densidade e constituem recurso alimentar para as aves costeiras (VOOREN; CHIARADIA, 1990).

As demais praias dos Estados de São Paulo e Rio de Janeiro estão incluídas dentro da Região Tropical Sul, constituindo características rochosas, com praias arenosas, reentrâncias, baías, sistemas lagunares e estuários (VOOREN; BRUSQUE, 1999).

6.5 CÁLCULO DE PREVALÊNCIA E GRÁFICOS.

O coeficiente de prevalência foi calculado através de um número aproximado de indivíduos da espécie *S. leucogaster*, utilizando o número de casos conhecidos de Sarcocistose, dividido pelo número de indivíduos daquela população de amostras, e multiplicado pela constante (um mil).

Os gráficos apresentados neste estudo foram elaborados utilizando o editor de planilhas Microsoft Excel 2016®

7 RESULTADOS

Do total de 496 lâminas histológicas referentes as aves necropsiadas da espécie *Sula leucogaster*, foram diagnosticadas 64 (12,90%) indivíduos parasitados por *Sarcocystis spp* (Figura 14).

Atualmente, não há dados documentados na literatura brasileira sobre a infecção muscular de *Sula leucogaster* por *Sarcocystis spp.*, sendo desta forma, os primeiros relatos em 64 indivíduos da mesma espécie (através da infecção natural).

Em suma, quando se refere a carga parasitária apresentada pelos indivíduos, a maioria das aves desenvolveu infecção moderada à infecção severa.

Tais aves apresentavam infecções em órgãos/sítios concomitantes em sua maioria, raramente em apenas um local. Contudo, nenhuma ave teve como *causa mortis* principal a Sarcocistose.

As aves desse estudo foram encontradas encalhadas vivas e também em óbito, em diversas praias dos estados do Rio de Janeiro, São Paula e Santa Catarina, em sua maioria praias habitadas por turistas e até mesmo em praças localizadas próximo as praias de grandes centros. Desta forma, os meios de infecção das aves deste estudo podem estar relacionados ao fato de o atobá-pardo se alimentar normalmente de peixes, e eventualmente de restos de pescado e crustáceos presentes as margens das praias, próximo as restingas e pedras, e também próximo a orla, que em muitos casos estão contaminados com esporocistos.

Ao nidificarem e habitarem nessas regiões, o acesso a esses alimentos é mais fácil. Além disso, essas aves estão cada vez mais próximas das praias e locais de desemboque de esgotos e outros excrementos antrópicos. Um dos principais hospedeiros definitivos relatados em estudos com diferentes espécies de aves infectadas por *Sarcocystis spp.* indicam que o gambá atua como um dos grandes responsáveis, pois trata-se de uma espécie generalista que ocupa diversos habitats, sendo responsável em eliminar através de suas fezes esporocistos esporulados, que atuam como os meios de infecção para as aves.

O esgoto também pode atuar como um meio de disseminação, através da água contaminada por fezes de outros hospedeiros definitivos carnívoros, além de

atrair hospedeiros paratênicos, tais como baratas e moscas, que também podem se tornar fonte de alimento para essas aves.

Outras fontes de infecção estariam relacionadas a possível esporulação desses coccídeos em águas marinhas, aos quais poderiam sobreviver por meses, bem como, infectar outras espécies de invertebrados aquáticos, que também seriam fonte de alimento para os atobás-pardo, e outras espécies de aves aquáticas como os pinguins de Magalhães (ACOSTA, 2017).

Em relação aos locais de acometimento por sarcocistos nas aves analisadas, foram diagnosticados 42/64 indivíduos apresentando o parasito nos seguintes órgãos e tecidos: músculo estriado esquelético e músculo estriado cardíaco, olhos (músculo esfíncter da pupila e músculo dilatador da pupila); traqueia, língua, esôfago, orofaringe, pro-ventrículo e cérebro.

As demais aves (22/64) apresentaram parasitismo no músculo esquelético apenas (musculatura relacionada aos ossos longos e músculos peitorais na maioria dos casos).

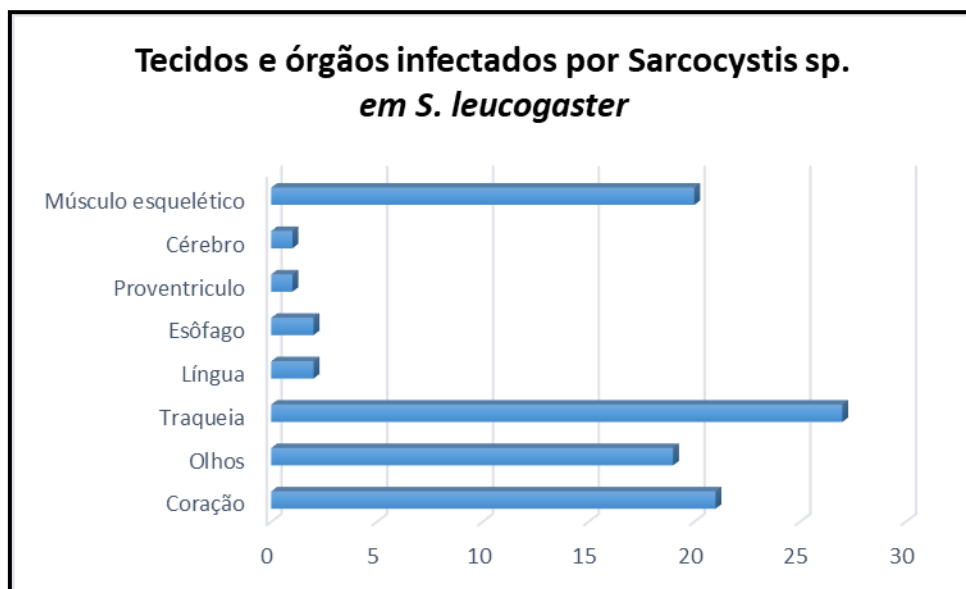


Figura 14: Gráfico demonstrando as aves da espécie *S. leucogaster* e seus principais sítios/órgãos de infecção por *Sarcocystis* spp. Ressalta-se que todas as aves demonstraram parasitismo em mais de um local, concomitante.

