

Universidade Federal de Minas Gerais
Escola de Veterinária
Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação

CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO
TENÍASE-CISTICERCOSE BOVINA
EM SÃO JOÃO EVANGELISTA / MG.

FABIANA LEÔNCIO GARRO

Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2011

FABIANA LEÔNCIO GARRO

**CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO TENÍASE-CISTICERCOSE
BOVINA EM SÃO JOÃO EVANGELISTA / MG.**

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da UFMG, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Área: Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal

Orientador: Prof. Wagner Luiz Moreira dos Santos

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2011**

Garro, Fabiana Leôncio, 1984-
G243c

Caracterização do complexo teníase-cisticercose bovina em São João Evangelista /
MG / Fabiana Leôncio Garro. - 2011.
41p. : il.

Orientador: Wagner Luiz Moreira dos Santos
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária
Inclui bibliografia

1. Bovino – Doenças – Teses. 2. Cisticercose – Teses. 3. Teníase – Teses. I. Santos,
Wagner Luiz Moreira dos. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de
Veterinária.
III. Título.

CDD – 636.208 96

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, o criador de todo este universo onde temos a oportunidade de aprender e descobrir coisas maravilhosas. Pela força, coragem, persistência que me foram dadas para realizar esta grande conquista e por conduzir os meus passos rumo a esta vitória.

Aos professores Wagner Luiz Moreira dos Santos e Paulo Sérgio de Arruda Pinto, pela oportunidade e confiança depositada em mim para realizar um trabalho de grandiosa importância. Por me orientarem nesta difícil tarefa, me proporcionando os recursos necessários para a realização deste belo projeto aprovado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Edital MCT/CNPq/MAPA/DAS n°64/2008), financiado pela FAPEMIG e CNPq.

Aos meus pais, Fernando e Paulina, pelo amor e ensinamentos que me ajudaram durante a realização deste mestrado. Também às minhas irmãs, Fernanda e Patrícia, amigas e companheiras em todos os momentos.

Ao Daniel Rezende Xavier, médico veterinário, amigo, companheiro, que me apoiou desde o início, me ajudou com dedicação na difícil tarefa das coletas e fez parte de todo o processo manifestando seu amor e compreensão.

Ao Dr. Luiz Guilherme Dias Heneine, que abriu as portas do Laboratório de Imunologia da Fundação Ezequiel Dias para a realização do Immunoblot, contribuindo com seus conhecimentos para a finalização do projeto.

À equipe do Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal no Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, em especial, Francielen, Emílio, Letícia e Rafaela, que contribuíram com seus conhecimentos e dividiram seu espaço.

Ao Guilherme Vinícius Morais Rocha, coordenador da Vigilância Sanitária do município de São João Evangelista, que nos cedeu o seu tempo e intermediou as comunicações, representando o município na realização deste trabalho. Também agradeço à sua equipe pela grande contribuição.

Ao professor Walter dos Santos Lima e sua equipe, pela pronta disposição em me ajudar. Em especial, Lanuze Rose Mozer Soares, minha amiga desde a graduação.

Ao professor Marcos Xavier, pela paciência ao me ajudar com a difícil tarefa de analisar os dados estatisticamente.

Aos professores e funcionários do DTIPOA, em especial ao secretário do departamento Milton de Jesus e aos técnicos de laboratório Nelson, Marco Antônio, Maura e Valéria pela ajuda e boa convivência durante todos esses anos.

Finalmente, expresso minha alegria e satisfação por tudo o que aprendi durante este mestrado, pelos conhecimentos teóricos e práticos que me foram acrescentados durante a realização deste projeto.

SUMÁRIO

RESUMO	7
1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA	9
2.1 ASPECTOS ECONÔMICOS	9
2.2 CLASSIFICAÇÃO DO AGENTE	10
2.3 COMPLEXO TENÍASE CISTICERCOSE BOVINA	11
2.4 PREVALÊNCIA DA CISTICERCOSE BOVINA	12
2.5 DIAGNÓSTICO E INSPEÇÃO	13
2.6 CONTROLE	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1 AMOSTRAGEM	16
3.2 COLETA DE DADOS	18
3.3 ENSAIOS LABORATORIAIS	18
3.3.1 PREPARAÇÃO DO ANTÍGENO	18
3.3.2 OBTENÇÃO DOS SOROS CONTROLE	19
3.3.3 ELISA	19
3.3.4 IMMUNOBLOT	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
4.1 CARACTERIZAÇÃO SOCIOECONÔMICA E SANITÁRIA	21
4.1.1 CARACTERÍSTICAS SOCIOECONÔMICAS	21
4.1.2 ASPECTOS SANITÁRIOS	22
CARACTERÍSTICAS DA ÁGUA UTILIZADA	
DESTINO DO ESGOTO	
DESTINO DO LIXO	
CONHECIMENTO, HÁBITOS ALIMENTARES E CULTIVO DE HORTA	
4.2 PREVALÊNCIA DO COMPLEXO TENÍASE CISTICERCOSE	23
4.2.1 CISTICERCOSE BOVINA	23
4.2.2 TENÍASE EM HUMANOS	24
4.3 ASSOCIAÇÃO ENTRE O COMPLEXO TENÍASE CISTICERCOSE E AS VARIÁVEIS SOCIOECONÔMICAS E SANITÁRIAS	25
5. CONCLUSÕES	27
6. RECOMENDAÇÕES	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
ANEXOS	
ANEXO 1. Reagentes e Soluções	32
ANEXO 2. Termo de Consentimento Livre Esclarecido	37

ANEXO 3. Questionário	39
------------------------------------	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Relação de comunidades rurais do município de São João Evangelista – MG, número de propriedades e bovinos amostrados por comunidade	17
--	----

Quadro 2. Resultados extraídos do questionário aplicado nas propriedades.....	20
--	----

Quadro 3. Resultados extraídos do questionário aplicado nas propriedades e das análises realizadas	21
---	----

Quadro 4. Amostras consideradas suspeitas no teste ELISA e a média de suas densidades ópticas (D.O)	24
--	----

Quadro 5. Frequência de parasitos gastrointestinais em 34 habitantes da área rural do município de São João Evangelista – MG, 2010.	25
---	----

Quadro 6. Relação estatística encontrada entre os eventuais fatores de risco e a ocorrência da cisticercose bovina.	26
---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo da <i>Taenia saginata</i>	12
--	----

Figura 2. Mapa da Microrregião da Bacia do Suaçuí	16
--	----

RESUMO

Este trabalho foi elaborado visando à caracterização da situação da Teníase humana e Cisticercose bovina no município de São João Evangelista, situado na microrregião de Guanhães, Minas Gerais. Foi realizada a coleta de sangue de 339 bovinos em 15 propriedades escolhidas aleatoriamente para a realização dos testes sorológicos ELISA e *Immunoblot* a fim de diagnosticar a cisticercose, utilizando antígeno de líquido vesicular (LVcra) de *Taenia crassiceps*. Em cada propriedade foi preenchido um questionário para a obtenção de informações sobre as condições socioeconômicas e sanitárias relacionadas ao sistema de criação animal, higiene pessoal e padrão da alimentação humana e dos animais a fim de identificar fatores que favorecem a manutenção da infecção pela *Taenia saginata*. Também houve o diagnóstico de teníase humana através de exame coproparasitológico de habitantes das propriedades. Encontrou-se a prevalência de 4,1% para cisticercose bovina e a frequência de 2,94% para teníase humana. Dentre os fatores de risco, houve relação estatisticamente significativa ($p=0,042$) entre a ocorrência de cisticercose bovina e a ingestão de carne mal passada. Concluiu-se que a cisticercose bovina está amplamente distribuída no município de São João Evangelista, com índices considerados endêmicos, sendo necessária a adoção de medidas de controle com contínua vigilância epidemiológica e sanitária.

Palavras Chave: Cisticercose bovina, Teníase humana, *Taenia saginata*, *Taenia crassiceps*, ELISA, Immunoblot.

ABSTRACT

This study was carried out to determine the situation of human taeniasis and bovine cysticercosis in the city of São João Evangelista, located in Guanhães, Minas Gerais. Serum samples was collected from 339 cattle in 15 randomly selected farms to perform ELISA and Immunoblot serological tests in order to diagnose cysticercosis, using vesicular fluid antigen (LVcra) from *Taenia crassiceps*. A socioeconomic questionnaire was filled in each property for the analysis of the factors that favor the maintenance of the complex. Additionally, there was the diagnosis of human taeniasis verified by stool examinations of the properties' inhabitants. A prevalence of 4.1% for bovine cysticercosis and the frequency of 2.94% for human taeniasis was found. Among the risk factors, a statistically significant relation ($p = 0.042$) was found between the occurrence of bovine cysticercosis and the ingestion of undercooked meat. It was concluded that bovine cysticercosis is widely distributed in the city of São João Evangelista, with rates considered endemic, being it necessary to adopt controlling measures with continuous epidemiological and health surveillance.

Keywords: Bovine cysticercosis, human taeniasis, *Taenia saginata*, *Taenia crassiceps*, ELISA, Immunoblot.

1. INTRODUÇÃO

A bovinocultura de corte representa a maior fatia do agronegócio brasileiro, gerando faturamento de R\$ 50 bilhões por ano e oferecendo cerca de 7,5 milhões de empregos. Mas, a cisticercose bovina é um problema atual que determina prejuízos econômicos em toda a cadeia de produção, principalmente aos estabelecimentos responsáveis pelo abate e aos produtores, além de representar um fator de risco para a saúde pública (ABIEC, 2010a; UNGAR *et al.*, 2008).

A cisticercose em bovinos é transmitida pela ingestão de ovos de *Taenia saginata*, através de alimentos e ambientes contaminados, como a água, o solo, o vento, as forragens e outros. No organismo do animal a forma larval do parasita (cisticerco) é encontrada em alguns tecidos e órgãos após o abate. O hospedeiro definitivo deste helminto é o homem que, ao ingerir carnes contaminadas com o cisticerco vivo, desenvolve em seu intestino delgado a forma adulta do parasita denominada popularmente como “solitária”.

Uma forma de controle do Complexo Teníase-Cisticercose Bovina (CTC) é a inspeção higiênico-sanitária e tecnológica de carnes (HST). O diagnóstico em abatedouros é realizado através da inspeção visual dos músculos da mastigação, coração, língua e diafragma, sendo fiscalizados por órgão municipal, estadual ou pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF), porém, a sensibilidade deste método é baixa, especialmente em infecções leves (BRASIL, 1971; MINOZZO *et al.*, 2004).

O abate clandestino representa um fator agravante, pois, impede a atuação da inspeção oficial sobre a obtenção da carne e coloca em risco a saúde da população. Outro problema é a existência de estabelecimentos com inspeção sanitária

oficial que não realizam as técnicas preconizadas pela lei e, o mais grave, sem a presença permanente do Médico Veterinário (SANTOS, 2009¹). Estas irregularidades impedem um completo e real levantamento da frequência da cisticercose bovina no Brasil, que em maior parte, é determinada a partir de dados obtidos pelo serviço de inspeção em matadouros.

Os testes imunológicos como o ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) e Immunoblot são realizados a partir do soro sanguíneo e têm sido utilizados experimentalmente como métodos de diagnóstico *ante-mortem* da cisticercose bovina. Estes podem contribuir para a precisão dos dados oficiais em estabelecimentos inspecionados e servir de instrumento para a colheita de dados em estudos epidemiológicos e no monitoramento de parasitoses em animais de abate.

