

# Infecção experimental em bovinos: cinética da produção de imunoglobulinas IgM e IgG contra cisticercose bovina e resposta inflamatória

## Experimental infection in cattle: kinetics of production of IgM and IgG against bovine cysticercosis and inflammatory response

Rafaella Paola Meneguete dos Guimarães-Peixoto<sup>1\*</sup>; Paulo Sérgio de Arruda Pinto<sup>2</sup>; Laércio dos Anjos Benjamin<sup>2</sup>; Leandro Licursi de Oliveira<sup>3</sup>; Lucas Marcon<sup>4</sup>; Tatiane de Oliveira Santos<sup>4</sup>; Leticia Ferreira da Silva<sup>5</sup>; Emílio Campos Acevedo-Nieto<sup>5</sup>

### Resumo

A cisticercose bovina é uma zoonose que acomete humanos em sua forma adulta (teníase) e em sua forma larvar encontra-se inserida na musculatura de bovinos infectados (cisticercos). Ainda não está totalmente esclarecido como ocorre a resposta imune animal frente a infecção por cisticercos, sendo necessário sua total compreensão para aprimoramento de testes diagnósticos e prevenção da doença. Este trabalho teve o objetivo de avaliar preliminarmente a evolução da resposta imune de nove bovinos experimentalmente infectados com 120.000 ovos de *Taenia saginata*, comparando com achados da resposta celular por meio da microscopia óptica. Do total de animais, cinco apresentaram semelhança na cinética de produção de anticorpos contra as formas metacestóides (cisticercos), com elevação máxima dos níveis séricos de IgG e IgM. Quatro bovinos apresentaram uma resposta imunológica diferente da maioria: dois animais uma resposta tardia à infecção pelos cisticercos, e nos demais não foi observado aumento significativo de anticorpos. Em relação à resposta celular, foi possível constatar predominância de células inflamatórias nas lesões decorrentes de cisticercos viáveis, enquanto, na maioria dos cisticercos inviáveis havia células reparadoras de tecido e presença de corpúsculos calcários. A quantidade migratória de corpúsculos calcários está relacionada com o estágio de morte do parasito. É importante a associação desses achados para compreensão da resposta imune de bovinos frente a cisticercose.

**Palavras-chave:** Morfologia do cisticercos, cinética de anticorpos, cisticercose bovina, *Taenia saginata*

### Abstract

Bovine cysticercosis is a zoonosis that affects humans in their adult form (taeniasis) and its larval is found inserted in the musculature of infected cattle (cysticerci). It is still not entirely clear how animal immune response against infection occurs, being the comprehension of this process necessary for the enhancement of diagnostic capacity and disease prevention. This work aimed to evaluate the evolution of the immune response in experimentally infected cattle, compared with findings in cell response by optical microscopy. Nine animals were infected at a rate of 120,000 eggs of *Taenia saginata*. Five of

<sup>1</sup> Discente de Doutorado, Deptº de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa, MG. E-mail: rafinhapaola@hotmail.com

<sup>2</sup> Profs., Deptº de Veterinária, UFV, Viçosa, MG. E-mail: pintopsa@ufv.br; laercio@ufv.br

<sup>3</sup> Prof., Deptº de Biologia Geral, UFV, Viçosa, MG. E-mail: leandro.licursi@ufv.br

<sup>4</sup> Drs., Deptº de Veterinária, UFV, Viçosa, MG. E-mail: lucasmarcon@yahoo.com.br; tatyvetoli@hotmail.com

<sup>5</sup> Discentes de Doutorado, Deptº de Veterinária, UFV, Viçosa, MG. E-mail: leticiaaafs@gmail.com; ecanieto@yahoo.com.br

\* Autor para correspondência

the animals were similar in the kinetics of antibody production against cysticerci, with maximal levels of IgG and IgM. The other four animals showed an immune response different from the majority, with two of them showing delayed response to infection by cysticerci while the others apparently did not have initial contact with antigens secreted by cysticerci. Regarding the cellular response, it was found that, in lesions of viable cysticerci, inflammatory cells predominated, whereas in nonviable cysticerci there were tissue repair cells in the most part, being possible to notice that the amount of migratory calcareous corpuscles are related to the death stage of the parasite. These findings are important for the understanding immune response of cattle infected with cysticercosis.

**Key words:** Morphology of cysticercosis, kinetics of antibodies, bovine cysticercosis, *Taenia saginata*

## Introdução

A cisticercose bovina é uma enfermidade de distribuição cosmopolita de caráter zoonótico, causada pela forma larval da *Taenia saginata* (NIETO et al., 2012). É considerada um dos grandes problemas de saúde pública e animal que está amplamente difundido no Brasil, sendo motivo de preocupação para frigoríficos e produtores devido aos prejuízos que acarreta (GUIMARÃES-PEIXOTO et al., 2012).