Ao exame histológico foram observados diversos sarcocistos, ambos paralelos às fibras musculares, e ocasionalmente no centro de tais fibras, de aspecto fusiforme e

puntiforme, com septos internos, observados no interior dos miócitos, demonstrando em sua maioria, cistos intracitoplasmáticos repletos de bradizoítos.

Pode-se também observar cistos próximos a nervos da musculatura, ou em locais adjacentes à vasos sanguíneos (Figura 15, 16 e 17).

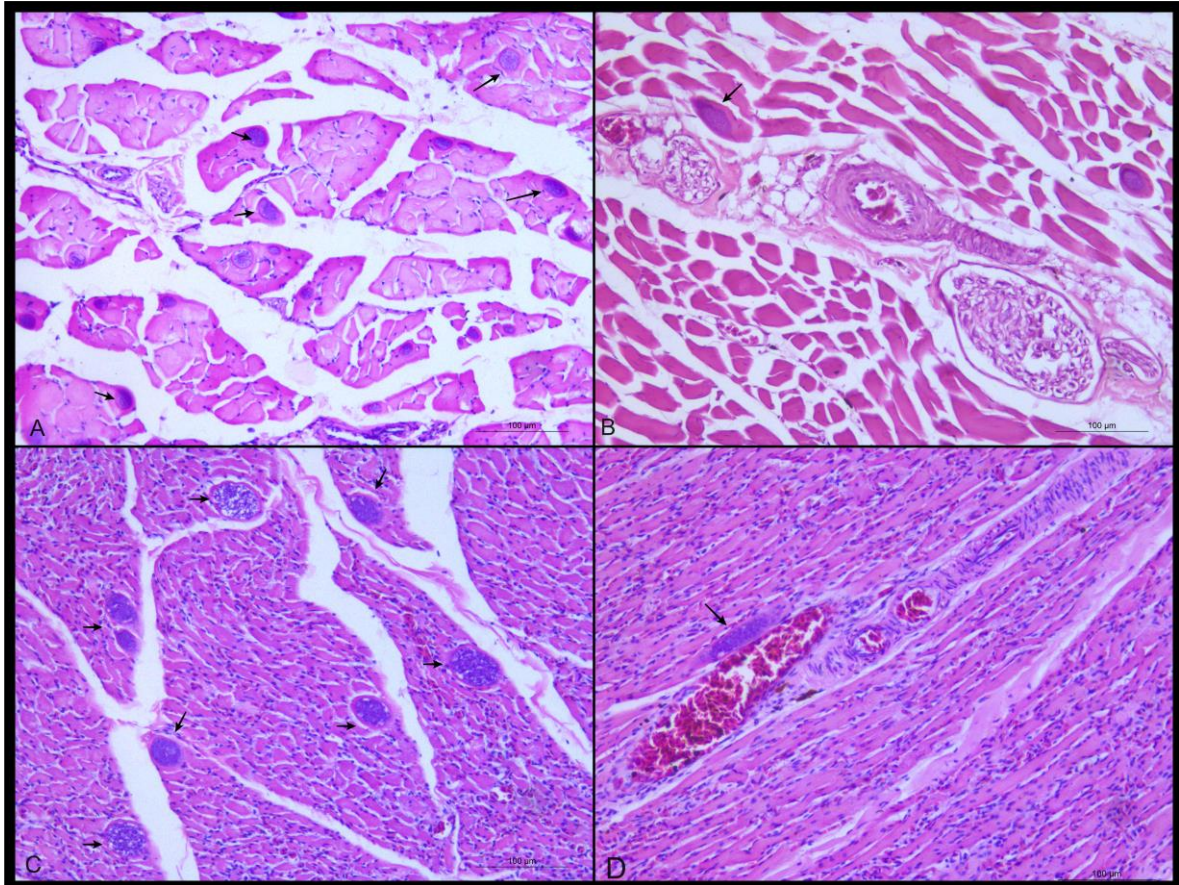


Figura 15: Fotomicrografia de cistos íntegros de diversos tamanhos, com formato alongado e fusiforme, e formato puntiforme, de *Sarcocystis spp.* distribuídos de forma multifocal. Não se observou associação a células gigantes ou demais células inflamatórias causadoras de miosite. A- Cistos paralelos as fibras musculares esqueléticas repletos de bradizoítos (setas). Aumento: 20X. B- Cisto paralelo (seta) as fibras musculares esqueléticas repleto de bradizoítos, adjacente a um peri-neuro em permeio a musculatura. Aumento: 20X. C – Diversos cistos paralelos as fibras musculares cardíacas de aspecto puntiforme Aumento: 20X. D- Cisto de aspecto fusiforme parasitando as células cardíacas paralelo à um vaso sanguíneo. Aumento: 20X. Coloração de HE. Fonte: LMPA UENF, 2021.