São João Evangelista situa-se na microrregião de Guanhães e está entre os 17 municípios da Associação microrregional da Bacia do Suaçuí. Este município possui 747 estabelecimentos agropecuários com um total de 24.070 bovinos, segundo dados do IBGE, 2006. Dessa forma, um levantamento epidemiológico da cisticercose bovina na região seria importante para estabelecer a prevalência da doença, identificar os fatores que favorecem a sua ocorrência e propor medidas de controle.

Diante do exposto, este trabalho foi elaborado visando à caracterização da situação do Complexo Teníase-Cisticercose no município de São João Evangelista,

¹ SANTOS, W.L.M. Comunicação pessoal – Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal, DTIPOA – UFMG, 18 de Nov. 2009.

situado na microrregião de Guanhães, Minas Gerais, por meio de métodos coproparasitológicos e imunológicos (ELISA e Immunoblot), através dos seguintes objetivos:

- 1- Estimar a prevalência da cisticercose bovina e a frequência da teníase humana no município de São João Evangelista, situado na microrregião de Guanhães, Minas Gerais.
- 2- Coletar e analisar informações sobre as condições sanitárias relacionadas ao padrão de alimentação, saneamento, higiene pessoal e criação animal, que podem favorecer a transmissão dos diferentes estágios biológicos da *Taenia saginata*.
- 3- Enviar relatórios sobre os dados coletados e os resultados encontrados aos órgãos oficiais para que se possa desenvolver um trabalho de orientação sobre o Complexo Teníase-Cisticercose e de assistência técnica à população e, principalmente, aos produtores rurais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos Econômicos

Segundo a FAO, 2009 (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação), a produção de carne bovina foi de 66,4 milhões de toneladas no ano de 2007, sendo comercializados 7,0 milhões de toneladas em todo o mundo, com perspectiva de aumento destes índices nos próximos anos. No mesmo ano, o consumo humano per capita de carnes foi de 41,6 Kg/ano no mundo, 82,3 Kg/ano em países desenvolvidos e 30,6 Kg/ano em países em desenvolvimento, sendo que, o preço da carne subiu 19% no período de janeiro a dezembro de 2008 devido ao aumento da demanda e consumo, em relação a 2007.

A bovinocultura de corte representa a maior fatia do agronegócio brasileiro, sendo que o país possui um rebanho bovino com cerca de 205 milhões de cabeças, com taxa de abate de aproximadamente 23,0%. O Brasil está em contínuo crescimento e tem apresentado avanços nos índices de produtividade, ocupando atualmente o segundo lugar, representando 16,6% de toda a carne bovina produzida no mundo. É o maior exportador, chegando a comercializar com outros países 7,4 milhões de toneladas, o que representa 24,4% de toda carne bovina exportada mundialmente. A exportação inclui carne *in natura*, miúdos, salgadas, tripas e industrializadas, sendo que *in natura* corresponde a 77% desse volume (ABIEC, 2010a; ABIEC, 2010b; Portal do Agronegócio, 2011).

Atualmente, o principal estado exportador é São Paulo, detendo 40,9% dos embarques. A segunda posição pertence a Goiás, com 13%. Mato Grosso ocupa o terceiro lugar com 12,7% e, o Mato Grosso do Sul, o quarto, com 11,1%. Esses quatro estados representam 77,7% das exportações de carne bovina. Do que resta, Minas Gerais detém 6,9%, Rio Grande do Sul 4,5% e Rondônia, 3,9% e os demais Estados 7,1% (TORRES, 2009). Em Minas Gerais há 46 frigoríficos registrados no Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) com inspeção permanente. Cada um deles possui um Fiscal agropecuário (médico veterinário) e dois Agentes Sanitários do Instituto em tempo integral. No primeiro trimestre desse ano, o Brasil negociou US\$ 1,2 bilhão, Minas gerou US\$ 76,4 milhões, evolução de 18,7% em relação ao ano anterior. (Portal do Agronegócio, 2009; Portal do Agronegócio, 2011).

O CTC apresenta distribuição cosmopolita, com regiões de altos índices endêmicos como América Latina, África, Oriente Médio e Ásia Central. Estima-se que as perdas causadas anualmente sejam de US\$

3 a 4 bilhões, considerando os gastos com medidas de controle e prevenção, a condenação ou o aproveitamento condicional das carcaças, bem como os custos de tratamento de humanos infectados (UNGAR *et al.*, 2008).

A cisticercose bovina afeta principalmente regiões cuja população apresenta baixas condições sócio-econômicas, envolvendo vários fatores como o precário saneamento básico, ausência de orientação quanto aos hábitos de alimentação e higiene pessoal, a criação de animais sem adequadas condições de higiene e com uma grande proximidade do homem, a precariedade e ineficiência dos serviços de inspeção e de vigilância sanitária, assim como o comércio clandestino de carnes (FREITAS e PALERMO, 1996; QUEIROZ *et al.*, 2000).

Uma das atividades preventivas e de grande importância para afastar do mercado carnes impróprias para o consumo ou que possam ser potencialmente prejudiciais, é a inspeção sanitária criteriosa de carnes realizada em estabelecimentos caracterizados como matadouros (SANTOS *et al.*, 2003). A cisticercose é a principal causa de condenação de bovinos abatidos em frigoríficos de Minas Gerais sujeitos à Inspeção Federal (QUEIROZ *et al.*, 2000). Baptista (1999), afirmou que a cisticercose foi a doença que mais levou carcaças ao julgamento, sendo que, das 34.203 que tiveram este destino 62,78% tiveram aproveitamento condicional, ocasionando um grande prejuízo aos produtores. O impacto da ocorrência da cisticercose está relacionado a perdas econômicas da ordem de U\$ 420 milhões anuais na América do Sul (OPAS, 1994; citado por PEREIRA *et al.*, 2006).

O que agrava a situação de diversos países é a matança clandestina de animais. Este tipo de abate tem impedido a atuação do controle sanitário sobre a carne e a sua

comercialização coloca em risco a saúde dos consumidores (UNGAR *et al.*, 2008).

2.2 Classificação do Agente

A *Taenia saginata* pertence à família *Taenidae*, à classe *Cestoidea* e à ordem *Cyclophyllidea*. O cestóide mede até 8 metros de comprimento e possui uma cabeça ou escólex quadrangular sem rosetos ou ganchos, um pescoço curto não segmentado e um estróbilo formado por uma cadeia de segmentos denominados proglotes.

As proglotes são subdivididas em jovens, maduras e grávidas. Quando maduras, já apresentam órgãos reprodutores, feminino e masculino, bem desenvolvidos e um poro genital que se abre na borda lateral. O útero do segmento gravídico apresenta até 26 ramos laterais de cada lado do tronco central e pode ocorrer autofertilização ou fertilização cruzada entre as proglotes devido a sua característica hermafrodita.

As proglotes da *T. saginata*, em geral, saem intactas do estróbilo e podem se deslocar ativamente devido à sua musculatura robusta, não dependendo da eliminação através das fezes do hospedeiro. Cada proglote contém cerca de 160.000 ovos, sendo que 50% são maduros e férteis, podendo sobreviver nas pastagens durante vários meses. O ovo é constituído pelo embrião hexacanto, também denominado oncosfera, uma “casca” protetora, formada por blocos piramidais de quitina, chamada embrióforo e uma casca verdadeira, que é uma membrana delicada e freqüentemente se perde ainda no útero. O cisticerco maduro (*Cysticercus sp.*) mede 4 a 6 mm de largura, está cheio de líquido envolvido por uma parede delgada e translúcida, no qual o escólex é visto com nitidez e possui coloração branco-acinzentado ou rosado (URQUHART *et al.*, 1996; FORTES, 2004; SILVA., 2005; UNGAR *et al.*, 2008).

2.2 Complexo Teníase – Cisticercose Bovina

O homem é o único hospedeiro definitivo da *T. saginata*, mas sua forma larval pode parasitar hospedeiros intermediários, sendo os principais bovinos e búfalos, também acometendo ruminantes silvestres como lhama, rena, girafa, gnu, antílope e gazela. O cestóide adulto é encontrado no intestino delgado, e pode ocorrer a eliminação de 500 mil a um milhão de ovos por dia, seja no interior das proglotes ou livres através das fezes (UNGAR *et al.*, 2008).

O homem adquire a Tênia ao ingerir carne crua ou mal cozida contendo cisticercos. Os cisticercos são liberados durante a digestão e o escólex desinvagina-se sob a ação da bile, fixando-se no intestino delgado (Fig.1). Normalmente, o hospedeiro alberga apenas um parasita, que pode sobreviver até 10 anos e chegar a 8 metros de comprimento. Ainda não foi comprovada cientificamente a infecção do homem com ovos de *T.saginata* causando cisticercose (SILVA, 2005).

A transmissão indireta aos hospedeiros intermediários é característica da doença, e as vias abrangem a água, o solo, o vento, os alimentos (silagem, feno, pastagem), os vetores mecânicos e os carreadores. Os ovos são sensíveis à dessecação e à temperatura elevada, podendo permanecer viáveis na pastagem por períodos de aproximadamente, quatro até doze meses. A dispersão destes ovos no meio hídrico é altamente favorecida pelos rios, pois não

são totalmente eliminados pelo tratamento convencional de esgotos (PFUETZENREITER *et al.*, 2000; UNGAR *et al.*, 2008).

Quando os ovos de Tênia são ingeridos pelos hospedeiros intermediários, os embriões (oncosferas) são liberados no intestino delgado pela ação dos sucos digestivos e bile. As oncosferas penetram na parede intestinal e difundem-se no organismo através da circulação sanguínea. Estas se desenvolvem para cisticercose em qualquer tecido mole e podem ser encontrados na pele, músculos esqueléticos e de maior movimentação como o masseter, língua e coração. Após duas semanas o cisticercos pode ser visualizado macroscopicamente como uma mancha pálida, semitransparente, com cerca de 1,0 mm de diâmetro. Posteriormente, é encerrada pelo hospedeiro em uma cápsula fibrosa fina, mas ainda pode-se visualizar o escólex.

A longevidade do cisticercos no hospedeiro varia de acordo com a sua localização, apresentando média de um ano. Quando o cisticercos morre, é substituído por uma massa friável, caseosa, que pode tornar-se calcificada. Eventualmente, podem-se encontrar cistos vivos e mortos em uma mesma carcaça (NASCIMENTO, 1995; URQUHART *et al.*, 1996).

