

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Bruna Dias Espindola

**OCORRÊNCIA DE *Sarcocystis* spp. E *Toxoplasma gondii* EM SUÍNOS DE  
SANTA MARIA, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL**

Santa Maria, RS  
2021

**Bruna Dias Espindola**

**OCORRÊNCIA DE *Sarcocystis* spp. E *Toxoplasma gondii* EM SUÍNOS DE SANTA  
MARIA, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Sanidade e Reprodução Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**

Orientador: Prof. Dr. Luís Antônio Sangioni

Santa Maria, RS  
2021

Espindola, Bruna Dias  
Ocorrência de Sarcocystis spp. e Toxoplasma gondii em  
suínos de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil / Bruna  
Dias Espindola.- 2021.  
39 p.; 30 cm

Orientador: Luís Antônio Sangioni  
Coorientadora: Fernanda Silveira Flores Vogel  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós  
Graduação em Medicina Veterinária, RS, 2021

1. Suíno 2. Sarcocystis spp. 3. Toxoplasma gondii 4.  
PCR 5. RIFI I. Sangioni, Luís Antônio II. Vogel, Fernanda  
Silveira Flores III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, BRUNA DIAS ESPINDOLA, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

**Bruna Dias Espindola**

**OCORRÊNCIA DE *Sarcocystis* spp. E *Toxoplasma gondii* EM SUÍNOS DE SANTA MARIA, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Sanidade e Reprodução Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**

**Aprovado em 13 de agosto de 2021:**

---

**Luís Antônio Sangioni, Dr. (UFSM)**  
(Presidente/Orientador)

---

**Fernanda Silveira Flores Vogel, Dra. (UFSM)**

---

**Fernanda Pinto Ferreira, Dra. (UEL)**

Santa Maria, RS  
2021

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, por estar sempre presente, iluminar o meu caminho e por todas as oportunidades.

Aos meus pais pela educação e valores passados, e principalmente pelo apoio e amor incondicional, sem eles nada seria possível. A minha irmã Vanessa, por sempre acreditar em mim e apoiar minhas decisões.

Ao meu orientador professor Luís Antônio Sangioni, pela confiança, ensinamentos, dedicação e pela inspiração profissional.

A professora Fernanda Silveira Flores Vogel, pela convivência, ensinamentos, disposição e empenho com este trabalho.

A toda equipe do Laboratório de Doenças Parasitárias (LADOPAR), por estarem sempre dispostos a me ajudar, pela convivência, conhecimentos repassados e cordialidade.

A toda equipe do Laboratório de Bacteriologia (LABAC), pela convivência, conhecimentos repassados e cordialidade, em especial a professora Juliana Felipetto Cargnelutti.

Aos meus amigos que tiveram presente nesta trajetória, pelo auxílio, incentivo, paciência e amizade, em especial a Ingrid, Isac, Lidiane e Pablo.

As propriedades que nos receberam possibilitando as coletas de amostras e o desenvolvimento deste trabalho.

A Universidade Federal de Santa Maria e Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária pela oportunidade de realizar mais uma etapa de minha formação.

A todos que torceram por mim.

Sou grata!