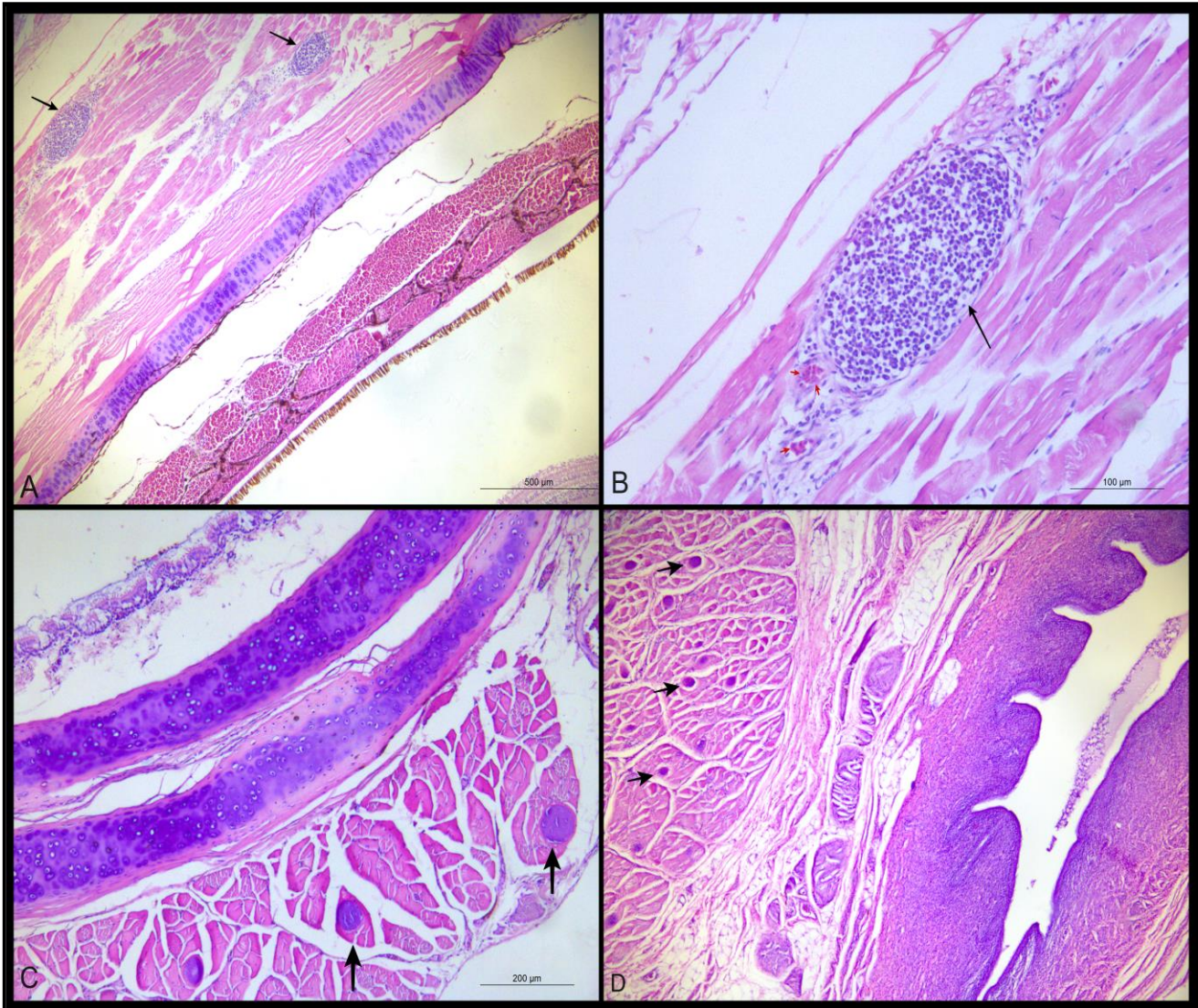


Figura 16: Fotomicrografia de cistos de diversos tamanhos, com formato alongado e fusiforme, e formato puntiforme, de *Sarcocystis spp.* distribuídos de forma multifocal. A- Cistos paralelos as fibras musculares esqueléticas (músculo esfíncter e dilatador da pupila) repletos de bradizoítos (setas pretas). Aumento Obj: 5X. B- Cisto degenerado, observado em maior aumento presente no músculo esfíncter e dilatador da pupila. Observa-se irregularidade da cápsula associado a presença de eosinófilos adjacentes, podendo indicar uma discreta área focal de miosite eosinofílica/heterofílica (setas vermelhas). Aumento Obj: 20X. C- Cistos de aspecto puntiforme observados na traqueia (setas pretas). Aumento Obj: 10X. D- Cistos de aspecto puntiforme observados na orofaringe (setas pretas). Aumento Obj: 5X. Coloração de HE. Fonte: LMPA UENF, 2021.

Em apenas 1/64 indivíduos da espécie observaram-se cistos intracerebrais, no entanto, não pode se observar células de aspecto inflamatório, ou células gigantes, associados a achados compatíveis com encefalite, ou processos inflamatórios adjacentes a cápsula do parasito (Figura 17).

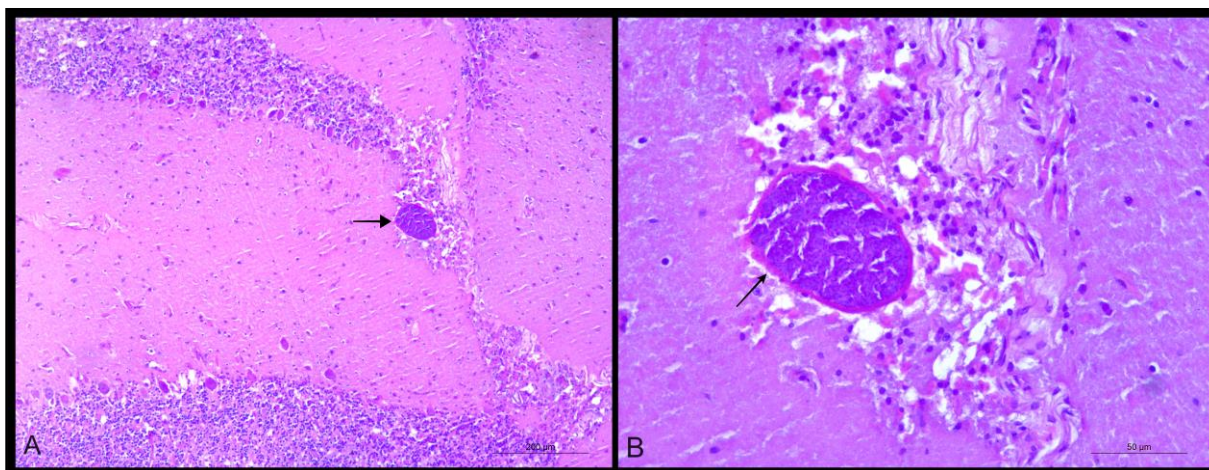


Figura 17: Fotomicrografia corada em HE, com aumento de Obj. 10X (A) e 40X (B), demonstrando um cisto íntegro de *Sarcocystis* spp. localizado na região cerebelar (camada molecular), com perda da arquitetura normal adjacente, próximo a meninge, e presença de células dispersas da camada da granulosa (células nervosas). Nota-se que nas estruturas adjacentes ao cisto não se observam células com características inflamatórias. Fonte: LMPA-UENF, 2021.