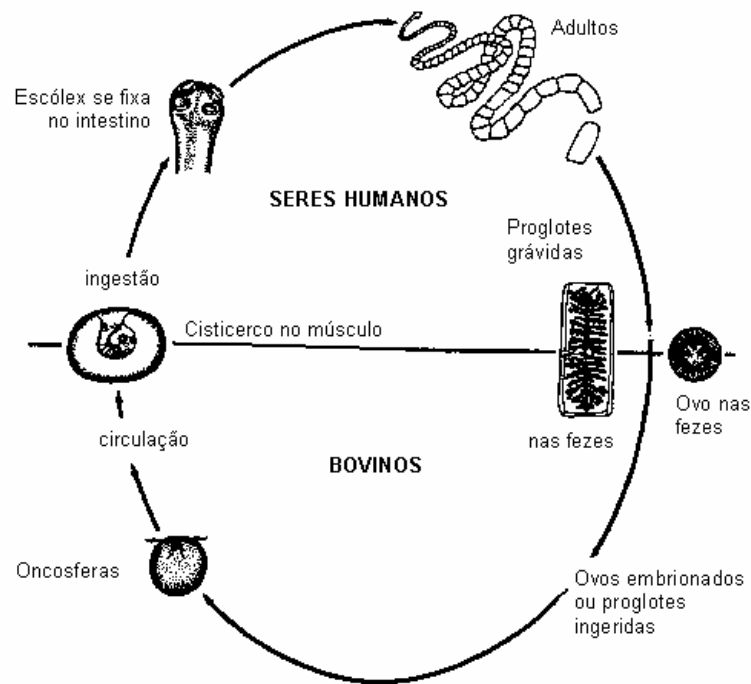


Figura.1 – Ciclo biológico da *Taenia saginata*
(Fonte: Centro de Vigilância Epidemiológica – CVE)

2.4 Prevalência da Cisticercose Bovina

O CTC, determinado pela *Taenia saginata*, está amplamente difundido na maioria dos países em que há criação bovina. No entanto, o conhecimento da prevalência da doença, tanto no homem quanto nos animais, é deficiente devido à falta de dados sistemáticos, fidedignos e comparáveis (UNGAR *et al.*, 1992).

Em muitas regiões da África, Ásia e América Latina a incidência de infecção por *T. saginata* é alta, sendo que, em algumas regiões é superior a 20%. Isto ocorre devido à criação extensiva de bovinos, a falta de higiene humana e ao cozimento inadequado de carnes (URQUHART *et al.*, 1996).

No Kênia, a prevalência de cisticercose bovina abrange uma faixa de 0,74% em

algumas regiões, alcançando 18% em outras (ONYANGO-ABUJE *et al.*, 1996). Em algumas regiões como a Europa, a América do Norte, a Austrália e a Nova Zelândia, a prevalência de cisticercose é baixa e corresponde a menos de 1% das carcaças examinadas, pois, os padrões de higiene humana são altos, a carne é bem inspecionada e completamente cozida para o consumo (URQUHART *et al.*, 1996).

No Brasil a média da prevalência da cisticercose bovina é de 5%, porém, estes índices podem variar segundo a região geográfica ou período de realização de trabalho. Também não existem dados conclusivos quanto à prevalência da teníase em humanos (MINOZZO *et al.*, 2004; SOUZA *et al.*, 2007).

FERNANDES *et al.* (2002), verificaram a situação da incidência de casos de

cisticercose em 625.593 bovinos abatidos no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2002, em Matadouro-Frigorífico com SIF, localizado no município de Andradina, São Paulo. Os dados obtidos foram submetidos à análise descritiva que revelou os seguintes índices por procedência dos animais: São Paulo 2,87%, Mato Grosso do Sul 1,46%, Goiás 1,51%, Paraná 1,97%, Minas Gerais 2,18% e Mato Grosso 0,42%. Identificou-se uma predileção do parasito aos músculos cardíacos e mastigadores (96,73%). CARMO *et al.* (1997), encontraram uma prevalência de cisticercose bovina de 1,04%, após pesquisa no Mato Grosso do Sul durante o período de 1983 a 1993, com um total de 7.193.498 bovinos abatidos.

Utilizando técnicas padronizadas de inspeção *post mortem*, SANTOS *et al.* (2003), encontraram nos matadouros do Estado do Rio de Janeiro uma prevalência de 5,81% de cisticercose bovina, relativo a 430 bovinos abatidos no ano de 2001. Os locais de predileção dos cisticercos foram principalmente os músculos mastigatórios (56%) e o coração (28%), seguido da língua e diafragma (8% cada). PEREIRA *et al.* (2006), também pesquisaram a prevalência da cisticercose em carcaças de bovinos abatidos sob SIF, no estado do Rio de Janeiro no período de 1999 a 2003 e encontraram uma média de 1,95% de prevalência, sendo que no município de Duas Barras o índice foi de 4,29%.

UNGAR *et al.* (1992), utilizando dados do SIF no Estado de São Paulo, encontraram no ano de 1986 uma prevalência de cisticercose bovina de 5,5%, referente ao total de 896.654 bovinos abatidos. CORRÊA *et al.* (1997), pesquisaram a prevalência de cisticercose em bovinos abatidos sob o Serviço de Inspeção Estadual, no município de Santo Antônio das Missões, no Rio Grande do Sul, e encontraram 4,63% de prevalência no período de janeiro a dezembro de 1996.

Foram inspecionados 7.611 bovinos e observaram-se *Cysticercus bovis* em 221 corações, 97 cabeças e 35 línguas.

SOUZA *et al.* (2007), encontraram uma prevalência média de 3,83% no estado do Paraná, no período entre julho a dezembro de 2000, em 26.465 animais procedentes de 137 municípios, que foram abatidos sob SIF na Região Metropolitana de Curitiba. De acordo com o sexo dos animais não foi verificada predileção ou especificidade parasitária sendo que nos machos foi encontrado o índice de 3,81% e nas fêmeas 3,93%. SANTOS (2008), utilizou dados obtidos de um estabelecimento de abate de bovinos sob o Serviço de Inspeção Estadual durante o período de janeiro a dezembro de 2006 e encontrou uma prevalência de cisticercose bovina de 1,4% referente a 19.072 animais batidos procedentes de diversos municípios do Estado de Santa Catarina.

Estes dados de prevalência da cisticercose bovina permitem identificar a teníase e a cisticercose como um sério problema de saúde pública. Também se observa que quase todo o território nacional é afetado pelo CTC, destacando-se a importância de estabelecer medidas de controle para todo o território nacional e métodos de inspeção em matadouros que permitam um diagnóstico mais eficaz da cisticercose bovina.

2.5 Diagnóstico e Inspeção

O exame *post mortem* minucioso, para a detecção da parasitose em matadouros, é sem dúvida, o meio prático exequível aceito internacionalmente para o controle da cisticercose bovina. Metodologia aperfeiçoada, inspetores de carnes devidamente treinados e capacitados, associados a instalações adequadas, pode revelar uma porcentagem consideravelmente maior de casos positivos (SANTOS *et al.*, 2003).

As técnicas de exame *post mortem* e os procedimentos que são utilizados na inspeção de carnes demonstram variações nos diversos países. No Brasil a inspeção é feita em áreas específicas no animal como, coração, músculos da mastigação, língua, diafragma e seus pilares, bem como músculos de fácil acesso de inspeção obrigatória. Somente inspecionam-se outras áreas quando são encontradas infestações nesses pontos, necessitando uma melhor avaliação da situação do animal (QUEIROZ *et al.*, 2000; BRASIL, 1980).

Podem ocorrer resultados falso-negativos em bovinos que apresentam cistos em outros locais da carcaça durante a inspeção *post mortem*. Sabe-se que os cistos mortos ou calcificados (esbranquiçados) são mais fáceis de serem identificados do que os cistos vivos (rosa-pálidos), que podem passar despercebidos durante a inspeção (MONTEIRO *et al.*, 2007; ONYANGO-ABUJE *et al.*, 1996).

Algumas pesquisas têm indicado a baixa sensibilidade da inspeção “post-mortem”, associando isto à incapacidade dos métodos parasitológicos de demonstrarem a presença desse parasita nos bovinos. Por isso, têm sido desenvolvidos métodos de diagnósticos *in vivo* que são representados por provas sorológicas, como fixação de complemento, hemaglutinação indireta, teste imunoenzimático que auxiliem no diagnóstico da cisticercose bovina e que possam ser realizados durante a inspeção “ante-mortem” (QUEIROZ *et al.*, 2000; MINOZZO *et al.*, 2002; MINOZZO *et al.*, 2004).

O resultado da aplicação da técnica de ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) em animais considerados negativos na inspeção demonstrou a presença de anticorpos, o que significa que animais cisticercóticos poderiam estar escapando à metodologia de rotina (MINOZZO *et al.*, 2002). Segundo MINOZZO *et al.* (2004), é

possível a aplicação do teste ELISA como ferramenta para estudos epidemiológicos da parasitose, na identificação de animais portadores de cistos e no monitoramento da prevalência de teníase humana através de exames realizados no rebanho de cada propriedade rural.

DORNY *et al.* (2000), realizaram um inquérito soro-epidemiológico para determinar a prevalência da cisticercose em 1.164 bovinos abatidos em 20 matadouros de exportação na Bélgica, no período de novembro de 1997 a junho de 1998, através do teste ELISA. No estudo, encontraram uma prevalência acima de 10 vezes (3,09%) a que foi encontrada pela inspeção realizada (0,26%), concluindo que o método convencional de inspeção possui baixa sensibilidade e que o cisticercose pode estar além dos lugares determinados como de predileção do parasito.

PINTO *et al.* (2000), avaliando o desempenho do teste ELISA no diagnóstico da cisticercose suína utilizando antígenos de *T. crassiceps* e *T. solium*, observaram que o antígeno de líquido vesicular de *T. crassiceps* apresentou taxas de 80% de sensibilidade e 100% de especificidade. Com isso, concluiu que o teste pode ser aplicado no diagnóstico de cisticercose suína em situações de triagem, assim como em estudos epidemiológicos, indicando áreas de risco em que há necessidade de controle da doença.

O ELISA é considerado um teste sorológico rápido e sensível para cisticercose que, segundo QUEIROZ *et al.* (2000), deve ser instituído como rotina para triagem dos animais, principalmente em regiões de alta prevalência, possibilitando também examinar um grande número de amostras, em curto tempo, tornando-se adequado para estudos epidemiológicos e aumentando a eficiência do diagnóstico dessa zoonose.

O emprego do *immunoblot* no diagnóstico da cisticercose bovina ainda é pouco conhecido, mas esse método já vem sendo utilizado com sucesso no diagnóstico da cisticercose suína e humana, realizado com extratos antigênicos de larvas de *Taenia saginata*, *Taenia solium* e *Taenia crassiceps*.

GIROTTO, *et al.* (2009), realizaram ensaios de *immunoblot* para analisar os peptídeos responsáveis pela reação do antígeno vesicular de *T. crassiceps*, sendo que os peptídeos 4-6, 14 e 18KDa mostraram altas taxas de desempenho no diagnóstico da cisticercose bovina. SANTOS (2010), utilizou o *immunoblot* como teste confirmatório para determinar a prevalência de cisticercose suína e bovina em propriedades da zona rural do município de Viçosa, encontrando a prevalência de 0,6% e 0,42% respectivamente.

GIROTTO (2007), ao avaliar o desempenho do *immunoblot* no diagnóstico da cisticercose bovina, concluiu que os antígenos de cisticercos de *Taenia crassiceps* são de fácil produção e manutenção em laboratório e comportam-se favoravelmente no diagnóstico da cisticercose bovina, assim como o de *Taenia saginata*. Além disso, afirmou que o *immunoblot* é um método diagnóstico confiável que poderia servir como alternativa ou aperfeiçoamento da inspeção nos matadouros, em investigações epidemiológicas ou na rastreabilidade dos focos de cisticercose.

Os ensaios imunoenzimáticos como o ELISA e o *Immunoblot*, utilizando antígenos heterólogos como os de *T. crassiceps* e *T. saginata* podem constituir uma importante ferramenta para o diagnóstico da cisticercose bovina durante a inspeção em abatedouros e a realização de levantamentos epidemiológicos.

2.6 Controle

O controle da cisticercose bovina depende de condições de higiene humana, da prática geral de cozimento da carne (o ponto térmico da morte de cisticercos é de 57°C) e da inspeção compulsória da carne. Nos países em desenvolvimento, as medidas de controle não são feitas de forma efetiva e o abate clandestino de carnes dificulta muito a ação da inspeção higiênico-sanitária e tecnológica de carnes (HST) (URQUHART *et al.*, 1996).