## RESUMO

*Sarcocystis* spp. e *Toxoplasma gondii* são protozoários intracelulares obrigatórios, de ocorrência mundial, altamente prevalente em animais vertebrados e humanos. Entre os fatores de risco de infecção, destacam-se o consumo de carne crua ou malcozida contendo cistos teciduais e ingestão de alimentos e água contaminada com oocistos. Diante disso, os objetivos deste trabalho foi avaliar a ocorrência de anticorpos anti-*Sarcocystis* spp. e anti-*Toxoplasma gondii* em suínos, de criações domésticas, provenientes de Santa Maria, RS, Brasil, e investigar a presença de DNA de *Sarcocystis* spp. e *T. gondii*, por meio de reação em cadeia da polimerase (PCR), em tecidos de suínos e embutidos, destinados ao consumo humano. Amostras de soro de 84 suínos, provenientes de 31 propriedades do município foram analisadas pela técnica de reação de imunofluorescência indireta (RIFI). Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram títulos de anticorpos igual ou superior a 32 e 64 para *Sarcocystis* spp. e *T. gondii*, respectivamente. A frequência de anticorpos anti-*Sarcocystis* spp. foi de 36,9% (31/84) com titulação variando de 32 a 1024 (DP  $\pm$  196.3) e anti- *T. gondii* foi de 25,0% (21/84) com títulos variando de 64 a 2.048 (DP  $\pm$  491.8). O total de 53 amostras de tecidos de suínos foram submetidos a reação de PCR. Dessas, 36 (67,9%) e 7 (13,2%) foram positivas para a presença de *Sarcocystis* spp. e *T. gondii*, respectivamente. A presença de anticorpos associada a detecção de DNA destes protozoários, indicam que os suínos foram infectados e contribuem no ciclo epidemiológico do parasito A presença destes protozoários na população suína tem relevância na área de saúde pública, devido ao seu potencial zoonótico.

**Palavras-chave:** Suínos, sarcocistose, toxoplasmose, anticorpos, RIFI, PCR

## ABSTRACT

*Sarcocystis* spp. and *Toxoplasma gondii* are obligate intracellular protozoa, of worldwide occurrence, highly prevalent in vertebrate animals and humans. Among the risk factors for infection, consumption of raw or undercooked meat containing tissue cysts and ingestion of food and water contaminated with oocysts stand out. Therefore, the objectives of this study were to evaluate the occurrence of anti-*Sarcocystis* spp. and anti-*Toxoplasma gondii* in domestic swine from Santa Maria, RS, Brazil, and to investigate the presence of *Sarcocystis* spp. and *T. gondii*, through polymerase chain reaction (PCR), in porcine tissues and sausages, destined for human consumption. Serum samples from 84 swine from 31 farms in the municipality were analyzed using the indirect immunofluorescence reaction (IFA) technique. Samples with antibody titers equal to or greater than 32 and 64 for *Sarcocystis* spp. and *T. gondii*, respectively. The frequency of anti-*Sarcocystis* spp. was 36.9% (31/84) with titers ranging from 32 to 1024 (SD  $\pm$  196.3) and anti-*T. gondii* was 25.0% (21/84) with titers ranging from 64 to 2,048 (SD  $\pm$  491.8). A total of 53 swine tissue samples were subjected to PCR. Of these, 36 (67.9%) and 7 (13.2%) were positive for the presence of *Sarcocystis* spp. and *T. gondii*, respectively. The presence of antibodies associated with the DNA detection of these protozoa indicates that the swine were infected and contribute to the epidemiological cycle of the parasite. The presence of these protozoa in the swine population is relevant in the area of public health, due to its zoonotic potential.

Keywords: Swine, sarcocystosis, toxoplasmosis, antibodies, RIFI, PCR

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1-** Table 1- Titration of anti-*Sarcocystis* spp. and *Toxoplasma gondii* from serum-regent pigs in the indirect immunofluorescence reaction (IFAT) test. ....32
- Tabela 2-** Table 2- Occurrence of *Sarcocystis* spp. and *Toxoplasma gondii* in tissue and sausage samples collected in open markets and direct from producers in the municipality of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil, tested by polymerase chain reaction (PCR). .... 33



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	9
<b>2. CAPÍTULO 1 - Sarcocystis spp. and Toxoplasma gondii seroprevalence in swine and detection of nucleic acids from these protozoa in tissues and sausages</b> .....	16
ABSTRACT .....	16
RESUMO .....	17
INTRODUCTION .....	17
MATERIAL AND METHODS.....	19
RESULTS AND DISCUSSION.....	21
CONCLUSIONS .....	25
REFERENCES .....	25
<b>3. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	34
<b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	35

## 1. INTRODUÇÃO

Os protozoários *Sarcocystis* spp. e *Toxoplasma gondii*, pertencem ao filo Apicomplexa, família Sarcocystidae, parasitas intracelulares obrigatórios e mundialmente distribuídos, capazes de infectar diversos animais, incluindo humanos, mamíferos e aves. Esses agentes se destacam por apresentarem impactos na saúde pública e em animais de produção, devido a infecção humana estar relacionada ao consumo de carne destes animais (FAYER; ESPOSITO; DUBEY, 2015; TENTER, 2009).