Em relação a infecção por *Sarcocystis* spp., considerando a porcentagem de indivíduos acometidos por gênero e maturidade sexual, aproximadamente 59,37% (38/64) das infecções ocorreram em indivíduos machos maduros, 17,18% (11/64) em fêmeas maduras, 6,25% (4/64) machos imaturos e 3,12% (2/64) em fêmeas imaturas. Os indivíduos que não tinham sexo definido ao exame histopatológico de análise de maturidade sexual (amostras com autólise, tecidos gonadais não enviados para análise) foram excluídos dos cálculos, totalizando 14,06% aves (9/64).

Desta forma, a prevalência de infecção por sarcocistose nessa espécie de aves marinhas nos Estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina são de aproximadamente 12,9 casos para cada 100 aves da espécie *Sula leucogaster*, diagnosticados histopatologicamente entre os anos de 2015 e 2018.

8 DISCUSSÃO

A confirmação de que as aves pertencentes a esse estudo foram diagnosticadas sendo parasitadas em sua musculatura cardíaca, esquelética e encéfalo por *Sarcocystis* spp. foi realizada de acordo com as características microscópicas que Gjerde et al (2018) destacou ao descrever a infecção de uma águia de cauda branca do mar, no qual os cistos continham diversas células pequenas alongadas e algumas células arredondadas maiores, e citoplasma menos

corado. Além disso, as células maiores estavam localizadas na maioria em sua periferia. A parede externa dos cistos parecia ter uma superfície lisa sem saliências visíveis. Tais características, portanto, são semelhantes as aves deste estudo e inerentes ao diagnóstico de Sarcocistose, podendo ser de uma ou várias espécies distintas de *Sarcocystis* spp.

Em um dos indivíduos parasitados deste estudo, observou-se ao exame microscópico a presença de um sarcocisto degenerado associado a uma pequena miosite eosinofílica/heterofílica adjacente, achado este, que ainda não foi observado e descrito por outros autores. A literatura atual se baseia, assim como descrito por Gjerde et al. (2018), no qual afirmam o fato de não haverem lesões decorrentes dos cistos. Os autores chegaram a tal resultado ao relatar o caso de uma ave da espécie *Haliaeetus albicilla*, no qual apresentou diversos cistos na musculatura cardíaca, sem nenhuma relação com lesões teciduais. Os autores ainda afirmam que da mesma forma, a presença de sarcocistos no músculo cardíaco não é considerado um impactado na saúde da águia, mas o achado é importante do ponto de vista parasitológico, em relação a cadeia epidemiológica da Sarcocistose.

Desta forma, ainda não ficou totalmente esclarecido o fato dos cistos teciduais das aves marinhas, principalmente quando observados nos músculos cardíaco e esquelético, não causarem nenhum processo inflamatório heterofílico/eosinofílico severo, assim como ocorre nos bovinos infectados, no qual demonstram uma reação tecidual eosinofílica intensa. Uma das explicações seria a resistência imunológica das aves marinhas frente à essa protozoose. Contudo, outros estudos devem ser conduzidos a fim de esclarecer esses aspectos.

Llano (2019) diagnosticou sarcocistos em amostras de tecido do músculo peitoral em 36 aves, em um estudo que contou com quatrocentos indivíduos de 104 espécies distintas. O que demonstra um resultado parcialmente semelhante a este estudo no qual 64 aves foram positivas apresentando sítios de infecção em diversos órgãos. Tais achados confirmam que o protozoário *Sarcocystis* spp. possui baixa especificidade em relação aos seus hospedeiros, infectando uma grande variedade de aves.

Neste mesmo estudo, Llano (2019) analisou diversas espécies que foram positivas para Sarcocistose, dentre elas estão alguns Anseriformes, Falconiformes, Passeriformes e Pelecaniformes, no entanto, haviam aves Sulidae na pesquisa que mostraram-se negativas para Sarcocistose. Tal pesquisa ocorreu na região de Foz

do Iguaçu, no Sul do Brasil. Nesse contexto, pode-se afirmar que ainda não há relatos de sarcocistos musculares e cerebral em aves sulidae, em especial na espécie *Sula leucogaster*, tornando este estudo inédito quanto à prováveis novos hospedeiros intermediários, além de destacar o exame histopatológico como método diagnóstico essencial de triagem e identificação do gênero de protozoário, principalmente cerebral.

Acosta (2017) realizou um estudo com 514 amostras de músculo peitoral, cérebro e coração, de 330 pinguins de Magalhães (*Spheniscus magellanicus*), e obteve o resultado de 4,9% dos animais positivos, no entanto, todas as amostras positivas eram provenientes somente da musculatura peitoral de diferentes aves. O que demonstra que a infecção cerebral de *Sarcocystis spp.* em aves é dificilmente observada, o que corrobora com este estudo, no que tange a esfera de análises realizadas, visto que apenas 1/496 aves foi observada sendo parasitada em seu tecido cerebral.

Devido ao fato de nenhuma ave deste estudo ter como *causa mortis* principal a infecção por *Sarcocystis spp.* pode-se relacionar ao fato dessa infecção não ter na esfera epidemiológica altas taxas de mortalidade, no entanto, apresenta alta taxa de morbidade, bem como casos de infecções maciças e severas, acometendo diversos órgãos e tecidos de um mesmo indivíduo, podendo conferir ao protozoário características de oportunismo frente a indivíduos debilitados. Além disso, um mesmo indivíduo pode apresentar mais de uma espécie infectante de *Sarcocystis spp.* O que pode se confirmar com os dados apresentados, no qual 22/64 aves apresentaram somente a infecção muscular, e o restante, 42/64 apresentaram a protozoose em outros órgãos, além do músculo estriado esquelético. Esse fato, pode estar relacionado as características de interpretação evolutiva relacionados a ave atobá-pardo do continente americano, que possui atributos simpátricos em relação aos hospedeiros definitivos de *S. falcatula* principalmente (uma das principais espécies que acomete as aves e gera infecções graves), ao qual gerou uma adaptação a esses agentes e progressivamente uma resistência a essa infecção (ACOSTA, 2017).