O ser humano é o hospedeiro definitivo e obrigatório da *Taenia saginata* (DORNY; PRAET, 2007), já os bovinos atuam como hospedeiros intermediários contaminando-se ao ingerirem direta ou indiretamente fezes humanas contendo ovos de *T. saginata* (QUEIROZ et al., 2000, MANHOSO; PRATA, 2004, MONTEIRO; PINTO; DIAS, 2006).

Os ovos sofrem ação das enzimas do abomaso, liberando as oncosferas que sofrem ativação pelos sais biliares, permitindo a penetração nas vilosidades intestinais. As oncosferas invadem a corrente sanguínea atingindo órgãos e tecidos onde se transformam em cisticercos (FORTES, 1997). No estágio inicial, a infecção é caracterizada por uma inflamação inespecífica, rica em macrófagos, linfócitos e neutrófilos, com longevidade de semanas a anos, ao longo da qual sofrem um processo de degeneração e, ao final tornam-se calcificados e inviáveis (URQUHART et al., 1998; REY, 2001; TAYLOR et al., 2009).

Como forma de proteção, o cisticerco fica revestido por uma parede membranosa na vesícula, que possui proteínas, algumas delas apresentando propriedades antigênicas e estimulando a produção

de antígenos específicos. No entanto, estes antígenos não têm maior efeito na proteção contra a doença, uma vez que os cisticercos desenvolvem uma série de mecanismos evasores (PAWLOWSKI; SCHULTZ, 1972).

Testes sorológicos para cisticercose bovina revelam baixos níveis de anticorpos em animais que apresentam infecções leves. A intensidade da resposta imune observada nas infecções experimentais realizadas com administração de ovos de *Taenia saginata* difere das infecções naturais, mesmo quando os animais recebem pequeno número de ovos por longo período (KYVSGAARD et al., 1990; HAYUNGA; SUMNER, 1991; SMITH; SNOWDON; FINLAY, 1991; MONTEIRO et al., 2008; THOMAZ-SOCCOL et al., 2010).

Considerando-se a necessidade exposta, e a carência de pesquisas envolvendo a comparação da resposta humoral com achados morfológicos da cisticercose bovina, o objetivo deste estudo é avaliar a evolução da resposta imunológica humoral (IgM, IgG total e IgG subclasses 1 e 2) na evolução da doença, observando-se os aspectos morfológicos das lesões promovidas pelos cisticercos na musculatura bovina em diferentes estádios de desenvolvimento.

## Material e Métodos

### *Infecção experimental*

Um paciente positivo para teníase foi identificado através de exame coproparasitológico (Kato Katz) em Posto de Saúde no Município de Tumiritinga-Minas Gerais e após tratamento específico para eliminação do parasita obteve-se um exemplar de

*Taenia sp.* Este foi encaminhado ao laboratório e sua morfologia foi confirmada por microscopia direta com base em Neves (2005). O parasito ficou armazenado sob refrigeração (4°C) e imerso em uma solução contendo cloridrato de oxitetraciclina 500mg (Terramicina®) e água destilada. O preparo do inóculo consistiu de lavagem das proglotes, dissecação com auxílio de lupa e centrifugação. Foi realizada contagem do número de ovos com auxílio de microscópio a partir da média da quantidade de ovos presentes em cinco amostras (gotas) do sedimento oriundo da centrifugação (10 ul/cada).

Para inoculação experimental utilizou-se 1ml do inóculo que continha aproximadamente 120.000 ovos de *Taenia saginata*, diluídos em água destilada, e administrado por via oral com auxílio de sonda gástrica. Em seguida, foram fornecidos cerca de 500ml de água através da sonda, garantindo que todos os ovos presentes na alíquota fossem totalmente ingeridos. Nesse experimento foram selecionados nove bovinos machos, de raça mestiça holandês-zebu, com aproximadamente seis meses de idade, e mantidos em ambiente livre de contaminação por cisticercos, evitando assim reinfecção dos animais.

#### *Obtenção das amostras de soro*

O presente estudo foi realizado com amostras de soro bovino pertencentes a nove bovinos procedentes de uma propriedade sem histórico de cisticercose e que foram infectados experimentalmente. As amostras foram coletadas utilizando-se a seguinte ordem: dia 0 até dia 150 pós-infecção (n=9), dia 180 (n=8), dia 210 (n=7), dia 240 (n=6), dia 270 (n=5), dia 300 (n=4), dia 330 (n=4), dia 360 (n=3), dia 390 (n=2), dia 420 (n=1), num total de 93 amostras de soro.

O material foi dessorado e estocado a -20°C com vistas à sua utilização nos ensaios laboratoriais de acordo com a metodologia empregada por Monteiro (2004) utilizando-se antígeno total (bruto) de *Taenia crassiceps* e anticorpos específicos conjugados com peroxidase contra IgM (A10-100P,

Bethyl, Montgomery, TX, USA), IgG total (A5295, Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) e IgG<sub>1</sub> (AAI21P, AbD Serotec, Kidlington, Oxford, UK) e IgG<sub>2</sub> (AAI22P, AbD Serotec, Kidlington, Oxford, UK).

