



AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE COLORAÇÃO NO DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO DE *Sarcocystis* spp. EM AMOSTRAS DE CARNE BOVINA

SOUZA, Vitória Amaral¹; MORON, Sandro Estevan²; SANTOS, Helcileia Dias²

RESUMO

Sarcocystis spp. é um gênero de parasitos do filo Apicomplexa, família Sarcocystidae, com relevância econômica e sanitária, por ser uma parasitose de caráter zoonótico comum em bovinos. O ciclo biológico inclui uma fase assexuada com formação de cistos em tecidos do hospedeiro intermediário, dentre eles a musculatura esquelética, sendo a histopatologia um dos principais métodos de diagnóstico. O presente estudo teve por objetivo avaliar diferentes protocolos de coloração no diagnóstico histopatológico de cistos de *Sarcocystis* spp. em tecido muscular bovino. Para isso, amostras de carne adquiridas em açougues do município de Araguaína-TO, positivas para cistos macroscópicos, foram submetidas a processamento histológico padrão e coradas por hematoxilina e eosina (HE), azul de toluidina, ácido periódico de Schiff (PAS) e *Fast Green*. De todos os cortes foram obtidas fotomicrografias que foram examinadas por três avaliadores e classificadas quantitativamente quanto à visibilidade da parede interna e externa do cisto, coloração dos bradizoítos, contraste do cisto com o tecido muscular e capacidade de demonstração dos septos. Em todos os protocolos de coloração utilizados foi possível observar os cistos de forma distinta dos demais tecidos. A coloração PAS apresentou melhores resultados quanto à diferenciação da parede do cisto, coloração dos bradizoítos e ao contraste do cisto com o tecido muscular. A coloração *Fast Green* possibilitou melhor visualização dos septos. Neste estudo, o método histopatológico se mostrou eficiente para a detecção de cistos de *Sarcocystis* spp. em tecido muscular, sendo o PAS o método de coloração que apresentou melhores resultados e a combinação de mais de um método de coloração pode ampliar a capacidade de observação de estruturas do cisto.

Palavras-chave: Sarcocistose. Zoonoses. Histopatologia. Diagnóstico.

¹ Bolsista do Programa de Iniciação Científica (PIBIC). Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências Agrárias. vitoria.souza@ufnt.edu.br ² Docente. Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Faculdade de Ciências da Saúde. sandro.moron@ufnt.edu.br ³ Docente. Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências Agrárias. helcileia.santos@ufnt.edu.br



I. INTRODUÇÃO/JUSTIFICATIVA

Sarcocystis spp. é um gênero de parasitos pertencente ao filo Apicomplexa e família Sarcocystidae, caracterizado por apresentar um estágio de desenvolvimento sexuado no intestino do hospedeiro definitivo e assexuado, com a formação de cistos, em vários tecidos no hospedeiro intermediário (PESCADOR *et al.*, 2007). Possui como hospedeiros definitivos animais carnívoros como cão, gato e seres humanos e uma ampla variedade de hospedeiros intermediários, dentre eles herbívoros, suínos, aves, répteis e pequenos roedores (CARLTON; MCGAVIN, 2005). É uma das doenças parasitárias mais prevalentes em bovinos em várias regiões do mundo (AKHLAGHI *et al.*, 2016), inclusive no Brasil (RUAS; CUNHA; SILVA, 2001). No estudo histopatológico de tecidos animais, a utilização de métodos de coloração adequados é essencial para garantir diagnósticos precisos e confiáveis, pois as colorações podem aumentar o contraste entre diferentes componentes do parasito e dos tecidos (FERREIRA *et al.*, 2023).

II. BASE TEÓRICA

A identificação morfológica e molecular das espécies de *Sarcocystis* em bovinos tem sido objeto de diversas pesquisas em várias regiões do mundo, uma vez que diferenças sutis na morfologia dos cistos podem dificultar o diagnóstico preciso entre as espécies (DUBEY *et al.*, 2015). Do ponto de vista histopatológico, as lesões associadas à sarcocistose bovina podem ser observadas em músculos esqueléticos e cardíacos e a histopatologia é uma importante ferramenta de diagnóstico (RUAS; CUNHA; SILVA, 2001; PORTELLA *et al.*, 2021).