*Sarcocystis* spp. foi inicialmente descrito em 1843 na Suíça, por Miescher, que observou cistos longos, finos e brancos em músculos esqueléticos de um camundongo, denominando-os como Túbulos de Miescher, e em 1882, Lankester, classifica o gênero como *Sarcocystis* (DUBEY et al., 2015). O gênero *Sarcocystis* spp. apresenta um ciclo heteroxeno obrigatório, necessitando de dois hospedeiros para completar seu ciclo de vida. Esses parasitos incluem muitas espécies de animais como hospedeiros definitivos e hospedeiros intermediários (TENTER, 1995).

Os hospedeiros definitivos se infectam ao ingerir sarcocistos, contendo bradizoítos, presente em tecidos dos hospedeiros intermediários. No intestino delgado, onde ocorre a fase sexuada, os bradizoítos transformam-se em gametas femininos e masculinos, os quais originam um zigoto, resultando na formação e excreção de oocistos esporulados /esporocistos, nas fezes (DUBEY et al., 2015). A infecção dos hospedeiros intermediários ocorre pela ingestão de alimentos e água contendo esporocistos de *Sarcocystis* spp. Após a digestão dos esporocistos e liberação dos esporozoítos, no intestino delgado, esses migram através do epitélio intestinal e adentram em células endoteliais de arteríola e capilares, onde se inicia o primeiro ciclo da fase assexuada, denominado merogonia ou esquizogonia. Assim, no primeiro processo de divisão celular, o núcleo de cada esporozoíto divide-se em vários lobos que originam os esquizontes. Os merozoítos, originados pela maturação dos esquizontes, penetram nas células musculares, iniciando-se a formação de sarcocistos. O número de gerações e local em que ocorre a merogonia vai variar da espécie de *Sarcocystis* envolvida, bem como, os tecidos e órgãos em que ocorrerão os cistos (DUBEY et al., 2015; FAYER, 2004).

Atualmente existem cerca de 200 espécies de *Sarcocystis* conhecidas, que comumente apresentam especificidades aos hospedeiros e possuem características morfológicas distintas. Destas *Sarcocystis hominis*, e *Sarcocystis suihominis* são consideradas patógenos zoonóticos,

sendo o homem o hospedeiro definitivo do protozoário (DUBEY et al., 2015). A transmissão em humanos ocorre pelo consumo de carne ou produtos cárneos crus ou mal cozidos contendo sarcocistos, podendo causar sarcocistose intestinal. Geralmente os casos são assintomáticos ou não apresenta manifestações clínicas graves. Os sintomas são variados, como náusea, diarreia, perda de apetite e desconforto abdominal. Contudo, pessoas imunocomprometidas podem manifestar um quadro clínico mais grave, podendo resultar em enterite aguda grave, hemorragia e necrose dos intestinos (FAYER; ESPOSITO; DUBEY, 2015). Além disso, os humanos também podem ser hospedeiros intermediários acidentais de outras espécies de *Sarcocystis* spp. por meio de ingestão de água e alimentos contaminados por esporocistos. Casos de sarcocistose muscular ocasionada por infecção pelo *Sarcocystis nesbitti* tem sido relatado. A doença pode ocasionar sintomas inespecíficos como febre, mialgia, cefaleia, fadiga e exaustão, podendo estar associada um quadro clínico de miosite eosinofílica (ANDERSON et al., 2018; FAYER; ESPOSITO; DUBEY, 2015). Em humanos, dados sobre a prevalência de *S. suihominis* são raros, em comparação com *S. hominis*, que apresentam os bovinos como hospedeiro intermediário (Poulsen & Stensvold, 2014). No Brasil, trabalhos demonstram a presença de *S. hominis* em tecidos de bovinos destinados ao consumo humano (ALVES et al., 2018; PENA; OGASSAWARA; SINHORINI, 2001).