#### *Avaliação post mortem*

Todos os animais foram abatidos em matadouro-frigorífico, de acordo com as normas técnicas do Serviço de Inspeção Federal (BRASIL, 2007). Os animais foram rigorosamente inspecionados, examinando-se os tecidos inspecionados rotineiramente nas linhas de inspeção *post-mortem* para pesquisa de cisticercos (coração, língua, músculos mastigatórios), e outras áreas consideradas não rotineiras para inspeção representadas por quatro cortes comerciais de carnes, obtidos de meia carcaça, localizados nos quartos dianteiro e traseiro, sendo esses o acém, a paleta, a alcatra e o contrafilé. Ainda foram examinados o diafragma e seus pilares, esôfago e o fígado. Sendo assim, todas as carcaças foram confirmadas como portadoras de cisticercos.

Os bovinos foram abatidos em períodos distintos, iniciando-se do primeiro animal com cinco meses pós-infecção (p.i.), e os demais, a intervalos de 30 dias. O animal representante do período de 300 dias pós-infecção foi excluído das análises por não ter apresentado cisticercos durante exame *post-mortem*. Os cisticercos viáveis (vivos) e inviáveis (degenerados ou calcificados) foram colhidos para avaliação.

#### *Avaliação histopatológica*

As análises microscópicas foram realizadas em um cisticercos, que posteriormente foi dividido em 4 partes para processamento. Foram coletados cisticercos dos animais abatidos a cada 30 dias, a partir de 210 dias pós-infecção.

A inclusão do material foi feita em historesina. Foram utilizadas colorações com azul de toluidina,

hematoxilina férrica, eosina aquosa, nitrato de prata, ponceau, *fast green* e coloração de Von Kossa (VK) (GOLDOVÁ et al., 2008) adaptada. As lâminas foram montadas com Entellan (Merck®), analisadas ao microscópio de luz (CX31 Olympus®), e as imagens foram obtidas com câmera digital SC 020 por meio do software Analysis GETIT®. As imagens capturadas foram utilizadas para a contagem dos tipos celulares presentes, utilizando-se para cada amostra dez campos microscópicos, cada campo com uma área equivalente a 760,0 µm<sup>2</sup>. Todos os tipos celulares encontrados nas imagens foram enumerados e quantificados.

#### *Análise estatística*

Após verificação da distribuição dos dados pelos testes de normalidade (LILLIEFORS, 1967) e homocedasticidade (COCHRAN, 1941; BARTLETT, 1937), a produção de imunoglobulinas ao longo do tempo, foi avaliada por meio do teste de Duncan (1955), e o número de células inflamatórias pelo teste de Wilcoxon (1945). Foram consideradas significantes valor de  $p < 0,05$ .

Utilizou-se o programa de análises estatísticas SAEG 9.1 para análise dos dados computados referente à produção de imunoglobulinas.