Llano (2019) corrobora com Acosta (2017) ao afirmar que as aves do novo mundo, como o continente sul americano apresentam na maioria dos casos infecções subclínicas, o que gerou uma espécie de adaptação, e conseqüentemente fazendo que essas aves convivam com esse protozoário sem apresentar

sintomatologia, enquanto as aves do continente europeu seriam mais susceptíveis aos surtos, com alta mortalidade.

Ao avaliar neste estudo a relação de infecção entre machos maduros e imaturos e fêmeas maduras e imaturas, pode-se observar que 59,37% (38/64) das infecções ocorreram em indivíduos machos maduros, 17,18% (11/64) em fêmeas maduras, 6,25% (4/64) machos imaturos e 3,12% (2/64) em fêmeas imaturas. Um dos meios se explicar tal relação entre a maioria dos casos serem em machos maduros, seguido das fêmeas maduras seriam o fato dos mesmos atuarem como caçadores de alimentos para os filhotes que estão no ninho, ou que ainda são muito jovens e não possuem capacidade para voo, o que dessa forma fariam com que eles estivessem na linha de frente da infecção.

Poucos estudos relacionam as infecções de *Sarcocystis spp.* com os gêneros e grau de maturidade sexual, Llano (2019) ao estudar diferentes espécies de aves infectados com cistos musculares, obteve 20/36 machos, e 16/36 fêmeas, no entanto, não relacionou aos graus de maturidade sexual.

Prakas et al. (2015) realizaram um estudo com 35 aves da espécie gaivota (*Larus argentatus*), com o objetivo de identificar a prevalência de *Sarcocystis spp.* nesse espécie de ave marinha na Lituânia. O estudo foi conduzido entre os anos de 2013 e 2019, através de análises histopatológicas da musculatura esquelética das pernas das aves. Os autores concluíram que 9/35, ou seja, 25,7% dos indivíduos eram positivos para Sarcocistose. Contudo, os resultados de prevalência obtidos nesta pesquisa foram de 64/496 (12,9%), demonstrando que as aves marinhas participam intimamente na cadeia de disseminação da Sarcocistose no ambiente marinho.

Apesar da espécie deste estudo se tratar das aves *S. leucogaster*, pode-se relacionar ao fato de que esse protozoário possui grande tropismo no parasitismo e formação de cistos em órgãos e músculos de aves marinhas, bem como outras espécies de aves de diferentes ordens. Em comparação ao estudo citado anteriormente, todos os indivíduos da espécie *Sula leucogaster* analisados nessa pesquisa apresentaram cistos na musculatura esquelética (músculos da perna e peitoral), além da musculatura de outros órgãos, como traqueia, olhos, cérebro, esôfago, língua, etc. resultados estes, até então não observados em outras espécies de aves marinhas no que tange as pesquisas de Sarcocistose.

Neste estudo não foi possível a realização de testes e sequenciamentos de DNA para o diagnóstico molecular das espécies de *Sarcocystis spp.* que parasitam essa espécie de aves marinhas, no entanto, sugere-se que novos estudos sejam realizados a fim de identificar essas espécies, e até mesmo caracterizar novas espécies de *Sarcocystis spp.* que ainda não foram descritas em território nacional, bem como complementar o ciclo biológico dessa protozoose, e traçar qual o verdadeiro papel do atobá-pardo na cadeia de disseminação dessa zoonose.

9 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo, nos permitem concluir que pela primeira vez na literatura brasileira pode-se diagnosticar através da histopatologia com coloração de rotina HE, a infecção parasitária de aves marinhas da espécie atobá-pardo (*Sula leucogaster*) parasitadas em sua musculatura esquelética, cardíaca, ocular e cerebral por *Sarcocystis* spp.

Adicionalmente, destaca-se que os achados histopatológicos registrados neste estudo, mesmo que em uma pequena parcela dos casos, estão relacionados principalmente ao desenvolvimento de miosite eosinofílica até então não diagnosticado nos casos de Sarcocistose em aves. Além disso, os cistos cerebrais descritos neste estudo não evidenciaram quadros de encefalite. O que nos permite observar que há uma grande variação anátomo-clínica específica apresentada pelas aves *Sula leucogaster*.

Sobretudo, a prevalência de infecções relacionadas à essa parasitose em *S. leucogaster*, subsidiará as bases de cálculos e comparação para outros estudos epidemiológicos relacionados a Sarcocistose em aves marinhas.

Contudo, outros estudos deverão ser conduzidos a fim de se estabelecer a identificação das espécies de *Sarcocystis* spp. envolvidas nas infecções musculares dessa população de aves marinhas.

10 REFERÊNCIAS

ACOSTA, I.C.L. **Pesquisa de Coccídeos da família Sarcocystidae em pinguins-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*) encalhados na costa brasileira.** São Paulo, 2017. On line. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10134/tde-06022018-145818/publico/IGOR_DA_CUNHA_LIMA_ACOSTA_original.pdf > Acesso em: 29 de nov. 2021.

ALMEIDA, G.G. de. **Efeitos da gramínea invasora *urochloa decumbens* stapf. (poaceae) sobre a seleção do habitat de nidificação do atobá-pardo (*Sula leucogaster*, 1783) na Ilha do Castilho, Brasil.** São Carlos, 2017. On line. Disponível em: <<https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/10872/DissGGA.pdf?sequence=1&isAllowed=y> > Acesso em: 04 de set. 2020.