Os suínos podem ser hospedeiros de três espécies de *Sarcocystis*: *Sarcocystis miescheriana*, *Sarcocystis suihominis* e *Sarcocystis porcifelis*. Dentre esses, *S. Miescheriana* e *S. suihominis* são patogênicos para suínos, e tem como hospedeiros definitivos os canídeos, o homem e os primatas não humanos, respectivamente. Os sinais clínicos, comumente, são brandos ou subclínicos e pode acarretar perda de peso, anorexia, febre, abortamento, tremores musculares e miocardite (CASPARI et al., 2011; REINER et al., 2002). *S. porcifelis* tem como hospedeiros definitivos os felinos, todavia, a epidemiologia e a patogenicidade deste agente ainda não estão elucidados (DUBEY et al., 2015). Infecções por *Sarcocystis* spp. em suínos têm sido descrita em vários países como China, Alemanha, Índia, Uruguai, Japão, Romênia, Estados Unidos e Filipinas (CLAVERIA; DE LA PEÑA; CRUZ-FLORES, 2001; DAMRIYASA et al., 2004; DUBEY; POWELL, 1994; FREYRE; CHIFFLET; MENDEZ, 1992; IMRE et al., 2017; KAUR et al., 2016; SAITO et al., 1998; YAN et al., 2013). Contudo, no Brasil, estudos que demonstrem a atual prevalência e fatores de riscos da infecção de *Sarcocystis* spp. na espécie suína são escassos.

Para o diagnóstico de *Sarcocystis* spp. as técnicas sorológicas são utilizadas para identificar a presença de anticorpos como resultado da exposição do animal ao protozoário.

Salienta-se que ainda não há uma técnica padronizada para o diagnóstico desta enfermidade em suínos, entretanto, testes como a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), hemaglutinação indireta (IHA) e ELISA tem sido empregados (DAMRIYASA et al., 2004; MOON, 1987; PEREIRA; BERMEJO, 1988). Além disso, usualmente utiliza-se o exame direto pela observação de sarcocistos em amostras de tecidos, por meio de microscopia ótica (CLAVERIA; DE LA PEÑA; CRUZ-FLORES, 2001; DUBEY; POWELL, 1994; IMRE et al., 2017). Métodos de diagnósticos moleculares têm sido adotados como importantes ferramentas na investigação epidemiológica do parasito. Em vários estudos tem sido utilizada a reação em cadeia da polimerase (PCR) para a detecção de DNA de *Sarcocystis* spp. em tecidos, bem como, a técnica de polimorfismo no comprimento do fragmento de restrição (RFLP) e/ou sequenciamento visando a identificação das espécies (ALVES et al., 2018; KAUR et al., 2016).

*Toxoplasma gondii* foi relatado pela primeira vez no Brasil, em São Paulo, por Afonso Splendore, em 1908, que identificou o agente em coelhos de laboratório (SPLENDORE, 1908). Neste mesmo ano foi descrito por Nicolle e Manceaux, na Tunísia, a presença do protozoário no cérebro de um pequeno roedor (*Ctenodactylus gundii*). Esse protozoário possui o genoma haploide, exceto durante a fase sexuada, sendo considerado como altamente clonal e foi agrupado em três genótipos predominantes, denominados tipo I, tipo II e tipo III. As cepas I e II comumente são isoladas de pacientes com toxoplasmose congênita, enquanto em pessoas vivendo com HIV/AIDS comumente é identificada o genótipo tipo II. Em animais as cepas isoladas com maior frequência são do tipo III (MONTROYA; LIESENFELD, 2004). Na Europa e América do Norte considera-se os genótipos tipo I, II e III predominantes, no entanto, na América do Sul, a estrutura genética do protozoário é amplamente distinta, com genótipos atípicos não clonais (SU et al., 2012). No Brasil, descobriu-se uma grande variedade de cepas recombinantes do protozoário (PENA et al., 2008).