#### *Comitê de ética*

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

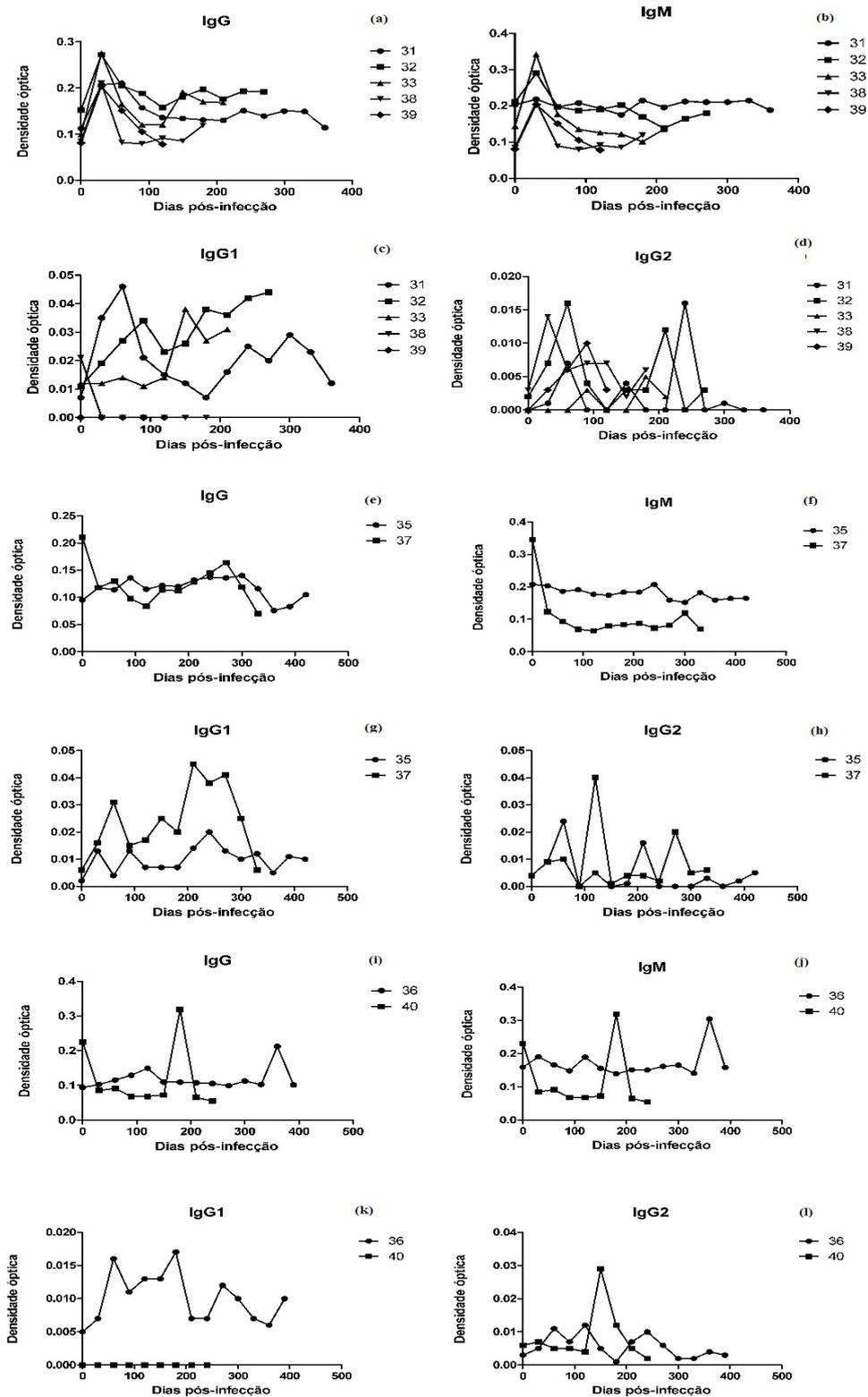
## **Resultados e Discussão**

Após análise dos resultados, os bovinos foram caracterizados em 4 grupos, tomando como base o padrão observado da cinética de produção de anticorpos. Os animais do grupo 1 (abatidos aos 150, 180, 210, 270 e 360 dias pós-infecção, respectivamente) apresentaram cinética de produção

de anticorpos IgG total semelhantes (Figura 1a), ocorrendo pico de produção de anticorpos IgG (total) aos 30 dias p.i. e decréscimo aos 60 dias p.i. Um novo pico de IgG foi verificado aos 120 dias p.i. (animais 33 e 32), 180 dias p.i. (animal 38) e 240 dias (animal 31). De acordo com Flisser, Gonzalez e Plancarte (1990) os títulos crescentes de anticorpos ao longo do parasitismo podem estar relacionados com a existência de cisticercos viáveis e metabolicamente ativos, produzindo e secretando substâncias que estimulam o sistema imunológico do hospedeiro. A produção de IgM apresentou a mesma tendência que o IgG, contudo o animal 31 não apresentou pico no mesmo período que os demais animais, tendo um aumento significativo somente no dia 150 p.i. (Figura 1b). As razões do aparecimento dos anticorpos em período variáveis poderiam ser o tempo necessário para que os antígenos usados no imunodiagnóstico sejam reconhecidos pelo sistema imune do hospedeiro (MINOZZO et al., 2004). Com relação à produção de IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub>, foi possível verificar diversos picos de produção, exceto para o animal 39 que não apresentou anticorpos circulantes IgG<sub>1</sub> detectáveis nos períodos analisados (Figuras 1c e 1d).

Os animais do grupo 2 (bovinos 35 e 37, abatidos com 420 e 330 dias p.i) não apresentaram resposta humoral significativa para IgG e IgM (Figuras 1e e 1f). Esse fato pode ser atribuído a uma possível proteção aparente contra cisticercose, descartando-se a possibilidade de se tratar de imunidade passiva, pois os animais tinham aproximadamente 20 e 17 meses de idade, respectivamente, sendo que a mesma ocorre até as primeiras semanas de vida do animal (CHASE; HURLEY; REBER, 2008). De acordo com Radostitis et al. (2000) a produção endógena de anticorpos atinge níveis de proteção com 4 semanas de idade e níveis máximos entre as 8 e 12 semanas. Em relação a produção de IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub>, somente o animal 37 apresentou pico de produção de anticorpos, sendo no mesmo período para IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub>, divergindo aos 300 dias p.i onde IgG<sub>1</sub> apresentou uma queda e IgG<sub>2</sub> uma tendência de aumento (Figuras 1g e 1h).

**Figura 1.** Cinética de produção de anticorpos (DO) IgG (total), IgM, IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub> dos animais do grupo 1 (a,b,c,d), grupo 2 (e,f,g,h) e grupo 3 (i,j,k,l).