É necessário que seja feito o diagnóstico em matadouros através da inspeção e a destinação adequada das carcaças e dos órgãos afetados. No Brasil, quando é detectada uma carcaça com infecção moderada ou localizada, esta pode ser aproveitada condicionalmente desde que seja submetida a um dos seguintes procedimentos: tratamento pelo frio à temperatura inferior a 1°C por 10 dias; tratamento pelo calor à temperatura mínima de 60°C; ou tratamento pela salga à temperatura de 10°C por 21 dias. É comum o descarte da carcaça com infecção intensa, quando é encontrado um ou mais cistos em incisões praticadas em várias partes de musculatura e numa área que corresponde aproximadamente à palma da mão (BRASIL, 1980; URQUHART *et al.*, 1996).

A educação sanitária é imprescindível para que haja o esclarecimento da população a respeito do modo de transmissão e prevenção do complexo teníase-cisticercose. Deve-se ingerir, preferencialmente, carne bem cozida a temperaturas acima de 60°C provenientes de Matadouros-Frigoríficos inspecionados.

É importante a realização do diagnóstico através de exames coproparasitológicos e imunológicos para posterior tratamento. As medidas aplicáveis ao ambiente objetivam evitar a dispersão de ovos e são baseadas,

primordialmente, na educação sanitária. Esta tem como objetivo a orientação da população quanto ao destino adequado dos dejetos humanos, evitando-se a contaminação de água, solo e alimentos e também quanto a se evitar o uso de efluentes de esgotos para irrigação de pastagens e plantações (UNGAR *et al.*, 2008; URQUHART *et al.*, 1996).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostragem

O estado de Minas Gerais é dividido em 10 macrorregiões, 66 microrregiões e 39 associações microrregionais. São João Evangelista situa-se na microrregião de Guanhães e está entre os 17 municípios da Associação microrregional da Bacia do Suaçuí (Fig.2), (ALMG, 2010). Este município apresenta uma população estimada de 16.254 habitantes, em uma área de 479km². Segundo o censo agropecuário de 2006 existem 747 estabelecimentos agropecuários em terras próprias, que correspondem a 30.642 hectares (IBGE, 2006).



Figura 2. Mapa da Microrregião da Bacia do Suaçuí
(Fonte: AMBAS – Associação dos Municípios da Microrregião da Bacia do Suaçuí.)

Para o estudo, foram consideradas as propriedades produtoras de criação extensiva, cadastradas nos órgãos públicos estaduais, segundo a facilidade de desenvolver o referido trabalho em parceria com Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), preservando uma distribuição representativa. A amostragem foi calculada considerando-se o número total de 24.070 bovinos na região, uma prevalência estimada de 2% para a cisticercose, precisão de 1,5% e nível de significância de 5% (Epi Info, versão 3.5.1, CDC, 2008).

Durante a determinação da amostragem, foram realizadas reuniões com a equipe técnica, sob a orientação do IMA (Instituto Mineiro de Agropecuária), que forneceu as informações necessárias sobre as propriedades cadastradas. Sendo assim, foi realizado um estudo epidemiológico transversal envolvendo 15 propriedades escolhidas de forma aleatória simples através de sorteio, abrangendo todas as macrorregiões do município (norte, sul,

centro, leste e oeste) e um total de 12 comunidades rurais, quadro 1.

As coletas foram realizadas em 339 bovinos, no mês de julho de 2010, juntamente com o preenchimento de um questionário sobre as condições socioeconômicas e sanitárias das propriedades relacionadas ao sistema de criação animal, higiene pessoal e padrão da alimentação humana e dos animais (Anexo 3), preenchido durante cada visita. O número amostral dentro de cada propriedade foi determinado pela definição de pequena (até 20 cabeças), média (21 a 200 cabeças) e grande propriedade (201 a 500 cabeças), onde na 1ª classificação coletou-se material de todos os animais, na 2ª coletou-se de 20 animais e na 3ª coletou-se entre 10-20% do total de animais. As propriedades foram identificadas por letras de “A” a “O”, e os animais foram identificados por números de acordo com a sua propriedade (A1, A2..., B1,B2...).

Quadro 1. Relação de comunidades rurais do município de São João Evangelista – MG, número de propriedades e bovinos amostrados por comunidade.

Comunidade	Propriedades	Bovinos
Região Central	1	12
Barra do Cansação	2	20
Córrego do Cansação	1	19
Nelson de Sena	3	56
Guanhães	1	4
Rancho Novo	1	15
Ribeirão	1	52
Olhos D`água	1	19
Palmital	2	80
Córrego Canabrava	1	22
São Nicolau Pequeno	1	40
Total	15	339

Os resultados laboratoriais e dados extraídos do questionário foram armazenados em bancos de dados do Programa Epi Info versão 3.5.1. (CDC,2008). As variáveis quantitativas foram verificadas pela análise de

variância e Teste “t” de *Student* (teste de médias), e as qualitativas foram analisadas por tabela de contingência 2x2, pelo cálculo do Qui-quadrado e pelo teste de Fisher, como também pela intensidade de associação entre as variáveis pelo cálculo da razão de

chances (Odds ratio) e respectivo intervalo de confiança a 5% de significância.

3.2 Coleta de Dados

Em cada propriedade foram deixados frascos para a coleta de fezes a ser realizada pelos indivíduos da família residente que consentiram em ceder o material, conforme o termo de consentimento, anexo 2. No dia seguinte, a equipe da Secretaria Municipal de Saúde do município recolheu os frascos coletados para a realização do exame parasitológico no Departamento de Vigilância Epidemiológica através do SUS (Sistema Único de Saúde). O exame de fezes das pessoas foi realizado pelo método HPJ (Hoffman, Pons & Janer), utilizado na pesquisa de cistos de protozoários e ovos de helmintos através da sedimentação espontânea com posterior investigação microscópica (UFSC, 2002).

O sangue dos bovinos foi coletado em tubos vacutainer, diretamente da veia jugular após contenção dos animais. Cada frasco foi identificado e, após a dessoragem em temperatura ambiente, foi armazenado em caixas de isopor com gelo para o transporte até o laboratório do Departamento de Vigilância Epidemiológica do município. O soro foi estocado individualmente em tubos eppendorf a -20°C no mesmo dia, e posteriormente, foi transportado para o Departamento de Inspeção e Tecnologia de Produtos de Origem Animal da Escola de Veterinária da UFMG e para o Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal no Setor de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Pública do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, onde foram realizadas as análises laboratoriais de triagem.

3.3 Ensaios Laboratoriais

O diagnóstico sorológico da cisticercose animal foi realizado por triagem pelo teste ELISA. Os casos suspeitos foram submetidos ao *Immunoblot* para confirmação, por meio de metodologias empregadas por PINTO *et al.* (2000) e MONTEIRO *et al.* (2006), no Laboratório de Imunologia da Fundação Ezequiel Dias.

3.3.1 Preparação do antígeno

Os metacestódeos de *Taenia crassiceps* foram mantidos em camundongos BALB/c com idade entre oito e doze semanas por inoculação intraperitoneal de 10 parasitos de pequeno tamanho. Após 90 dias, os animais que apresentaram aumento de volume abdominal foram sacrificados sob insensibilização, seguida de sangria; os parasitas foram retirados da cavidade abdominal. Na preparação do antígeno de líquido vesicular de *Taenia crassiceps* (LVcra), os parasitas íntegros foram centrifugados a 35.000g por 30 minutos a 4°C, desprezando-se o sedimento. Ao sobrenadante foi adicionado inibidor de protease (PMSF - Fluoreto de fenilmetilsulfonil, P7626 Sigma Chemical Co. St.Louis, MO, USA) na concentração de 2,5mM de extrato antigênico, constituindo-se assim o antígeno LVcra, então conservado a -20°C (Giroto *et al.*, 2009). Este procedimento foi realizado pela equipe do Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal no Setor de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Pública do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa.

O antígeno LVcra foi dialisado em membrana de celulose (Sigma Dialysis Tubing D-9277). A membrana foi mergulhada em um béquer com solução salina, que ficou sobre um agitador constante, dentro de uma geladeira. Depois de 3 horas, o resíduo era retirado. Foram realizadas três lavagens com solução salina em intervalos de 3 horas, e a quarta lavagem foi realizada com água destilada.

Depois, o material foi centrifugado a 10.000 r.p.m., por 10 minutos e o sobrenadante foi utilizado nas análises.

3.3.2 Obtenção dos Soros-controles

Os soros sanguíneos utilizados como controle positivo foram obtidos de animais inoculados experimentalmente com ovos de *T.saginata* e comprovadamente positivos para cisticercose após abate e inspeção da carcaça. Para a obtenção de soros controle negativo, foi coletado sangue de animais criados experimentalmente, sem contato com animais contaminados e sem a possibilidade de infecção com ovos de *Taenia sp.* e outros parasitas, comprovadamente negativos após abate e inspeção detalhada da carcaça. Estes procedimentos foram realizados no Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa.

3.3.3 ELISA

As placas de poliestireno foram sensibilizadas com os antígenos diluídos (10µg/ml) em solução tamponada carbonato-bicarbonato 0,5M, pH 9,6. Foram colocados 100µl da solução em cada poço e a placa foi incubada durante 1 hora a 37°C. Após três lavagens de 5 minutos cada, em solução salina contendo 0,05% (v/v) de tween-20, foi realizado o bloqueio dos sítios reativos (leite desnatado a 5% em PBS pH 7,4), durante 1 hora a 37°C, com 200µl da solução em cada poço. Novas lavagens foram realizadas como anteriormente e foram acrescentados 100µl de amostra (em solução de diluição) em cada poço.

As amostras foram analisadas em triplicata, e a placa foi incubada por 30 minutos a 37°C. Após três lavagens, foi adicionado o conjugado anti-IgG de bovino A-5295

(Sigma Chemical Co, St.Louis, MO, USA) em diluição 1:5000 e repetidos os procedimentos de incubação e lavagem da última etapa. A reação foi revelada com 100µl/poço de solução de OPD (0,1%) e H₂O₂ 0,0003% em tampão citrato- fosfato 0,2M e pH 5,0, durante um período de incubação de 5 minutos a 37°C. Para bloquear a reação utilizou-se 100µl de H₂SO₄ 4N em cada poço. As leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro próprio a 492nm e seus resultados expressos em densidade óptica.

3.3.4 IMMUNOBLLOT

A separação dos peptídeos do antígeno vesicular de *Taenia crassiceps* foi conduzida pela eletroforese em gel de gradiente (4% a 12,5%) de poliacrilamida (SDS-PAGE), realizada em sistema descontínuo segundo Laemmli (1970) citado por Giroto *et al* (2009). Em cada orifício do gel foi adicionado 15µl da solução de antígeno ou 8µl de marcador Sigma Marker S8445 (Range 6,500-200,000Da) reconstituído em 100µl de H₂O destilada, depois foi acrescentado o Tampão de Corrida e utilizada uma fonte de energia com voltagem de 200V e corrente de 45mA. Os peptídeos separados por SDS-PAGE foram transferidos do gel para membranas de nitrocelulose de 0,2µ (Millipore, USA), segundo a metodologia descrita por Towbin *et al* (1979) utilizando solução tamponada de transferência contendo metanol, pH 8,3. A transferência utilizou o antígeno LVcra na concentração de 6µg/mm (Pinto *et al.*, 2001) e foi procedida por um período de 40 minutos, à temperatura ambiente, em um sistema semi-seco realizado no Sem-Dry Transfer Cell, com corrente de 130mA e voltagem constante de 15V (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA).