ALVES, M.E.M. CADORE, G.C. OLIVEIRA, C.S. PORTELLA, L.P. SANGIONI, L.A. VOGEL, F.S.F. Caracterização molecular de *Sarcocystis* spp. em amostras de carne. **Pesquisa Veterinária Brasileira** vol.38 no.3 Rio de Janeiro Mar. 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-736X2018000300425&script=sci_arttext&lng=pt> Acesso em: 05 de dez. 2020

ANATPAT UNICAMP. **Músculo esquelético normal.** 2021. Disponível em: <<http://anatpat.unicamp.br/musnormal.html>> Acesso: 10 de mai.2021

BIRDLIFE INTERNATIONAL. 2018. *Sula leucogaster*. 249 **The IUCN, Red List of Threatened Species**, 250 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-251 2.RLTS.T22696698A132590197>> Acesso em: 11 de nov. 2020

BRANCO, O.J. FRACASSO, H.A.A. MACHADO, I.F. BOVENDORP, M.S. VERANI, J.R. Dieta de *Sula leucogaster* Boddaert (Sulidae, Aves), nas Ilhas Moleques do Sul, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** 22 (4):1044-1049, 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-81752005000400033 > Acesso em: 04 de set. 2020.

BRANCO, J. **Aves marinhas das Ilhas de Santa Catarina.** 2004. p. 15-36. Em: J. O. Branco (org.) *Aves marinhas e insulares brasileiras: biologia e conservação.* Itajaí: Editora UNIVALI.

BRANCO, J.O. Descartes da pesca do camarão sete-barbas como fonte de alimento para aves marinhas. **Revista Brasileira de Zoologia.** Curitiba, v. 18, n. 1, pág. 293-300, março de 2001. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010181752001000100033&lng=en&nrm=iso>. acesso em 05 de dez. de 2020.

CAPUTO, L.F.G. GITIRANA, L. de. B. MANSO, P.P. de. A. **Apostila Histotécnicas Fiocruz**, v.2 . 2009. Disponível em: <

<https://pt.scribd.com/document/162616570/apostila-HISTOTECNICAS-FIOCRUZ> > Acesso em: 05 de dez. 2020.

CARDOSO, R.N.R. BALDASSIN, P. JERDY, H. CARVALHO, E.C. KANAREK, G. ZALÉSNY, G. WERNECK, M.R. Causes of fatal cyathostomiasis in brown booby (*sula leucogaster*) from brazil: identification of pathogen and implications for management. **Journal of Parasitology** 106 (3), 2020. Disponível em: < https://www.researchgate.net/publication/340679252_Causes_of_Fatal_Cyathostomiasis_in_Brown_Booby_Sula_leucogaster_from_Brazil_Identification_of_Pathogen_and_Implications_for_Management/citations > Acesso em: 22 de ago. 2020.

CASTRO-FORERO, S.P . BULLA-CASTAÑEDA, D.M. LÓPEZ BUITRAGO, H.A.DÍAZ ANAYA, A.M. MADEIRA DE CARVALHO, L.M.PULIDO-MEDELLÍN, M.O. *Sarcocystis* spp., a Parasite With Zoonotic Potential. **Jornal Búlgaro de Medicina Veterinária**, 2020. Disponível em: < https://www.researchgate.net/publication/341931547_SARCOCYSTIS_SPP_A_PARASITE_WITH_ZOONOTIC_POTENTIAL#fullTextFileContent > Acesso em: 05 de dez. 2020.

CAWTHORN R.J., RAINNIE D., WOBESER G. Experimental transmission of *Sarcocystis* sp. (Protozoa: Sarcocystidae) between the shoveler (*Anas clypeata*) duck and the striped skunk (*Mephitis mephitis*) **Journal of Wildlife Diseases**. 1981;17:389–394. Disponível em: < <https://meridian.allenpress.com/jwd/article/17/3/389/118826/EXPERIMENTAL-TRANSMISSION-OF-Sarcocystis-sp> > Acesso em: 30 de nov. 2020.

DUARTE, F.S. **O desafio diagnóstico da Infecção por *Sarcocystis* spp.** Lisboa, , 2017. On line. Disponível em: < <https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/31300/1/FabianaSDuarte.pdf> > Acesso em: 04 de set. 2020.

DUBEY. J. P. Foodborne and waterborne zoonotic sarcocystosis. **Food Waterborne Parasitology**., vol. 1, n. 1, pp. 2–11, 2015. Disponível em: < <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S2405676615300172?token=F94D52EB995AAF6D07F8327FD5E5154F71F56FFE5AE274D4124D294783601EFD82F91EF2537183E9227EFCF2571560B3> > Acesso em: 05 de dez. 2020.

DUBEY, J., CALERO-BERNAL, R., ROSENTHAL, B., SPEER, C., FAYER, R. (2016). Sarcocistose de Animais e Humanos. **Boca Raton**: CRC Press. Disponível em: < <https://www.taylorfrancis.com/books/9780429183188> > Acesso em: 05 de dez. 2020.

FAYER, R. *Sarcocystis* spp. in human infections. **Clinical Microbiology Reviews**, 17, 894–902. 2004. Disponível em: < <https://cmr.asm.org/content/17/4/894> > Acesso em: 11 de nov. 2020.

GERLING, C. RANIERI, C. FERNANDES, L. GOUVEIA, M.T. de. J. ROCHA, V. **Manual de Ecossistemas: Marinheiros e Costeiros para educadores**, 1 ed. Santos, 2016. 35 p. disponível em: < <https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/ManualEcossistemasMarinhoseCosteiros3.pdf> > Acesso em: 03 de jun. 2021

GONÇALVES, S.P. ARAGÃO, K.C.G. TAKEDA, G.K.F. **Pesquisa De Sarcocistos De *Sarcocystis* spp na Musculatura Bovina.** Atas de Ciências da Saúde, São Paulo, vol. 4, n°. 1, pág. 39-49, 2016. Disponível em: < <https://revistaseletronicas.fmu.br/index.php/ACIS/article/view/1083> > Acesso em: 04 de out. 2020.