Fonte: Elaboração dos autores.

Já, os animais do grupo 3 (bovinos 36 e 40, abatidos com 390 e 240 dias p.i, respectivamente), apresentaram resposta tardia contra a infecção por cisticercos, sendo atribuído ao período de reconhecimento dos antígenos pelo hospedeiro (Figuras 1i e 1j). A variação na resposta imunológica e o pico de produção de anticorpos em períodos distintos pode estar relacionado ao fato da habilidade do cisticercos sobreviver por longo período na presença da resposta imune do hospedeiro, por meio de secreção de antígenos que afetam a modulação do sistema imunitário do hospedeiro (HARRISON et al., 1989), habilidade que também é compartilhada pela *Taenia solium* (SCIUTTO et al., 2007). O animal 36 apresentou diversos picos de IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub>, contudo no animal 40 o IgG<sub>1</sub> foi nulo e aos 150 dias p.i. houve pico de produção de IgG<sub>2</sub>, seguido de uma discreta queda até completar 240 dias p.i. (Figuras 1k e 1l).

Os baixos valores de produção de imunoglobulinas IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub> encontrados no presente estudo podem estar associados às características da resposta imunológica individual dos animais. Entretanto, vale ressaltar que os anticorpos IgG<sub>1</sub> representam 50% das IgG circulantes e que a concentração de IgG<sub>2</sub> varia muito entre os bovinos (TIZARD, 2009).

As médias de produção de imunoglobulinas IgM e IgG total, em amostras de soro bovino ao longo do tempo não apresentaram diferença estatística entre si, como ocorreu com as médias de DO entre IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub>. Contudo, quando comparada a média de produção de IgM e IgG total com IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub> foi encontrada diferença ( $p < 0,05$ ). Tal ocorrência é demonstrativa de que a resposta imunológica frente a infecções por *Taenia saginata* é em sua maioria mediada por anticorpos da classe IgM e IgG.

Com base na contagem celular dos fragmentos analisados pela microscopia de luz, foi observada uma média de 39,6 eosinófilos presentes na musculatura ao redor da lesão provocada pelo cisticercos viável e 21,2 eosinófilos no caso de cisticercos inviáveis ( $p > 0,05$ ). Aluja e Vargas

(1988) afirmam que os eosinófilos são as células determinantes para iniciar o processo de destruição da larva no tecido do hospedeiro, no caso de infecção por *Taenia solium*. Essas células são especialmente adaptadas para atacar e destruir larvas invasoras de helmintos, pois suas enzimas são eficientes na destruição da cutícula de larvas (TIZARD, 2009). A presença significativa dos eosinófilos em infecções por cisticercos (Figura 2a) está de acordo com Santos et al. (2001) e Tortelly (2003).

Os valores de linfócitos observados no presente estudo apresentaram média de 26,6 linfócitos nos cisticercos viáveis e 13,5 nos cisticercos inviáveis ( $p > 0,05$ ). O fato de ter sido encontrada nos cisticercos viáveis o dobro de linfócitos do que em cisticercos inviáveis pode estar relacionado ao deslocamento de miofibras (JONES; HUNT; KING, 2000), principal alteração tecidual provocada pelo cisticercos, podendo haver discreta miosite com alguns linfócitos e macrófagos.

Em relação aos fibroblastos, foi possível constatar média maior de deposição ao redor de cisticercos inviáveis (54,2), quando comparadas à média dos cisticercos inviáveis (26,6) ( $p > 0,05$ ).

As células gigantes multinucleadas resultam da fusão de vários macrófagos (ZACHARY; MCGAVIN, 2012) sendo que, no presente estudo foi a célula mais encontrada, apresentando média de 241,3 em cisticercos viáveis e 89 células gigantes multinucleadas em cisticercos inviáveis. Diversos autores como Sterba e Dyková (1978), Reis (1980), Santos et al. (2001), Tortelly (2003), Almeida et al. (2006), Costa et al. (2012) relatam a presença de células gigantes multinucleadas em infecções causadas por cisticercos, entretanto sem mensuração.

Em relação às características morfológicas obtidas pela interação parasito-hospedeiro nas amostras dos cisticercos viáveis, foi possível verificar no centro da lesão a presença de células envolvidas em processos inflamatórios, tendo-se um rico infiltrado celular e abundante presença de