Após a transferência, as membranas de nitrocelulose foram coradas em solução aquosa contendo Ponceau-S a 0,5%, para

visualização qualitativa e quantitativa da transferência. O gel utilizado na transferência foi corado com solução de Coomassie Blue, por 24 horas, depois descorado através de lavagens com solução descorante. A partir das membranas foram obtidas tiras de 3 a 4 mm de largura, colocadas em bandejas fenestradas, onde foram lavadas três vezes em H₂O₂ destilada para descoloração. As tiras permaneceram uma hora após o acréscimo de 1,0 ml de solução bloqueadora (pH 7,4), em mesa oscilante à temperatura ambiente. Após desprezar o bloqueio, foi realizada uma lavagem rápida em solução salina. As amostras de soro na concentração 1:100, em solução de diluição, foram adicionadas às tiras (1,0ml/canaleta) com posterior incubação por 14-18 horas, a 4°C, cobertas com papel alumínio. Os controles positivos e negativos estavam na concentração 1:50. Após seis lavagens, cinco minutos cada, foi adicionado a cada tira 1,0 ml de solução do conjugado anti-IgG de bovino (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA), em diluição 1:500 e as bandejas permaneceram sobre uma mesa oscilante por uma hora a temperatura ambiente. Após retirar o conjugado, os peptídeos reativos foram evidenciados acrescentando-se 1,0ml de solução cromógena e deixando reagir por cerca de 10 minutos. Em seguida a reação foi bloqueada com a lavagem das tiras em água destilada e posterior secagem sobre papel filtro para avaliação.

As lavagens descritas anteriormente foram realizadas com solução salina (NaCl 0,15M) contendo 0,05% (v/v) de tween-20,

na quantidade de 1,0ml por canaleta. As fórmulas de todos os reagentes e soluções utilizados nas análises são encontradas no anexo 1. Os marcadores de peso molecular utilizados variaram entre 6,5kDa e 205kDa (Sigma M-4038) e os pesos moleculares utilizados no diagnóstico da cisticercose bovina são 6,5 e 14kDa. A leitura foi procedida de acordo com a reatividade dos peptídeos específicos para o diagnóstico da cisticercose bovina propostos por GIROTTO *et al.*, (2009).

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com animais (Processo 047-2007) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (Processo 075-2007), ambos vinculados a Universidade federal de Viçosa, com aprovação também do Ministério da Ciência e Tecnologia, CNPq e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, de acordo com o Edital MCT/CNPq/MAPA/SDA nº 64/2008 - Ações de Defesa Agropecuária.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os quadros 2 e 3 resumem os principais resultados adquiridos nos questionários aplicados nas propriedades, assim como os obtidos nas análises laboratoriais que serão discutidos abaixo:

Quadro 2. Resultados extraídos do questionário aplicado nas propriedades.

Fazenda	Moradores	Fonte de água para pessoas	Água canalizada	Fonte de água para animais	Destino Lixo Orgânico	Destino Esgoto
A	5 ou mais	Mina/Nascente	Sim	Rio/Ribeirão	Plantio	Fossa
B	até 2	Mina/Nascente	Sim	Mina/Nascente	Céu aberto	Fossa
C	5 ou mais	Mina/Nascente	Não	Mina/Nascente	Céu aberto	Rio/Ribeirão
D	até 2	Mina/Nascente	Sim	Rio/Ribeirão	Céu aberto	Fossa

E	até 2	Poço Artesiano	Sim	Rio/Ribeirão	Animais	Rio/Ribeirão
F	3 a 4	Mina/Nascente	Sim	Rio/Ribeirão	Animais	Rio/Ribeirão
G	5 ou mais	Mina/Nascente	Sim	Poço Artesiano	Queimado	Rio/Ribeirão
H	3 a 4	Poço Artesiano	Sim	Poço Artesiano	Plantio	Fossa
I	3 a 4	Mina/Nascente	Sim	Rio/Ribeirão	Animais	Fossa
J	3 a 4	Copasa	Sim	Poço Artesiano	Animais	Fossa
K	até 2	Mina/Nascente	Não	Rio/Ribeirão	Animais	Outro
L	3 a 4	Mina/Nascente	Sim	Mina/Nascente	Animais	Fossa
M	5 ou mais	Mina/Nascente	Sim	Mina/Nascente	Céu aberto	Outro
N	5 ou mais	Mina/Nascente	Sim	Rio/Ribeirão	Animais	Rio/Ribeirão
O	3 a 4	Mina/Nascente	Sim	Mina/Nascente	Animais	Fossa

Quadro 3. Resultados extraídos do questionário aplicado nas propriedades e das análises realizadas.

Fazenda	Animais Coletados	Horta	Vermifugação Humana (<1 ano)	Consumo de Carne	ELISA*	IMMUNOBLLOT*
A	4	Sim	Sim	Bem passada	1	0
B	12	Não	Sim	Bem passada	2	1
C	7	Sim	Não	Mal passada	2	1
D	19	Sim	Não	Mal passada	4	1
E	13	Sim	Não	Bem passada	0	0
F	20	Sim	Não	Bem passada	2	2
G	60	Sim	Não	Mal passada	15	4
H	19	Sim	Não	Bem passada	1	0
I	19	Sim	Sim	Bem passada	2	1
J	22	Não	Sim	Bem passada	2	0
K	52	Não	Não	Mal passada	2	2
L	15	Sim	Sim	Bem passada	0	0
M	12	Sim	Não	Mal passada	1	1
N	25	Não	Sim	Bem passada	0	0
O	40	Sim	Não	Bem passada	2	1

(*) Os resultados apresentados correspondem ao número de animais positivos para cisticercose-bovina nos testes ELISA e Immunoblot em cada propriedade analisada.

4.1 Caracterização socioeconômica e sanitária

4.1.1 Características socioeconômicas

As propriedades amostradas no presente estudo foram representadas em 93% (14) por seus proprietários, sendo que somente uma foi representada por um caseiro. Com relação à ocupação, 73,3% dos indivíduos eram produtores rurais ou pecuaristas e 26,7% possuíam outras ocupações que

variavam entre comerciante, técnico agropecuário, professor e funcionário público.

A média do número de pessoas por família, encontrada nas propriedades visitadas, foi de aproximadamente quatro, com desvio-padrão de 1,57, alcançando o número máximo de nove pessoas. Cerca de 50% dessas famílias possuíam renda familiar de até dois salários mínimos (valor de referência: R\$510,00 quinhentos e dez reais), sendo que 71,4% das propriedades correspondentes foram diagnosticadas como positivas para cisticercose bovina. A baixa renda mensal está associada ao saneamento precário, falta de instrução quanto ao hábito de higiene, alimentação e possíveis zoonoses, favorecendo a transmissão e disseminação do complexo teníase-cisticercose.

ALVES, (2000), utilizando dados coletados no período de janeiro de 1998 a dezembro de 1999 de abatedouros sob inspeção municipal em Camboriú, Santa Catarina, encontrou alta prevalência de cisticercose bovina e associou este resultado à baixa renda da população, juntamente com o precário saneamento básico e o consumo de água sem tratamento pelos animais.

4.1.2 Aspectos sanitários

Características da água utilizada

Nas propriedades estudadas, observou-se que 80% das pessoas consumiam água de mina ou nascente, sendo que apenas 2 fazendas possuíam poço artesiano e 1 recebia água tratada da COPASA (Companhia de Saneamento de Minas Gerais). Apesar de 86,7% (13) das propriedades possuírem água canalizada, somente uma propriedade realizava a filtração antes do consumo, sendo que 13,3% (2) não possuíam água canalizada e usavam latão como reservatório.

Quanto à fonte de água para os animais, 46,7% era proveniente de rio ou ribeirão, 33,3% de mina ou nascente e 20% de poço artesiano. Nenhum dos animais recebia água tratada. Os ovos de *Taenia saginata* podem ser dispersos no meio hídrico, permanecerem viáveis e contaminar os animais durante a ingestão de água quando não há um tratamento adequado (UNGAR *et al.*, 2008).

Destino do esgoto

O destino do esgoto sanitário é feito por 53,3% das propriedades em fossas, localizadas em maior parte (86,7%) perto da residência, 33,3% eram eliminados em rio ou ribeirão e 13,3% em outros lugares. As fossas devem permanecer tampadas e ser construídas com uma profundidade e localização adequadas, para evitar a contaminação de lençol freático ou outras fontes de água, como também de alimentos. Água e alimentos contaminados com material fecal contendo ovos de *Taenia saginata* disseminam a parasitose para os bovinos, considerando-se fator de risco o destino de esgoto em rio ou ribeirão.

Destino do lixo

Quanto ao destino do lixo, em 86,7% das propriedades o lixo seco era queimado e em apenas 13,3% era enterrado. Com relação ao lixo orgânico, 53,3% das propriedades destinavam aos animais sem nenhum tratamento prévio, 26,7% deixavam a céu aberto, 13,3% utilizavam no plantio e apenas 6,7% queimavam. O lixo seco foi definido como materiais de plástico, papel ou metais, sendo que o lixo orgânico seria constituído de restos de alimentos, vegetais e dejetos de animais e humanos. Quando o lixo é queimado adequadamente, favorece a prevenção de doenças infecto-contagiosas, mas quando é fornecido aos animais ou é deixado exposto a céu aberto pode disseminá-las e favorecer a transmissão do complexo teníase-cisticercose.

Conhecimento e hábitos alimentares

A cisticercose é conhecida popularmente como “canjiquinha”. Todos os responsáveis pelas propriedades disseram saber o que é, sendo que 73,3% (11) já viram em carne suína e 13,3% (2) viram em carne exposta no mercado da região. Todos consomem carne bovina na alimentação e 33,3% disse ter preferência pela “mal passada”.

A maior parte das propriedades (73,3%) praticava cultivo de horta e todas consumiam o que produziam. As hortas não tinham acesso aos animais, sendo que 81,8% delas era cercada. Quanto à irrigação das mesmas, 81,8% era irrigada com água de mina ou nascente e 18,2% com água de poço artesiano ou cisterna. O hábito de consumir verduras foi relatado em 93,3% das propriedades, e em todas havia a preferência por salada crua. O consumo de verduras cruas se torna um risco apenas quando contaminadas com ovos de *Taenia craciseps* que dão origem às cisticercoses humana e suína.

O exame coproparasitológico é importante no diagnóstico de verminoses gastrointestinais, onde também é visualizado ovos de *Taenia sp.* Das propriedades amostradas, 86,7% continham pessoas que já fizeram exame de fezes em laboratório particular ou pelo SUS (Sistema Único de Saúde). Pouco mais de 50% havia feito o exame em menos de seis meses e disse fazê-lo periodicamente.

Segundo as informações coletadas no questionário, apenas uma propriedade relatou ter obtido um resultado positivo para a teníase humana em uma criança após a realização do exame de fezes em um laboratório da cidade. Nesta propriedade não foi obtido resultado positivo para a cisticercose bovina ou teníase humana durante o experimento realizado.