GJERDE, B. VIKOREN, T. HAMNES, I.S. Molecular identification of *Sarcocystis halietin*. sp., *Sarcocystis lari* and *Sarcocystis truncata* in the intestine of a white-tailed sea eagle (*Haliaeetus albicilla*) in Norway. **Parasites and Wildlife** 7 (2018) 1–11. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5730365/>> Acesso em: 05 de dez. 2020.

GUILLEN, A.C. **Diferentes Métodos De Diagnóstico Molecular Na Diferenciação Das Espécies De *Sarcocystis* spp.** São Paulo, 2011. On line. Disponível em; < https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/119373/guillen_ac_tcc_botfmvz.pdf?sequence=1&isAllowed=y > Acesso em: 04 de set. 2020.

GUIMARÃES, J.P. ADELL, E.A. DE. A. **Estrutura e Bioquímica do Músculo.** Apostila do Laboratório de Carnes, UNICAMP. 1995. Disponível em: <https://www.fea.unicamp.br/sites/fea/files/dta/laboratorios/PPCD/Estrutura_e_Bioquimica.pdf> Acesso em: 10 de mai. 2021.

GUIMARÃES, D.F. CARVALHO, A.P.M. YWASAKI, J. NEVES, C.D. RODRIGUES, A.B.F. SILVEIRA, L.S. Morfologia do coração e dos vasos da base do pinguim-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.70, n.4, p.1195-1202, 2018. Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/LtXbfnW84qShjwnkLxdtWld/?lang=pt&format=pdf>> Acesso em: 29 de nov. de 2021.

GROSE, A.V. SCHULZE, B. CREMER, M.J. Registro de reprodução do atobá-pardo *Sula leucogaster* (Suliformes: Sulidae) em estrutura artificial no estuário da baía da Babitonga, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Ornitologia**, 19(4), 541-544. 2011. Disponível em: < https://www.researchgate.net/publication/216890463_Registro_de_reproducao_do_a_toba-pardo_Sula_leucogaster_Suliformes_Sulidae_em_estrutura_artificial_no_estuario_d_a_baia_da_Babitonga_Santa_Catarina_Brasil > Acesso em: 22 de ago. 2020.

HUSSEIN, D.E. ABU-AKKADA, S.S. BESSAT, M,S. AGGOUR, M.G. OTIFY, Y.Z. Molecular identification of *Sarcocystis* species in imported frozen beef in Egypt. **Alexandria Journal of Veterinary Sciences**. 2017 Vol.53 No.2 pp.72-82 ref.45. Disponível em: <<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20173289824> > Acesso em: 05 de dez. 2020.

JUNQUEIRA L.C.U. CARNEIRO J. **Biologia Celular e Molecular**. 8ª. Edição. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2013, 352p.

KOUYOUMDJIAN, J.A. TOGNOLA, W.A. Sarcosporidiose Muscular: registro de um caso. **Arquivos De Neuro-Psiquiatria** (São Paulo), V.43, no 3. 1985. Disponível em: < <https://www.scielo.br/pdf/anp/v43n3/08.pdf> > Acesso em: 30 de nov. 2020.

LLANO, H.A.B. **Caracterização Molecular de *Sarcocystis* spp. Em Aves Silvestres de Diversas Classes Taxonômicas: Relações entre *Sarcocystis falcatula*, *Sarcocystis neurona* e Organismos Correlacionados Prevalentes no Brasil.** São Paulo, 2019. On line. Disponível em: < https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10134/tde-24012020-123445/publico/Horwald_Alexander_Bedoya_Llano_original.pdf> Acesso em: 04 de set. 2020.

MADEIRA, L.A. SARTORI, J.R. SALDANHA, E.S.P.B. PIZZOLANTE, C.C. SILVA, M.D.P. MENDES, A.A. TAKAHASHI, S.E. SOLARTE, W.V.N. Morfologia das fibras musculares esqueléticas de frangos de corte de diferentes linhagens criados em sistemas de confinamento e semiconfinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.6, p.2322-2332, 2006. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbz/a/mkBL9KCbQMmM9DqTpRvGRdb/?format=pdf&lang=pt>> Acesso em: 29 de nov.2021.

MAPAS, GOOGLE. On line, 2021.

MARTINS, I.V.F. **Parasitologia Veterinária**, 2 ed. Vitória: EDUFES, 2019. 320 p.

MATUSHIMA, E. R. **Técnicas necropscópicas.** In: CUBAS, Z. S; SILVA, J. C. R.; CATÃODIAS, J. L. Tratado de Animais Selvagens. Medicina veterinária. 1. ed. São Paulo: Roca, 2007. p, 980-990.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim eletrônico EPIDEMIOLOGICO.** SVS/MS. Ano 10 nº 2, abril 2010. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/ano10_n02_sit_epidemiol_zoonoses_br.pdf> Acesso em: 11 de nov. 2020.

PEREIRA, A.B. L. CARVALHO, E.C.Q. Sarcocistose em Bovinos Abatidos em Londrina – Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Vol. 10, No 1 (1989). Disponível em: < <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/4778> > Acesso em 11 de nov. 2020

PORTELLA, L.P. **Infecção por *Sarcocystis* spp. Em ovinos e equinos.** Santa Maria, 2015. On line. Disponível em: < <http://w3.ufsm.br/ppgmvm/images/dissertacoes2015/Luiza%20Pires%20Portella.pdf> > Acesso em: 04 de set. 2020.

PRAKAS. P. KUTKIENĖ, L. SRUOGA, A. BUTKAUSKAS, D. *Sarcocystis* sp. from the herring gull (*Larus argentatus*) identity to *Sarcocystis wobeseri* based on cyst morphology and DNA results. **Parasitology Research.** 2011 Dec;109(6):1603-8. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21597959/>> Acesso em: 04 de dez. 2020.

PRAKAS, P. BUTKAUSKAS, D. JUOZAITYTĖ-NGUGU, E. Molecular identification of four *Sarcocystis* species in the herring gull, *Larus argentatus*, from Lithuania. **Parasites and Vectors.** 2020;13(1):2. 2020. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6945713/>> Acesso em: 22 de ago. 2020.