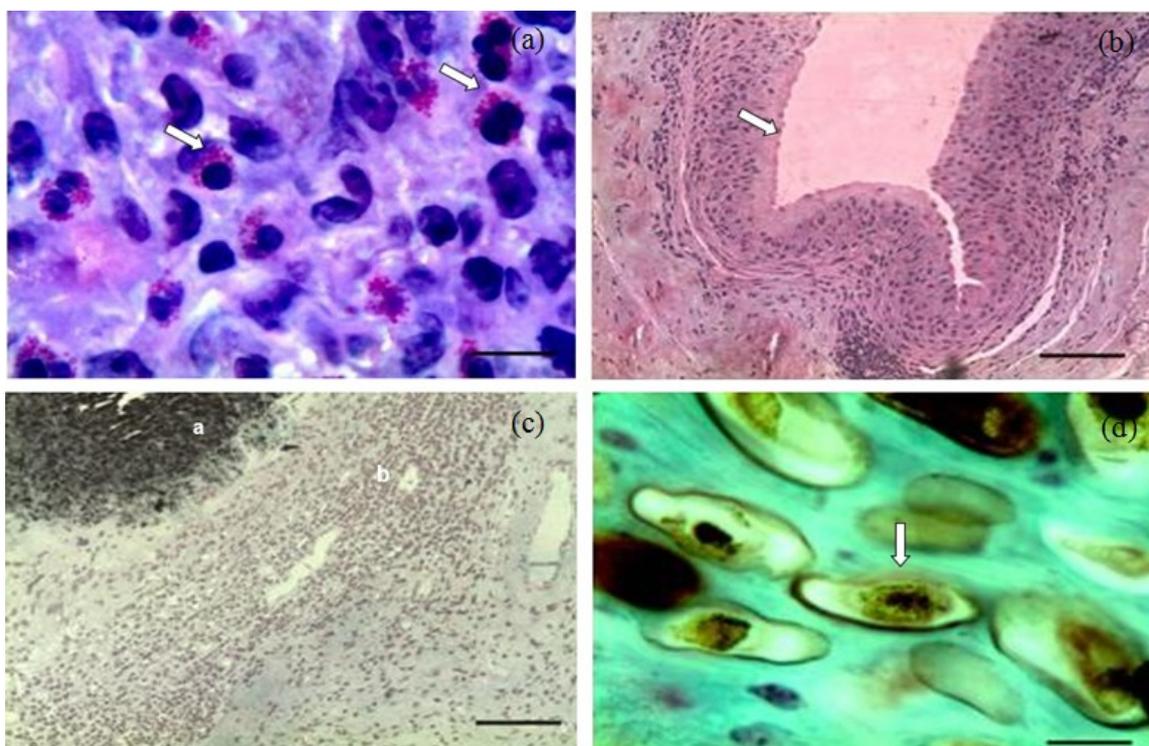
eosinófilos (COSTA, 2003; TORTELLY, 2003), além de neutrófilos e linfócitos. Já os cisticercos inviáveis apresentaram um centro necrótico (TORTELLY, 2003; SCANDRETT et al., 2012; COSTA et al., 2012). Essa região mostrou-se rica em corpúsculos calcários e detritos celulares, estando envolto por três camadas (Figura 2b), a mais externa ao cisticerco sendo rica em tecidos de reparação. Observa-se ainda que há grande infiltrado celular, com presença de histiócitos dispostos em paliçada (Figura 2c) (SANTOS et al., 2001; TORTELLY, 2003; ALMEIDA et al., 2006; COSTA et al., 2012), células gigantes multinucleares e basófilos (SCANDRETT et al., 2012).

Foi verificado presença maciça de corpúsculos calcários em cisticercos inviáveis ou aqueles em processo de inviabilização (morte), quando comparados à sua presença em cisticercos vivos.

Segundo Pawlowski, Yap e Thompson (1988) os corpúsculos calcários são estruturas compostas de cálcio, fósforo, silício e zinco, que podem fornecer a única evidência ao corte histológico, de que o espécime se trata de um cestóide (GEORGI; GEORGI, 1988). A migração dos corpúsculos calcários para o centro da lesão parece estar relacionada com o estágio de morte do parasito (Figura 2d) e normalmente aparecem em maior quantidade quando há uma exposição da lesão pelo sistema imune do hospedeiro

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

**Figura 2.** (a) Bovino com 9 meses pós- infecção. Cisticerco vivo. Presença maciça de eosinófilos (em destaque). HE. Barra: 10 µm. (b) Bovino com 7 meses pós- infecção. Cisticerco vivo, onde é possível observar a cápsula de proteção do cisticerco e suas camadas (em destaque). HE. Barra: 100 µm. (c) Bovino com 12 meses pós-infecção. Cisticerco calcificado. Presença maciça dos corpúsculos calcários (a) no centro do cisticerco e rico infiltrado celular na periferia (b). Von Kossa. Barra: 100 µm. (d) Migração dos corpúsculos calcários. Detalhe. Von Kossa. Barra: 10 µm.



Fonte: Elaboração dos autores.

## Conclusão

O estudo forneceu dados relevantes sobre o padrão da cinética de produção de anticorpos em bovinos experimentalmente infectados, sendo que, alguns animais se apresentaram como maus respondedores à produção de determinadas imunoglobulinas ou o fizeram de forma tardia. A utilização das imunoglobulinas IgM e IgG total em testes de imunodiagnóstico é eficiente na detecção de bovinos positivos para cisticercose.