4.2 Prevalência do Complexo Teníase-Cisticercose

4.2.1 Cisticercose Bovina

No teste ELISA, o ponto de corte da reação entre soros reagentes e não reagentes foi determinado pela D.O. média (densidade óptica) obtida em análise dos soros controle negativos acrescentada de dois desvios padrão, baseado na seguinte fórmula:

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

$$\text{Valor Ajustado} = F(St - Nt) + No$$

Sendo:

Po: média dos controles positivos na placa padrão

No: média dos controles negativos na placa padrão

Pt: média dos controles positivos na placa teste

Nt: média dos controles negativos na placa teste

St: média da amostra testada

As amostras consideradas positivas deveriam apresentar densidade óptica acima do valor definido como ponto de corte (D.O. = 264,71), quadro 4. Neste teste de triagem, foram consideradas suspeitas para a cisticercose bovina 80% das 15 propriedades estudadas, totalizando 36 animais suspeitos. Quando realizado o teste *immunoblot*, nove propriedades foram confirmadas positivas para a cisticercose bovina, correspondendo a 60% do total de propriedades, situadas nas seguintes comunidades: Central, Barra do Cansaçõ, Córrego do Cansaçõ, Nelson de Sena, Ribeirão, Palmital e São Nicolau Pequeno. Isto indica que a doença está disseminada no município de São João Evangelista e

podem ser diagnosticados focos em várias regiões.

Quadro 4. Amostras consideradas suspeitas no teste ELISA e a média de suas densidades ópticas (D.O.).

Amostras	D.O. média	Amostras	D.O. média	Amostras	D.O. média
33G	392,43	10F	314,46	6C	282,18
20J	372,09	2C	312,73	50k	279,67
9G	368,18	21G	300,46	12M	277,73
5B	359,69	4I	298,14	2D	277,01
43G	345,53	34G	298,10	12I	276,33
4D	343,75	19F	292,33	38P	271,61
18G	326,38	2H	289,72	37G	269,53
1G	323,68	25G	289,23	1D	269,49
3A	319,45	9D	289,23	27P	268,82
39G	317,50	13B	287,17	28G	266,84
12G	317,48	18J	283,76	52G	265,76
30G	316,97	31G	282,47	37k	265,76

*As propriedades são identificadas por letras e os animais por números segundo.

O número de animais positivos foi 14, representando uma prevalência de 4,1% em relação aos 339 animais amostrados, com idade variando entre 7 meses e 10 anos. Esta prevalência para cisticercose bovina, quando somada ao desvio-padrão calculado (2,0), se iguala estatisticamente ao índice de 5,0%, considerado endêmico segundo a OMS (Organização Mundial da Saúde), constituindo-se um importante problema de saúde pública (SILVA, 2005).

MOREIRA *et al.* (2000), utilizando dados do Serviço de Inspeção Municipal de Matadouros Municipais de Divinópolis e Uberlândia, do período de janeiro de 1997 a dezembro de 1999, encontraram uma prevalência total de 4,3% para a cisticercose em 171.208 bovinos abatidos. O resultado foi associado à qualidade dos animais abatidos nestes estabelecimentos, quando comparados ao abate sob inspeção federal, pois se tratava de animais de descarte e de idade avançada em sua maioria.

Em São João Evangelista, a criação extensiva de gado leiteiro representa a

maior parte da população estudada. Quando abatidos, são utilizados para o consumo humano, muitas vezes dentro da própria fazenda e sem inspeção veterinária, mantendo o ciclo dentro da propriedade ou comunidade. Isto reafirma a importância do diagnóstico *in vivo* para estabelecer um controle eficiente do CTC no município.

4.2.2 Teníase em humanos

O exame coproparasitológico foi realizado em 34 indivíduos que residem nas propriedades rurais amostradas, com idade variando entre 4 e 74 anos, e apresentou um indivíduo positivo para teníase, além de várias parasitoses gastrointestinais, conforme descrito no quadro 5. Ao todo, cinco pessoas (14,7%) apresentaram-se negativas no teste. Este método não é muito eficaz para a detecção de teníase por possuir baixa sensibilidade e especificidade, além da dificuldade de distinguir as proglotes de outros parasitas e pelo fato dos ovos serem eliminados intermitentemente pelo hospedeiro (OMS, 2011). Entretanto, a frequência encontrada

para a teníase humana foi de 2,94% em relação às amostras coletadas, e está acima do índice endêmico (1,0%), o que torna necessária a intervenção dos órgãos responsáveis para estabelecer medidas de controle no município estudado (SILVA, 2005).

Quanto ao resultado para a pesquisa de parasitos gastrointestinais, as frequências de helmintos e de protozoários foram 82,35% e 14,7%, respectivamente. A transmissão desses parasitas está associada às condições socioeconômicas e de saneamento básico em que o indivíduo vive. Alguns parasitos como *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba coli*, *Taenia sp*, *Ascaris sp*, *Trichuris sp* e *Enterobius sp*, são transmitidos através da água e alimentos contaminados. Outros como Ancilostomídeos e *Strongyloides sp*, são transmitidos por larvas presentes no solo, (ANDRADE *et al*, 2010).

Rodríguez-Batista *et al*. (2006), observaram a seguinte prevalência de helmintos

gastrointestinais em 327 crianças da zona rural do município de Catuji, Minas Gerais, em 2004: *Ascaris lumbricoides* (77%), ancilostomídeos (11%), *Schistosoma mansoni* (7%) e *Trichuris trichiura* (5%).

ROCHA *et al*, (2000), através de exames coprológicos realizados no período de abril a outubro de 1995, em 2.901 crianças de escolas públicas e creches da zona rural do município de Bambuí, Minas Gerais, encontrou as seguintes prevalências de parasitoses intestinais: *A. lumbricoides* 4,9%, Ancilostomídeos 5,0%, *E.vermicularis* 1,9%, *S. stercoralis* 1,1%, *Taenia sp* 0,2%, *T.trichiuria* 0,4%, *E. coli* 3,2%, *E. histolytica* 1,5%, *G. lamblia* 5,8%, *S. mansoni* 0,4%, *H. nana* 0,6%.

A prevalência de parasitos gastrointestinais pode variar em diferentes regiões e populações estudadas, sendo que está diretamente relacionada às condições socioeconômicas em que se encontram.

Quadro 5. Frequência de parasitos gastrointestinais em 34 habitantes da área rural do município de São João Evangelista – MG, 2010.

Parasitos Gastrointestinais	Positivos	Prevalência
Helmintos		
<i>Ascaris sp</i>	15	44,12%
Ancilostomídeos	5	14,70%
<i>Enterobius sp</i>	1	2,94%
<i>Strongyloides sp</i>	4	11,76%
<i>Taenia sp</i>	1	2,94%
<i>Trichuris sp</i>	2	5,88%
Protozoários		
<i>Entamoeba coli</i>	1	2,94%
<i>Entamoeba histolytica</i>	4	11,76%

4.3 Associação entre o complexo Teníase – Cisticercose e as características socioeconômicas e sanitárias.

Os principais fatores de risco inerentes à transmissão e manutenção do CTC bovina são: fonte de água para os animais; fonte de

água para a irrigação da horta; local de construção da fossa; destino do lixo; origem da carne bovina; forma de consumo da carne.

A prevalência encontrada para a cisticercose bovina foi estatisticamente relacionada ao consumo de carne mal passada pela população humana amostrada,

com o valor de $p=0,042$ pelo Teste exato de Fisher. Aproximadamente 60% das propriedades suspeitas possuíam este hábito. A ingestão de carne crua ou malcozida contendo cisticercos viáveis é a principal fonte de transmissão da teníase ao hospedeiro definitivo, o homem, mantendo o ciclo biológico da doença aonde ele vive (SILVA, 2005; UNGAR *et al.*, 2008).

Quanto à análise da associação dos outros fatores de risco pré-determinados com a prevalência encontrada para a cisticercose bovina, não houve diferença estatística significativa entre as variáveis ($p>0,05$), quadro 6.

Quadro 6. Relação estatística encontrada entre os eventuais fatores de risco e a ocorrência da cisticercose bovina.

Fator de risco	Significância	Teste
Fonte de água para os animais	1,746	Qui-quadrado
Fonte de água para irrigação da horta	4,278	Qui-quadrado
Local de construção da fossa	1,539	Qui-quadrado
Destino do lixo	0,657	Teste exato de Fisher
Origem da carne bovina	5,909	Qui-quadrado
Forma de consumo da carne	0,042	Teste exato de Fisher

Quando foram analisados alguns fatores dentro das propriedades suspeitas, foi possível fazer algumas considerações. Das nove propriedades, 100% não realizavam tratamento algum da água, que era consumida de mina ou nascente em sua totalidade. Sete propriedades (77,8%) possuíam hortas que eram destinadas ao consumo próprio e irrigadas com água de mina ou nascente. Dessas propriedades, aproximadamente 90% tinham o hábito de consumir verduras, sendo que a forma de preparo era de salada crua.

SANTOS (2010), em seu estudo sobre o levantamento de epidemiológico do complexo teníase cisticercose em bovinos e suínos no município de Viçosa, também não encontrou relação entre os fatores de risco e a prevalência de animais suspeitos. Isto se deve a baixa frequência encontrada, que não foi suficiente para estabelecer esta relação. Porém, segundo FREITAS *et al.*, (1996), a cisticercose bovina afeta principalmente regiões cuja população apresenta baixas condições socioeconômicas e precário saneamento básico.

A maioria dos animais (90%) recebia água de mina, nascente, rio ou ribeirão, sem tratamento prévio. O lixo orgânico era destinado aos animais ou deixado a céu aberto em aproximadamente 90% e a construção de fossa perto da residência foi realizada por 77,8% das propriedades. O hábito de tomar remédio de verme, importante para o controle do complexo, não era realizado por 77,8% das pessoas entrevistadas.

Ao comparar os principais fatores com o resultado positivo para a cisticercose bovina, pôde-se reparar que todas as

propriedades que, consumiam carne mal passada, não possuíam água canalizada, construíram a fossa perto da criação animal ou fonte de água, deixavam o lixo a céu aberto e irrigavam a horta com água de mina ou nascente, foram confirmadas positivas no teste *immunoblot*. Estes fatores contribuem para a transmissão da teníase ao homem, como da cisticercose aos animais, de acordo com o ciclo biológico do complexo descrito anteriormente.

Uma propriedade apresentou-se positiva para cisticercose bovina e teníase humana, havendo a possibilidade de fechamento do ciclo da doença. A mesma apresentou os seguintes fatores de risco: baixa renda familiar; consumo de água sem tratamento; fornecimento de água de rio ou ribeirão para os animais; o lixo orgânico é dado aos suínos sem preparo; possui horta para consumo próprio que é irrigada com água de mina ou nascente; as pessoas não possuem o hábito de tomar remédio de verme. Embora esta propriedade crie gado de leite, pode estar favorecendo a manutenção do CTC na Comunidade Palmital, onde está localizada, e disseminar para outras regiões dependendo do destino que for dado a estes animais. Sendo importante ressaltar que foram coletadas amostras em duas propriedades dessa região, encontrando-se uma prevalência de 7,5% de cisticercose bovina.

5. CONCLUSÕES

Nas condições da realização deste trabalho pode-se concluir que na zona rural do município de São João Evangelista:

- A prevalência encontrada para a cisticercose bovina (4,1%) é considerada estatisticamente endêmica.
- A frequência encontrada para Teníase humana (2,94%) é considerada um índice endêmico, segundo a OMS.