PRAKAS, P. LIAUGAUDAITĖ, S. KUTKIENĖ, L. SRUOGA, A. SVAZAS, S. Molecular identification of *Sarcocystis rileyi* sporocysts in red foxes (*Vulpes vulpes*) and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) in Lithuania. **Parasitology Research** 114(5), 2015. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/272079093_Molecular_identification_of_Sarcocystis_rileyi_sporocysts_in_red_foxes_Vulpes_vulpes_and_raccoon_dogs_Nyctereutes_procyonoides_in_Lithuania/stats> Acesso em: 05 de dez. 2020.

PRAKAS, P. BEA, A. NGUGU, E.J. OLANO, I. VILLANÚA, D. SVAZAS, S. BUTKAUSKAS, D. Molecular identification of *Sarcocystis halioti* in the muscles of two species of birds of prey from Spain. **Parasites & Vectors** 14, 414 (2021). Disponível em: <<https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-021-04921-0#citeas>> Acesso em: 29 de nov. 2021.

QUADROS, R.M. de. BARBOSA, J.A. MARQUES, S.M.T. PILATI, C. Sarcocistose em bovinos abatidos em frigorífico com inspeção federal em Santa Catarina. **Pubivet**, v.13, n.1, a249, p.1-5, Jan., 2019. Disponível em: <<https://www.pubvet.com.br/artigo/5415/sarcocistose-em-bovinos-abatidos-em-frigorificacutefico-com-inspeccedilatildeo-federal-em-santa-catarina>> Acesso em: 05 de dez. 2020.

ROMMEL. M. 1985. *Sarcocystosis* of domestic animals and humans. **In Practice**. 7(5):158-160. 1985. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1136/inpract.7.5.158>> Acesso em: 11 de nov. 2020

SATO, A.P. **Diagnóstico Sorológico E Molecular De *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* E *Sarcocystis sp.* Em Aves Silvestres**. Curitiba, 2018. On line. Disponível em: <<https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/58139>> Acesso em: 05 de dez. 2020.

SCHRAMM, C.C. **Nematoda, Trematoda e Acanthocephala gastrintestinais de Procellariiformes (Aves) encontrados no litoral sul do Rio Grande do Sul, Brasil**. Pelotas, 2017. On line. Disponível em: <<https://wp.ufpel.edu.br/ppgmpar/files/2019/11/Nematoda-Trematoda-e-Acantocephala-gastrintestinais-de-Procellariiformes-Aves-encontrados-no-litoral-sul-do-RS-Brasil.pdf>> Acesso em: 22 de ago. 2020

SIMBA. **Sistema de Monitoramento da Biota Aquática**, 2020. Disponível em: <<https://simba.petrobras.com.br/simba/web/login>> Acesso em: 01 de ago. 2020.

STABENOW, C. S. **Identificação De *Sarcocystis lindsayi-simile* (Apicomplexa: Sarcocystinae) Do Gambá (*Didelphis Aurita*) E Sua Patogenicidade Para O Periquito Australiano (*Melopsittacus undulatus*)**. Campos dos Goytacazes, 2004. On line. Disponível em: <http://www.uenf.br/Uenf/Downloads/PGANIMAL_3897_1164633472.pdf> Acesso em: 22 de ago. 2020.

URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; JENNINGS, F.W. **Parasitologia Veterinária**, 2 ed. Rio de Janeiro, 1998. 273 p.

VANGEEL, L.; HOUF, K.; GELDHOF, P.; NOLLET, H.; VERCRUYSSSE, J.; DUCATELLE, R.; CHIERS, K. Intramuscular inoculation of cattle with *Sarcocystis* antigen results in focal eosinophilic myositis. **Veterinary Parasitology**. v. 183, p. 224–230. 2012. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21852041/> > Acesso em: 22 ago. 2020.

VALADAS, S.Y.O.B. **Caracterização Molecular de Isolados de Sarcocystis spp. Obtidos de marsupiais do gênero Didelphis spp. Pela análise de gene mitocondrial, gene de apicoplasto, espaçador interno transcrito (ITS-1) e genes codificadores de antígenos superficiais (SAGs)**. São Paulo, 2015. On line. Disponível em: < https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10134/tde-14082015-170043/publico/SAMANTHA_YURI_OSHIRO_BRANCO_VALADAS_Original.pdf > Acesso em: 05 de dez. 2020.

VILLWOCK, J.A., 1994. **A Costa Brasileira: Geologia e Evolução**. Porto Alegre: Notas Técnicas, 7: 38-49.

VOITINA, C. Atobá-pardo. **Aves Catarinenses**, 2017. Disponível em: < <http://www.avescatarinenses.com.br/animais/1-aves/457-atoba-pardo/2004> > Acesso em: 22 de ago. 2020.

VOOREN, C.M. BRUSQUE, L.F. **As Aves Do Ambiente Costeiro Do Brasil: Biodiversidade E Conservação**. Apostila da Fundação Universidade Federal de Rio Grande, 1999. 58 p. Disponível em: < http://brazilrounds.anp.gov.br/arquivos/Round7/arquivos_r7/PERFURACAO_R7/refer e/Aves.pdf> Acesso em: 03 de jun. 2021

VOOREN, C.M. CHIARADIA, A. Seasonal abundance and behaviour of coastal birds on Cassino Beach, Brazil. 1990. **Ornitologia Neotropical**, 1 ed. 24 p. disponível em: < https://www.researchgate.net/publication/239731331_Seasonal_Abundance_and_Behaviour_of_Coastal_Birds_on_Cassino_Beach_-_Brazil> Acesso em: 03 de jun. 2021.

WICHT R.J. Transmission of *Sarcocystis rileyi* to the striped skunk (*Mephitis mephitis*). **Journal of Wildlife Diseases**, 1981;17:387–388. Disponível em< <https://doi.org/10.7589/0090-3558-17.3.387>> Acesso em: 30 de nov. 2020.