A presença de células inflamatórias nos cisticercos viáveis, e de células reparadoras de tecido em cisticercos inviáveis, indicaram a capacidade do hospedeiro se proteger e destruir o cisticercos, ressaltando que a migração e quantidade de corpúsculos calcáreos parece ter relação com o estágio de morte do parasito. Todos os aspectos acima mencionados impactam diretamente no desempenho de testes imunodiagnósticos, onde é necessário amplo conhecimento a respeito da interação parasito-hospedeiro.

## Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer a Fapemig e ao CNPq.

## Referências

ALMEIDA, D. O.; IGREJA, H. P.; ALVES, F. M. X.; SANTOS, I. F.; TORTELLY, R. Cisticercose bovina em matadouro-frigorífico sob inspeção sanitária no município de Teixeira de Freitas-BA. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, Niterói, v. 13, n. 3, p. 178-182, 2006.

ALUJA, A.; VARGAS, G. The histopathology of porcine cysticercosis. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 26, n. 1-2, p. 65-77, 1988.

BARTLETT, M. S. Properties of sufficiency and statistical tests. *Proceedings of the Royal Society of London*, Londres, v. 160, n. 901, p. 268-282, 1937.

BRASIL. Ministério Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA, Secretaria de Defesa Agropecuária, Departamento de Inspeção de Produtos

de Origem Animal. *Inspeção de carnes bovina: padronização de técnicas, instalações e equipamentos*. Brasília: MAPA-DIPOA, 2007. 168 p.

CHASE, C. C. L.; HURLEY, D. J.; REBER, A. J. Neonatal Immune development in the calf and its impact on vaccine response. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, Philadelphia, v. 1, n. 24, p. 87-104, 2008.

COCHRAN, W. G. The distribution of the largest of a set of estimated variances as a fraction of their total. *Annals of Eugenics*, Londres, v. 11, n. 1, p. 47-52, 1941.

COSTA, R. F. R.; SANTOS, I. F.; SANTANA, A. P.; TORTELLY, R.; NASCIMENTO, E. R.; FUKUDA, R. T.; CARVALHO, E. C. Q.; MENEZES, R. C. Caracterização das lesões por *Cysticercus bovis*, na inspeção *post mortem* de bovinos, pelos exames macroscópico, histopatológico e pela reação em cadeia da polimerase (PCR). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 6, n. 32, p. 477-484, 2012.

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

DORNY, P.; PRAET, N. *Taenia saginata* in Europe. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 149, n. 1-2, p. 22-24, 2007.

DUNCAN, D. B. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*, Washington, v. 11, n. 1, p. 1-42, 1955.

FLISSER, A.; GONZALEZ, D.; PLANCARTE, A. Praziquantel treatment of brain and muscle porcine *Taenia solium* cysticercosis 2 – immunological and cytogenetic studies. *Parasitology Research*, Berlin, v. 76, n. 7, p. 640-642, 1990.

FORTES, E. *Parasitologia veterinária*. 3. ed. São Paulo: Cone, 1997.