- As condições econômico-sociais e culturais são favoráveis à ocorrência e manutenção do Complexo Teníase-Cisticercose Bovina.
- Este trabalho comprovou que o consumo de carne bovina, sem inspeção sanitária e mal passada continua sendo o fator mais significativo na epidemiologia do CTC.

6. RECOMENDAÇÕES

É necessário que órgãos responsáveis como o ministério da saúde, a vigilância sanitária dentre outros, implantem um serviço de inspeção de produtos de origem animal, principalmente na realização do abate, e adotem outras medidas de controle do complexo no município de São João Evangelista.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC - - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes – Perfil Carne Bovina Brasileira, 2010a. Disponível em: <www.abiec.com.br> Acesso em: 24 maio. 2011.

ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes – Estatística; Exportações de Carne Bovina do Brasil, 2010b. Disponível em: <www.abiec.com.br> Acesso em: 24 maio. 2011.

ALMG – Assembléia Legislativa do Estado de Minas Gerais. <www.alem.gov.br> Acesso em: Mar. 2010.

ALVES, T.A.G. *Prevalência da cisticercose em bovinos e suínos no município de Camboriú*. 2000. 44f.

Monografia (Especialização “Lato Sensu” em Sanidade Animal). Universidade do Estado de Santa Catarina.

ANDRADE, E.C.; LEITE, I.C.G.; RODRIGUES, V.O.; CESCA, M.G.; Parasitoses intestinais: Uma revisão sobre seus aspectos sociais, epidemiológicos, clínicos e terapêuticos. *Rev. APS, Juiz de Fora*, v. 13, n. 2, p. 231-240, 2010.

BAPTISTA, F. *Tuberculose e outras causas de condenação de bovinos em frigoríficos de Minas Gerais*. 1999. 60f. Tese (docência livre) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Divisão de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA). Inspeção de carnes: padronização de técnicas, instalações e equipamentos I - Bovinos. Brasília, 1971.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). (Aprovado pelo Decreto nº 30.691, de 29/03/1952, alterado pelo Decreto nº 1.255, de 25/06/1962). Brasília, 1980, 154p.

CARMO, R.G., OLIVEIRA, J.V., BANDINI, O.R., Prevalência de cisticercose bovina no Estado do Mato Grosso do Sul. *Rev. Hig. Alim.* v.11, n.45, p. 45-50, 1997.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Epi Info 3.5.1, versão 18 de agosto de 2008. Disponível em: <wwwn.cdc.gov/epiinfo/html/downloads>

CORRÊA, G.L.B.; ADAMS, N.A.; ANGNES, F.A.; GRIGOLETTO, D.S. Prevalência de cisticercose em bovinos abatidos em Santo Antônio das Missões, RS, Brasil. *Revista da FZVA. Uruguaiana*, v. 4, n. 1, p. 77-80, 1997.

DORNY, P.; VERCAMMEN, F.; BRANDT, J.; VANSTEENKISTE, W.; BERKVEN, D.; GEERTS, S. Sero-epidemiological study of *Taenia saginata* cysticercosis in Belgian cattle. *Vet. Parasitol.* V. 88, p. 43-49, 2000.

FAO - Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação - Perspectivas Alimentarias – Análisis de los mercados mundiales, 2008. Disponível em: <www.fao.org.br> Acesso em: Nov.2009.

FERNANDES, J.O.M.; SOARES, C.L.; SILVA, P.; BORGES, J.H.R.; PEGAIANE, J.C.; COELHO, R.V. Prevalência da cisticercose bovina em animais abatidos em estabelecimento sob regime de inspeção federal no município de Andradina – SP. *Ciê. Agr. Saúde.* v. 2, n. 1, p 14 – 17, 2002.

FORTES, E. In: *Parasitologia Veterinária*. 4.ed, São Paulo: Editora Icone, 2004, 607 p.

FREITAS, J.A.; PALERMO, E.N. Complexo teníase-cisticercose. Avaliação parcial da situação no Estado do Pará. *Brasilian Journal Veterinary Research Animal Science.* v.33, p.270-275, 1996.

GIROTTO, A. Avaliação do Imunoblot no Diagnóstico da Cisticercose Bovina. 2007. 73f. Dissertação (Pós-Graduação em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Viçosa.

GIROTTO, A.; PINTO, P.S.A.; DIAS, J.C.O. *et al.* Detecção de peptídeos importantes para o diagnóstico da cisticercose bovina no Imunoblot. *Cienc. Rural*, v. 39, n.4, p. 1136-1140, 2009.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Censo Agropecuário/IBGE 2006, São João Evangelista-MG. Disponível em: <www.ibge.gov.br> Acesso em: Mar. 2010.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. *Nature*, v.227, p.680-685, 1970.

MINOZZO, J.C.; GUSSO, R.L.F.; CASTRO, E.A.; LAGO, O.; SOCCOL, V.T. Experimental bovine infection with *Taenia saginata* eggs: recovery rates and cysticerci location. *Braz. arch. biol. Technol.* Curitiba, v.45, n.4, 2002

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

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

MONTEIRO, L.L.; PINTO, P.S.A.; SAICEDO, J.H.P.; ARAUJO, J.V.; SANTOS, W.L.M.; CECON, P.R. Antígenos de larva de *Taenia solium* em ELISA para diagnóstico de cisticercose bovina. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v.59, n.1, p.21-25, 2007.

MOREIRA, M.D. Caracterização da cisticercose de bovinos abatidos em matadouros Municipais de Divinópolis e Uberlândia, MG. 2000, 58f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

NASCIMENTO, E. Teníase e Cisticercose. In: NEVES, D.P. *Parasitologia Humana*. 9. ed, Rio de Janeiro; Atheneu, 1995, cap.22, p.224-256.

OMS - Organização Mundial de Saúde. Report of the WHO Expert Consultation on Foodborne Trematode Infections and Taeniasis/Cysticercosis. Vientiane, Lao People's Democratic Republic, 12-16 October 2009. World Health Organization 2011. Disponível em: <http://www.who.int/neglected_diseases/preventive_chemotherapy/WHO_HTM_NTD_PCT_2011.3.pdf> Acesso em: 24 maio. 2011.

ONYANGO-ABUJE, J.A.; HUGHES, G.; OPICHA, M.; NGINYI, K.M.; RUGUTT, M.K.; WRIGHT, S.H.; HARRISON, L.J.S. Diagnosis of *Taenia saginata* cysticercosis in Kenyan cattle by antibody and antigen ELISA. *Vet. Parasitol.* v.61, p.221-230, 1996.

OPAS - ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD. Epidemiologia y control de la teniasis/cisticercosis em América Latina. Washington: OPAS/OMS, p.297, 1994.

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

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

PINTO, P.S.A; VAZ, A.J.; GERMANO, P.M.L.; NAKAMURA, P.M. Performance of the ELISA test for swine cysticercosis using antigens of *Taenia solium* and *Taenia crassiceps* cysticerci. *Vet. Parasitol*, v.88, n.1-2 p.127-130, 2000.

PINTO, P.S.A.; VAZ, A.J.; NAKAMURA, P.M. et al. Immunoblot analysis using antigens from *Taenia crassiceps* cysticerci in the diagnosis of swine cysticercosis. *Bol. Chil. Parasitol.*, v.56, n.1-2, p.36-42, 2001.

Portal do Agronegócio – Assessoria de Comunicação Social, Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) – Adesão do IMA ao Sisbi abre portas para o agronegócio mineiro – 27/07/2009, Disponível em: <www.portaldoagronegocio.com.br> Acesso em: nov. 2009.

Portal do Agronegócio – Assessoria de Comunicação Social, Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) – Demanda mundial por carne bovina pode alavancar leilões na Superagro – 07/05/2011, Disponível em: <www.portaldoagronegocio.com.br> Acesso em: 24 maio. 2011.

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

ROCHA, R.S.; SILVA, J.G.; PEIXOTO, S.V.; CALDEIRAS, R.L.; FIRMO, J.O.A.; CARVALHO, O.S.; KATZ, N. Avaliação da esquistossomose e de outras parasitoses intestinais, em escolares do município de Bambuí, Minas Gerais, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* v.33, p. 431-436, 2000.

RODRÍGUEZ-BATISTA, Z; COUTO, B.R.G. Prevalência de Verminoses Gastrointestinais em crianças do Município de Catuji – MG. *Ciênc. e Conhec.* v.2, n.7, p. 211–226, 2006.

SANTOS, I.F. O *Cysticercus bovis* (forma larvar da *Taenia saginata*) pode infectar o homem? *Rev. Hig. Alim.* v.10, n.44, p.13-14, 1996.

SANTOS, R.E.V.; SANTOS, I.F.; BONISSON, J.C. Estudo comparativo entre a técnica *post mortem* de Santos e a do serviço de inspeção estadual para detecção de *Cysticercus bovis* em matadouros do estado de Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Ciênc. Vet.* v.10, n.3, p.175-181, 2003.

SANTOS, J.P. Prevalência de cisticercose bovina em matadouro frigorífico sob inspeção estadual (SIE) em Santa Catarina. 2008. 36f. Monografia (Especialização em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal - Vigilância Sanitária) Universidade Castelo Branco.

SANTOS, T.O. Levantamento epidemiológico do Complexo teníase-cisticercose na zona rural do município de Viçosa – MG. 2010, Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

SILVA, A.V.M. Teníase e Cisticercose. In: NEVES, D.P. *Parasitologia Humana*. 11. ed. Atheneu: São Paulo, 2005. Cap. 25, p. 227-236.

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

TOWBIN, H.; STAEHELIN, T.; GORDON, J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v.76, n.3, p.4350-4352, 1979.

TORRES, A. - Principais estados exportadores de carne bovina. 30/09/2009. Disponível em:

<www.portaldoagronegocio.com.br>

Acesso em: nov. 2009.

UFSC - Métodos de exames coprológicos.
Laboratório de Protozoologia. Universidade
Federal de Santa Catarina - Departamento
de Microbiologia e Parasitologia – CCB,
2002

UNGAR, M.L.; GERMANO, P.M.L.
Prevalência da cisticercose bovina no
Estado de São Paulo (Brasil). *Rev. Saúde
Públ.* São Paulo, v.26, n.3, p.167-172,
1992.

UNGAR, M.L.; GERMANO, M.I.S.;
GERMANO, P.M.L. Cisticercose Bovina.
In: GERMANO, P.M.L.; GERMANO,
M.I.S. *Higiene e Vigilância Sanitária de
Alimentos*. 3.ed. São Paulo: Editora
Manole, p. 449-461, 2008.

URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.;
DUNCAN, J.L.; DUNN, A.M.;
JENNINGS, F.W. *Parasitologia
Veterinária*. 2.ed, Rio de Janeiro: Editora
Guanabara Koogan, 273 p., 1996.

ANEXO 1.

REAGENTES E SOLUÇÕES

ELISA

1. Tampão Carbonato – Bicarbonato pH 9,6 (0,5M)

Na₂CO₃ ----- 1,59 g
NaHCO₃ ----- 2,93 g
H₂O destilada ----- 1.000 ml (q.s.p.)

Acertar o pH para 9,6
Armazenar a 4°C.

2. PBS (Solução salina tamponada com fosfatos – SSTF) pH 7,4 (0,2 M)

NaCl ----- 8,00g
KH₂PO₄ ----- 0,20g
Na₂HPO₄ ----- 1,15g
KCl ----- 0,20g

Dissolver os sais em aproximadamente 800 ml de H₂O destilada;
Acertar pH para 7,4 e completar o volume para 1.000 ml;
Armazenar a 4°C.