O ciclo de vida do parasito é heteroxeno facultativo, sendo os felídeos considerados os hospedeiros definitivos. Esses se infectam por meio da ingestão de oocistos ou tecidos contendo cistos com bradizoítos, e no epitélio intestinal ocorre a fase assexuada. Posteriormente, apenas neste hospedeiro ocorre a fase sexuada, onde formam-se gametas femininos e masculinos que se fundem em um zigoto diploide, culminando com produção e excreção de oocistos não esporulados nas fezes. No meio ambiente, essas formas esporulam tornando-se infectante (DUBEY, 2010). Os oocistos de *T. gondii* tornam-se infectantes entre 1 a 5 dias, sendo resistentes às condições ambientais, podendo permanecer viáveis por até 18

meses em solo úmido ou areia. Dependendo da cepa do parasito e conforme a patogenicidade do agente, a ingestão de dez oocistos esporulados pode ser suficiente para causar infecção (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

Após os hospedeiros intermediários ingerirem os oocistos esporulados e ocorrer a digestão pelas enzimas gástricas, os esporozoítas são liberados e penetram nas células intestinais se multiplicando rapidamente. Este estágio é denominado de taquizoíto e sua multiplicação ocorre de forma assexuada, por endodiogenia ou cissiparidade, em diferentes células do hospedeiro. Com o desenvolvimento de anticorpos do indivíduo, os taquizoítos de segunda geração irão se diferenciar em bradizoítos, que se multiplicam lentamente por endodiogenia e, formarão cistos, evadindo-se do sistema imune do hospedeiro. Os cistos teciduais (bradizoítos) têm predileção por tecidos musculares e nervosos, principalmente pelo sistema nervoso central, no olho e músculos esqueléticos e cardíaco, podendo persistir durante toda vida do hospedeiro. Em alguns casos, os bradizoítos podem se liberar do cisto, transformando-se em taquizoítos e pode causar uma nova infecção, principalmente em indivíduos imunocomprometidos (DUBEY, 2010).

A toxoplasmose, caracteriza-se como uma importante zoonose com impactos na saúde pública. Estima-se que um terço da população humana tenha sido infectada pelo parasito (FURTADO et al., 2011; MONTOYA; LIESENFELD, 2004; TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000). No Brasil, a prevalência desta doença na população humana é alta, variando entre 50 a 70%, e está relacionada à faixa etária, condições socioeconômicas, hábitos alimentares e fatores ambientais. Em gestantes, evidencia-se prevalência de infecções crônicas de 36 a 92% (DUBEY et al., 2012).

Em humanos, a via oral é a forma mais frequente de transmissão, sendo que o consumo de carne crua ou malcozida contendo cistos é considerada uma importante fonte de infecção (COOK et al., 2000), assim como a ingestão de água e alimentos contaminados com oocistos esporulados. O consumo de leite não pasteurizado e queijo fresco de cabra também têm sido considerados como fator de risco de transmissão para o homem (DUBEY et al., 2014). A infecção transplacentária também representa importante via de transmissão, comumente ocasionada após infecção primária da mãe durante a gestação (MONTOYA; LIESENFELD, 2004). Além disso, a transmissão pode ocorrer por transplante de órgãos e transfusão sanguínea de doadores infectados (DUBEY, 2010) Em pessoas imunocompetentes, a enfermidade ocorre frequentemente de forma assintomática, ou com sintomas leves, como febre, linfadenopatia cervical, mialgia e mal-estar. Entretanto, em pacientes

imunocomprometidos os sintomas podem ser mais graves, apresentando alterações neurológicas ou coriorretinite. Em gestantes, a doença pode causar morte fetal, aborto ou provocar alterações congênitas (MONTROYA; LIESENFELD, 2004).