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

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

- GUIMARÃES-PEIXOTO, R. P. M.; SOUZA, W. K.; PINTO, P. S. A.; SANTOS, T. O. Distribuição e identificação das regiões de risco para a cisticercose bovina no Estado do Paraná. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 32, n. 10, p. 975-979, 2012.
- HARRISON, L. J.; JOSHUA, G. W.; WRIGHT, S. H.; PARKHOUSE, R. M. Specific detection of circulating surface/secreted glycoproteins of viable cysticerci in *Taenia saginata* cysticercosis. *Parasite Immunology*, v. 11, n. 4, p. 351-70, 1989.
- HAYUNGA, E. G.; SUMNER, M. P. Isolation and purification of a diagnostic antigen for bovine cysticercosis by hydrophobic chromatography. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, Amsterdam, v. 28, n. 1, p. 57-65, 1991.
- JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. *Patologia veterinária*. 6. ed. São Paulo: Manole, 2000. 1415 p.
- KYVSGAARD, N. C.; ILSOE, B.; HENRIKSEN, S. A.; NANSEN, P. Distribution of *Taenia saginata* cysts in carcasses of experimentally infected calves and its significance for routine meat inspection. *Research Veterinary Science*, v. 49, n. 1, p. 29-33, 1990.
- LILLIEFORS, H. W. On the Kolmogorov-Smirnov test for normality with mean and variance unknown. *Journal of the American Statistical Association*, v. 62, n. 318, p. 399-402, 1967.
- MANHOSO, F. F. R.; PRATA, L. F. Prevalência de cisticercose bovina na região oeste do Estado de São Paulo. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 18, n. 121, p. 42-49, 2004.
- MINOZZO, J. C.; THOMAZ-SOCCOL, V.; OLORTEGUI, C. C.; SOARES, V. E.; COSTA, A. J. Teste Imunoenzimático (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) para diagnóstico da cisticercose bovina e estudo da cinética de produção de anticorpos contra-*Cysticercus bovis*. *Ciência Rural*, 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*. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 141, n. 3-4, p. 260-263, 2006.
- MONTEIRO, L. L.; PINTO, P. S. A.; BEVILACQUA, P. D.; SANTOS, I. F.; MAIA, A. A. M.; DIAS, F. S. Ensaios de padronização do teste ELISA para diagnóstico da cisticercose bovina utilizando antígenos de larva de *Taenia crassiceps*. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, Niterói, v. 15, n. 1, p. 45-49, 2008.
- MONTEIRO, L. L. *Emprego de antígenos de larvas de Taenia crassiceps e Taenia solium em teste ELISA para diagnóstico da cisticercose bovina*. 2004. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- NEVES, D. P. *Parasitologia humana*. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 494 p.
- NIETO, E. C. A.; VIEIRA, F. C.; PINTO, P. S. A.; SILVA, L. F.; SANTOS, T. O.; PEIXOTO, R. P. M. G. Análise de fatores de risco para a infecção de cisticercose bovina: estudo de caso controle a partir de animais abatidos. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 33, n. 6, p. 2359-2366, 2012.
- PAWLOWSKI, I. D.; YAP, K. W.; THOMPSON, R. C. A. Observation and structure of calcareous corpuscles in Taeniid cestodes. *Parasitology Research*, Berlin, v. 74, n. 3, p. 293-296, 1988.
- PAWLOWSKI, Z.; SCHULTZ, M. G.; Taeniasis and cisticercosis (*Taenia saginata*). *Advances in Parasitology*, v. 10, p. 269-343, 1972.
- QUEIROZ, R. P. V.; SANTOS, W. L. M.; BARBOSA, H. V.; SOUZA, R. M.; SANTOS FILHO, A. M. P. A importância do diagnóstico da cisticercose bovina. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 14, n. 77, p. 12-15, 2000.
- RADOSTITIS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. *Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 1770 p.
- REIS, A. C. F. *Estudo histopatológico das alterações hepáticas observadas em bovinos azebuados abatidos nos estados de Goiás e Paraná – Brasil*. Rio de Janeiro. 1980. Dissertação (Mestrado em Ciências – Área de Patologia Animal) – Decanato de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.
- REY, L. *Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem na América e na África*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
- SANTOS, I. F.; MANO, S. B.; TORTELLY, R.; SANTOS, M. L. S.; SILVA, D. A. S. Estudo da localização do *Cysticercus bovis* em corações de bovinos abatidos sob inspeção. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 15, n. 89, p. 37-44, 2001.
- SCANDRETT, W. B.; HAINES, D. M.; PARKER, S. E.; ROBINSON, Y.; FORBES, L. B.; BRANDT, J.; GEERTS, S.; DORNY, P.; GAJADHAR, A. A. Validation of an immunohistochemical assay for bovine

- cysticercosis, with comparison to a standard histological method. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 186, n. 3-4, p. 301-311, 2012.
- SCIUTTO, E.; CHAVARRIA, A.; FRAGOSO, G.; FLEURY, A.; LARRALDE, C. The immune response in *Taenia solium* cysticercosis: protection and injury. *Parasite Immunology*, Reino Unido, v. 29, n. 12, p. 621-636, 2007.
- SMITH, H. J.; SNOWDON, K. E.; FINLAY, R. C. Serological diagnosis of cysticercosis by enzyme-linked immunosorbent assay in experimentally infected cattle. *Canadian Journal of Veterinary Research*, Ottawa, v. 55, n. 3, p. 274-276, 1991.
- STERBA, J.; DYKOVÁ, I. Tissue reaction of the skeletal muscles of cattle both to a spontaneous and experimental infection with *Cysticercus bovis*. *Folia Parasitológica*, Praha, República Tcheca, v. 25, n. 4, p.347-354, 1978.
- TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. *Parasitologia veterinária*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. 742 p.
- TIZARD, I. *Introducción a la inmunología veterinaria*. 8. ed. Barcelona: Elsevier Espana S. L., 2009. 574 p.
- THOMAZ-SOCCOL, V.; SOUZA, V. K.; PESSOA, O. L.; MINOZZO, J. C.; PESSOA-SILVA, M. C.; PEIXOTO, R. P. M. G.; MOURA, J. F. *Archives of Veterinary Science*, Curitiba, v. 15, n. 2, p. 77-85, 2010.
- TORTELLY, R. *Lesões em fígados de bovinos sob inspeção sanitária e sua importância em saúde pública*. 2003. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.
- URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; JENNINGS, F. W. *Parasitologia veterinária*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p. 106-108.
- WILCOXON, F. Individual comparisons by ranking methods. *Biometrics Bulletin*, Washington, v. 6, n. 1, p. 80-83, 1945.
- ZACHARY, J. F.; MCGAVIN, M. D. *Bases da patologia em veterinária*. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2012. 1344 p.