III. OBJETIVOS



O objetivo geral foi avaliar diferentes protocolos de coloração no diagnóstico histopatológico de cistos de *Sarcocystis* spp. em tecido muscular bovino. Os objetivos específicos foram avaliar as estruturas do cisto de *Sarcocystis* spp. submetidos aos métodos de coloração hematoxilina/eosina (HE), ácido periódico de Schiff (PAS), *Fast Green* e azul de toluidina e determinar qual método de coloração produz melhor visualização das estruturas que compõem o cisto de *Sarcocystis* spp.

IV. METODOLOGIA

Para obtenção dos tecidos infectados por *Sarcocystis*, amostras pesando aproximadamente 70g de tecido muscular bovino, provenientes dos cortes fraldinha (porção costal do diafragma) ou Bife-do-Vazio (músculo reto abdominal) adquiridos em açougues de diferentes bairros do município de Araguaína – TO foram avaliadas por fatiamento e observação visual das fibras musculares e, quando observados cistos sugestivos de *Sarcocystis* spp., um fragmento de tecido de aproximadamente 1cm foi retirado, fixado em solução de formol tamponado a 10% e submetido ao processamento histológico padrão, passando pelas etapas de desidratação, diafanização, impregnação, inclusão em parafina e microtomia. Foram realizadas as colorações hematoxilina e eosina, azul de toluidina, ácido periódico de Schiff, *Fast Green* e tricrômico de Mallory, segundo descrito por TOLOSA *et al.*, (2003) com adaptações nos tempos de coloração.

De cada amostra processada foram obtidas fotomicrografias nas objetivas de 40x em microscópio de luz LABORCARE® L2000-T-PL acoplado a uma câmera fotográfica do modelo GT 5.0. As análises histológicas foram realizadas às cegas, por três examinadores e a coloração e qualidade de visualização das estruturas do cisto em cada coloração foram classificados de forma qualitativa em uma escala de 1 a 3, assim definida: 1- quando não foi possível diferenciar nitidamente a parede do cisto, não era possível visualizar os septos e houve pouco contraste entre o cisto e o



tecido muscular; 2 - quando foi possível diferenciar moderadamente a parede do cisto, os septos foram visualizados porém com baixa nitidez e houve moderado contraste entre o cisto e o tecido muscular; 3 - quando foi possível diferenciar nitidamente a parede do cisto, os septos foram visualizados com boa nitidez e houve acentuado contraste entre o cisto e o tecido muscular. O valor médio obtido para a classificação de cada corante nos quesitos avaliados foi calculado e usado para compor uma escala quantitativa, assim definida: valores médios de 0 a 1 (coloração ruim, o observador tem dificuldade em identificar os cistos e suas estruturas); valores >1 a 2 (coloração regular, o observador identifica o cisto, porém sem a precisão necessária para detalhar estruturas) e valores >2 a 3 (coloração boa, o observador identifica com mais facilidade as estruturas que compõe o cisto, assim como diferencia facilmente o cisto em meio a outros tecidos).

V. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliadas fotomicrografias de cistos macroscópicos obtidas de três amostras de tecido muscular, que resultaram em 9 avaliações para cada corante em cada quesito avaliado. Os valores médios e a classificação de cada coloração nos quesitos avaliados estão expostos na tabela 1, onde se observa que todos os métodos de coloração avaliados foram classificados como bons (>2 a 3), com a coloração PAS destacando-se por apresentar maior média geral (2,61).

A Figura 1 apresenta cistos de *Sarcocystis* spp. observados nas diferentes colorações, onde se observa em destaque, as camadas que compõem a parede do cisto, os septos e a intensidade de coloração dos bradizoítos encontrados nos septos, que determina o contraste entre o cisto e o tecido muscular.