3. Solução de Bloqueio

PBS ----- 40,0 ml
Leite desnatado em pó “Molico” ----- 2,0g

Aquecer mexendo, sem deixar ferver;
Filtrar em papel filtro;
Deixar esfriar para utilizar. Não pode armazenar para posteriores análises.

4. Solução de Diluição

Solução de Bloqueio ----- 10,0 ml
PBS ----- 40,0 ml
Tween 20 ----- 25 µl

Homogeneizar.

5. Solução Salina

NaCl ----- 8,50 g
H₂O destilada ----- 1.000 ml

6. Solução de Lavagem

Solução Salina ----- 1.000 ml
Twenn 20 ----- 0,5 ml

Homogeneizar, (desprezar se turvar).

7. Tampão Citrato-Fosfato

Ácido cítrico ----- 21,0 g em 400 ml de H₂O destilada
Na₂HPO₄12HO ----- 35,6 g em 400 ml de H₂O destilada

Misturar as duas soluções e acertar o pH para 5,0;
Completar o volume para 1.000 ml;
Armazenar a 4°C.

8. Solução de Revelação

Tampão Citrato-Fosfato ----- 11,0 ml
Pastilha de OPD (Orto-phenylenediamine) ----- 1 unidade
H₂O₂ 30% ----- 100 µl

Acrescentar a água oxigenada próximo ao momento de utilização da solução.

IMMUNOBLOT

1. Solução A

Acrylamide 30% ----- 58,4g
Bys-acrylamida ----- 1,6g
H₂O destilada ----- 200ml

Armazenar no frasco âmbar a 4°C por no máximo 30 dias.

2. Solução B – pH (8,8)

Tris (Tris-hidroximetilaminoetano) ----- 36,3g
H₂O destilada ----- 200ml

Ajustar o pH para 8,8 com HCl concentrado.
Armazenar a 4°C.

3. Solução C – pH (6,8)

Tris ----- 12g
H₂O destilada ----- 200ml

Ajustar o pH para 6,8 com HCl concentrado e armazenar a 4°C.

4. SDS 10%

Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) ----- 10g
H₂O destilada ----- 100ml

Armazenar à temperatura ambiente.

5. Tampão de Amostra (2X)

Solução C ----- 1,0ml
Glicerol ----- 0,8ml
SDS 10% ----- 1,6ml
H₂O destilada ----- 0,4ml
Azul de bromofenol 0,2% ----- 0,2ml

Distribuir em alíquotas e armazenar a -20°C.

6. Solução de Antígeno para a Eletroforese

Antígeno (soro) ----- 20µl
H₂O ----- 100µl
Tampão Amostra ----- 30µl

Esta solução é prepara para um gel, colocando-se 15µl em cada orifício.

7. Tampão Corrida (5X) concentrado

Tris ----- 15g
Glicina ----- 72g
SDS ----- 5g
H₂O destilada ----- 1000ml (q.s.p)

Filtrar e armazenar à 4°C.

Quando for utilizar, diluir 100 ml do Tampão em 900 ml de H₂O destilada.

8. PSA 10%

Persulfato de Amônio ----- 10g
H₂O destilada ----- 100ml

Distribuir em alíquotas e armazenar à -20°C.

9. Preparação do Gel de Gradiente

Gel de separação 12,5%

Solução A -----	4,17 ml
Solução B -----	2,5 ml
SDS 10% -----	0,1 ml
H ₂ O destilada -----	3,16 ml
PSA 10% -----	80 µl
TEMED -----	14 µl

Gel de Concentração 4,0%

Solução A -----	650 µl
Solução C -----	1,25 ml
SDS 10% -----	50 µl
H ₂ O destilada -----	3,05 ml
PSA 10% -----	40 µl
TEMED -----	7 µl

10. Preparação da Solução de Antígeno

Antígeno em soro -----	20 µl
H ₂ O destilada -----	100 µl
Tampão Amostra -----	30 µl

Agitar em vortex e colocar em um béquer com água fervendo por 5 minutos.
Não deixar derramar ou entrar água na solução.

11. Tampão de Transferência

Glicina -----	14,42 g
Tris -----	3,03 g
Metanol -----	200 ml

Diluir em 800 ml de H₂O destilada.
Conferir o pH (8,3), mas não ajustar.
Completar o volume para 1000 ml e armazenar à 4°C.

12. Solução Tris-salina

Tris -----	1,2 g
NaCl -----	9,0 g

Diluir em 800ml de H₂O e acertar o pH para 7,5.
Completar o volume para 1000 ml e armazenar à 4°C.

13. Solução de Lavagem

Solução Tris-salina ----- 100 ml
Tween 20 ----- 50 µl

Homogeneizar e armazenar à 4°C.

14. Solução de Bloqueio

Solução Tris-salina ----- 100,0 ml
Leite desnatado em pó “Molico” ----- 5,0g

Aquecer a solução em um béquer, mexendo sem parar, não deixar ferver;
Filtrar em papel filtro e deixar esfriar para utilizar. Não armazenar para posteriores análises.

15. Solução de Diluição

Solução de Bloqueio ----- 10 ml
Solução Tris-salina ----- 50 ml

16. Solução de Comassie Blue

Coomassie Blue R-250 ----- 1,0g
Metanol ----- 450 ml
H₂O destilada ----- 450 ml
Ácido acético glacial ----- 100 ml

17. Solução Descorante

Metanol ----- 45ml
Ácido acético ----- 90ml
H₂O ----- 1000ml (q.s.p.)

18. Solução Cromógena

DAB (3,3' - Diaminobenzidina) ----- 5 mg
PBS (pH 7,2) ----- 15 ml
H₂O₂ 30% ----- 15 µl

Acrescentar a água oxigenada (H₂O₂) apenas na hora de utilizar a solução.

ANEXO 2.

Universidade Federal de Minas Gerais

Escola de Veterinária

Projeto: Caracterização do Complexo Teníase-Cisticercose Bovina em São João Evangelista / MG.

Professor responsável: Wagmer Luiz Moreira dos Santos.

Termo de Consentimento Livre Esclarecido

Aos ___ dias do mês de _____ de 2010, eu, _____, carteira de identidade nº _____, fui procurado(a) pelo (a) Sr(a) _____ carteira de identidade nº _____, participante do presente estudo, no endereço _____, meu local de residência. Na ocasião fui solicitado a colaborar para com o projeto acima referido, permitindo a realização de entrevista para preenchimento de questionário sobre temas relacionados à criação animal, consumo de carne, dados sanitários da minha residência e a coleta de sangue dos bovinos e de material fecal dos moradores de minha residência, com o objetivo de avaliar a presença de ovos de *Taenia sp.* nas amostras fecais e cisticercose bovina no sangue; e, a partir dessas informações, verificar a existência de associação entre a cisticercose bovina e a infecção humana por este parasito.

Conforme esclarecimento do pesquisador(a), será coletada amostra de material fecal e o resultado do exame será informado única e exclusivamente aos envolvidos. No caso de ocorrer resultado positivo, serei orientado(a) a procurar o serviço de saúde municipal ou atendimento particular, se assim preferir, para tratamento.

A participação no estudo é voluntária, portanto não existe remuneração ou vínculo empregatício, e poderei me recusar a participar ou me retirar do estudo a qualquer momento, sem prejuízo ou justificativa. Qualquer enfermidade ocorrida durante a pesquisa não é de responsabilidade da equipe, uma vez que os procedimentos adotados não estão associados a qualquer dano à saúde. Assim a equipe de trabalho fica isenta da obrigação de tratamento de enfermidade durante o estudo.

Terminado o trabalho de coleta de dados, e tendo garantido o material necessário ao desenvolvimento de projeto, foi-me garantido que toda e qualquer referência que permita identificação nominal da cada entrevista será destruída, garantindo assim sigilo absoluto das informações. Os resultados da pesquisa serão analisados e foi-me assegurada total privacidade. Em contrapartida, cedo ao(à) pesquisador(a) o direito de utilizar as informações prestadas e os resultados dos exames para a realização de trabalhos complementares e publicação de seus resultados, direito limitado única e exclusivamente para este fim, não sendo permitido qualquer outro tipo de uso das mesmas. Os resultados também serão repassados ao serviço de saúde municipal para estudos epidemiológicos e aplicação de ações de controle de parasitoses.

São João Evangelista, aos _____ dias de _____ de 2010.

Assinatura do entrevistado

Responsável pela coleta.

ANEXO 3.

QUESTIONÁRIO

Projeto: Caracterização do Complexo Teníase-Cisticercose Bovina em São João Evangelista / MG.

I) Propriedade

Nome: _____

Código propriedade: _____

Contato: _____

Comunidade: _____

Data visita: _____

II) Proprietário/responsável:

Nome: _____

Proprietário responsável

Qual a relação com a propriedade:

parceiro/meeiro arrendatário caseiro/empregado

morador permanente só trabalha

Número de pessoas na família: _____

Renda familiar: _____

Ocupação/profissão: _____

III) Criação animal

Animais existentes:

Suínos Quantidade: _____

Bovinos Quantidade: _____

Aves Quantidade: _____

Equinos Quantidade: _____

Outros: _____ Quantidade: _____

Identificação individual (código, idade, sexo e procedência): _____

Você sabe o que é canjiquinha/pipoca?

sim não

Você já viu canjiquinha/pipoca?

sim não

Onde você já viu canjiquinha/pipoca?

O que os bovinos comem?

A criação de bovinos é extensiva ou em confinamento?

Finalidade e destino da criação? Abate dos animais é?

- () Consumo próprio () Abate na propriedade
() Vende para frigorífico inspecionado () Vende para frigorífico não inspecionado
() Outro: _____

IV) Dados sanitários sobre as propriedades:

Fonte de água para consumo (bebida) das pessoas:

- () Poço/cisterna () poço artesiano () Mina/nascente () rio ribeirão

Outra: _____

A água é canalizada até a residência: () sim () não

Armazenamento: () caixa d'água () latão

Tampado: () sim () não

Condições do reservatório: _____

Local do reservatório: _____

Faz tratamento? () Sim () Não Qual? _____

Fonte de água para o consumo (bebida) dos animais:

- () Poço/cisterna () poço artesiano () Mina/nascente () rio ribeirão

Outra: _____

Faz tratamento? () Sim () Não Qual? _____

Destino do esgoto: () fossa () céu aberto () rio/ribeirão

() Outro: _____

No caso de fossa:

Local de construção (perto da residência, da fonte de água, da horta, da criação animal):

Destino do lixo: () enterrado () céu aberto () rio/ribeirão

() queimado () Outro: _____

Destino do lixo orgânico (resto de alimentos): () enterrado () céu aberto

() rio/ribeirão () queimado () dado aos animais

Quais animais consomem: _____

Como é dado? _____

() Outro: _____

V) Cultura dos alimentos:

Horta: () sim () não

Finalidade: _____

Água de irrigação: _____

Animais têm acesso: () Sim () Não

VI) Exames realizados:

Exame de fezes das pessoas da família: () sim () não

Por que fez o exame: _____

Resultado para solitária (teníase): () negativo () positivo

Local onde foi feito o exame: _____

Data (época aproximada): _____

Sintomas observados: _____

VII) Consumo de carne:

Consome carne de vaca/boi: () sim () não

Origem: _____

Forma de preparo: _____

Como: () bem passada () mal passada

Consome verduras: () sim () não

Origem: _____

Forma de preparo: _____

VIII) Já tomou algum vermífugo? () Sim () Não

Data: () últimos 6 meses () último ano