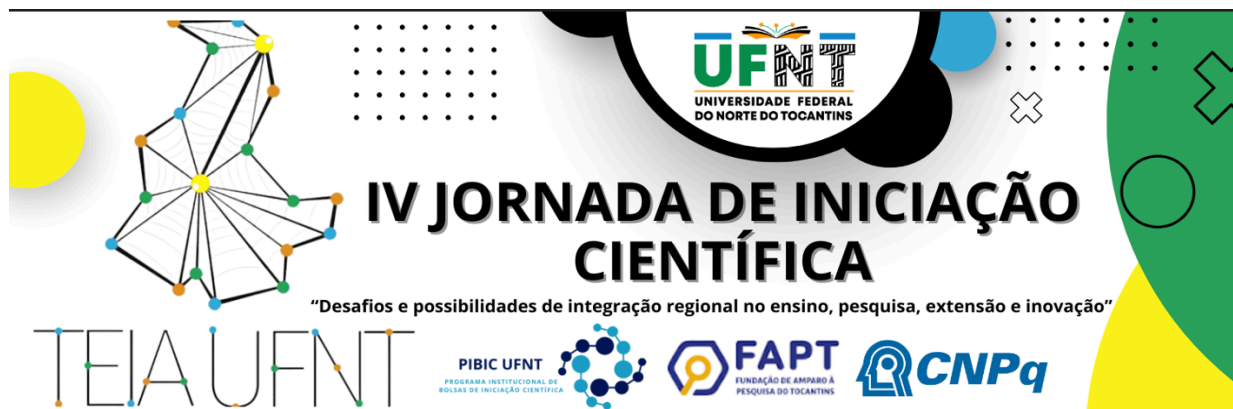
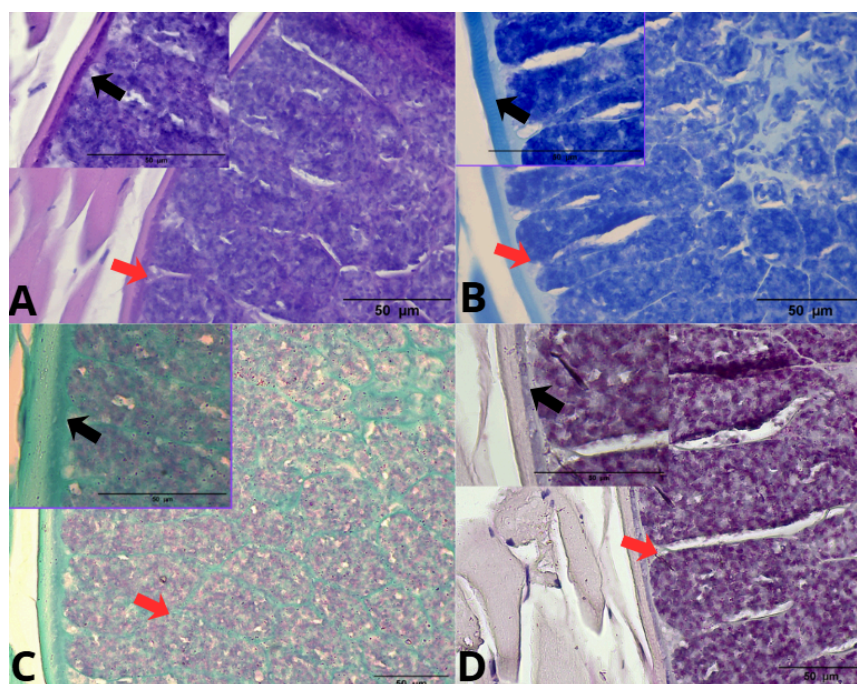


Tabela 1 – Valores médios de classificação de métodos de coloração avaliados para diagnóstico de cistos macroscópicos de *Sarcocystis* spp. em tecido muscular.

Coloração	Visibilidade da parede do cisto	Coloração dos bradizoítos	Contraste do cisto	Visualização dos septos	Média
Fast Green	2,44	2,00	2,78	2,44	2,42
HE	2,56	2,22	2,33	1,89	2,25
PAS	2,78	2,56	2,78	2,33	2,61
Toluidina	2,33	2,22	1,56	2,33	2,11

Fonte: elaborado pelos autores

Figura 1: Fotomicrografias de musculatura bovina parasitada por cisto de *Sarcocystis* spp. submetidos a diferentes protocolos de coloração.





Cisto de *Sarcocystis* spp. em músculo bovino na objetiva de 40X onde é possível visualizar os agrupamentos de bradizoítos separados entre septos (seta vermelha). Em destaque a ampliação de 100x evidenciando a parede do cisto (seta preta). (A) hematoxilina e eosina; (B) Azul de toluidina; (C) *Fast green*; (D) Ácido periódico de Schiff.

A correta descrição da estrutura do cisto de *Sarcocystis* pode auxiliar na identificação das espécies parasitas. Cistos de *Sarcocystis cruzi* são microscópicos, com parede fina (<1 μm) e superfície coberta por projeções ou protusões vilares longas, estreitas, em forma de fita que se afinam em direção à ponta arredondada, enquanto, *Sarcocystis hirsuta* e *Sarcocystis hominis* formam cistos macroscópicos difíceis de serem diferenciados em microscopia óptica, sendo a microscopia eletrônica de transmissão ou o uso de métodos moleculares importantes para uma identificação precisa da espécie (DUBEY *et al*, 2015; DUBEY *et al* 2022).

VI. CONCLUSÃO/CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentre os corantes avaliados, o PAS foi considerado melhor para identificação e observação dos cistos de *Sarcocystis*, porém os corantes *Fast Green*, hematoxilina/eosina e azul de toluidina também proporcionaram uma boa observação de cistos de *Sarcocystis* em musculatura estriada esquelética. Os resultados apontam que a utilização de mais de um método de coloração para estudos e diagnóstico é uma alternativa que amplia a capacidade de observação das estruturas.

VII. REFERÊNCIAS

AKHLAGHI, M.; RAZAVI, M.; HOSSEINI, A. Molecular differentiation of bovine sarcocysts. **Parasitology Research**, v. 115, n. 7, p. 2721–2728, 28 mar. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5020-7>. Acesso em 22 de fev. de 2025

CARLTON, W.W.; MCGAVIN, M.D. **Patologia Veterinária Especial**. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 440 p

DUBEY, J. P. *et al*. **Sarcocystosis of Animals and Humans**. 2ª. ed. Boca Raton: CRC Press, 2015. p. 511



DUBEY, J. P. Redescription, deposition of life-cycle stage specimens of *Sarcocystis bovifelis* Heydorn, Gestrich, Mehlhorn and Rommel, 1975, and amendment to *Sarcocystis hirsuta* Moulé, 1888. **Parasitology**, v. 149, n. 12, p.:1575-1589. 2022. DOI:<https://doi.org/10.1017/s0031182022001044> . Acesso em: 24 de fev. de 2025

FERREIRA , D. M.; CORDEIRO LIMA, A. P.; PEREIRA MELLO DA SILVA, S.; SOUZA, M. A. de; PEREIRA, A. A.; D'ANDRETTA IGLEZIAS, S.; DOS SANTOS CIRQUEIRA , C.; DE SOUZA LIMA, T. A contribuição das colorações histológicas no diagnóstico anatomopatológico realizado pelo Núcleo de Anatomia Patológica do Centro de Patologia – Instituto Adolfo Lutz em 2023. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, [S. l.], v. 83, p. e40628, 2024. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/RIAL/article/view/41164>. Acesso em: 10 out. 2025.

PESCADOR, C. A. *et al.* Aborto ovino associado com infecção por *Sarcocystis* spp. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n. 10, p. 393–397, 1 out. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2007001000001>. Acesso em: 06 de mar. de 2025

PORTELLA, L. P. *et al.* Macroscopic, histological, and molecular aspects of *Sarcocystis* spp. infection in tissues of cattle and sheep. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 30, n. 3, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612021050>. Acesso em 20 de set. de 2025

RUAS, J.; CUNHA, C.W.; SILVA, S.S.; Prevalência de *Sarcocystis* spp. (Lankester, 1882) em bovinos clinicamente sadios, na região sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Agrociências**. Pelotas. v.7.n.3.p.227-2. DOI: Acesso: 06 de mar. de 2025

TOLOSA, E. M. C. *et al.* **Manual de técnicas para histologia: normal e patológica**. São Paulo: Manole, 2003

VIII. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Brasil, CAPES - PROCAD Amazônia e PROPESQ/UFNT, edital n° 012/2025.