No Brasil, há relatos de surtos envolvendo ingestão de carne crua (BONAMETTI et al., 1997) e também associando oocistos como fonte de infecção, relacionados ao consumo de vegetais contaminados (EKMAN et al., 2012) ou de água não filtrada ou fervida (BAHIA-OLIVEIRA et al., 2003; BALBINO et al., 2021; DE MOURA et al., 2006). Em 2018, na cidade de Santa Maria, RS, ocorreu o maior surto de toxoplasmose humana reportado mundialmente. Segundo o relatório de gestão anual, emitido pela Secretaria de Saúde do Município de Santa Maria foram notificados 2.270 casos clínicos da doença, sendo que, desses, 931 foram confirmados como sendo casos positivos, 146 eram gestantes, três óbitos fetais, dez abortos e 29 nascidos vivos com toxoplasmose congênita (SANTA MARIA, 2018). MINUZZI et al. (2021) relataram a água tratada como suposta via de disseminação do protozoário.

A contaminação do meio ambiente e a infecção dos hospedeiros intermediários estão associados à disseminação de oocistos excretados por gatos domésticos ou comunitários e felinos selvagens. Quando infectados, pela ingestão de cistos teciduais, os felídeos podem excretar até um bilhão de oocistos em suas fezes na primo-infecção, comumente durante as duas primeiras semanas após a infecção (SHAPIRO et al., 2019). Fatores climáticos afetam diretamente a permanência desses oocistos viáveis no habitat, como temperatura, umidade, pH, vegetação e características do solo. Observa-se a maior prevalência de contaminação ambiental por oocistos viáveis em países tropicais úmidos (ROBERT-GANGNEUX; DARDÉ, 2012). O risco de infecção de animais de produção varia de acordo com o sistema de criação, condições e a qualidade da fonte de água fornecida aos animais (GUO et al., 2015). Nos animais, a infecção por *T. gondii* é branda ou assintomática e pode apresentar hipotermia, prostração e anorexia. Entretanto, sua maior importância epidemiológica é verificada nos pequenos ruminantes e suínos, que está relacionada a problemas reprodutivos como aborto, retorno ao cio, mumificação fetal, natimortos e aumento na mortalidade perinatal (DUBEY, 2010).

Considerando a prevalência de *T. gondii* em animais de produção e a formação de cistos em tecidos, ressalta-se o seu importante papel na transmissão do parasito (DUBEY; JONES, 2008; TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000). Em suínos, a soroprevalência varia de 0,4% a 90,0%, dependendo das regiões geográficas e sistema de produção pesquisadas

(GUO et al., 2015; HERRERO et al., 2016). Uma diminuição na taxa de infecção desses animais foi observada, devido à modernização dos sistemas de produção e a implementação de programas higiênicos-sanitários nas criações industriais (DUBEY; JONES, 2008; TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000). Contudo, em criações domésticas a prevalência da doença é alta, sobretudo nas quais os suínos permanecem livres com acesso ao solo, pastagens, alimentos e água contaminada, além de ingestão de animais paratênicos infectados e permanência com animais de outras espécies (FRAZÃO-TEIXEIRA; DE OLIVEIRA, 2011; KIJLSTRA; JONGERT, 2008).

A carne suína tem sido implicada como uma importante via de transmissão do parasito em humanos, (DUBEY, 1996). Na Europa, Cook (2000) pesquisou fatores de risco para a toxoplasmose aguda na gestação de mulheres e os resultados demonstraram que entre 30,0% e 63,0% das infecções atribuiu-se o consumo de alimentos cárneos malcozidos ou curados.

No Brasil, estudos sugerem que a ingestão de embutidos de carne suína podem ser uma relevante via de transmissão. No Rio Grande do Sul, Costa et al. (2018) analisaram a frequência de DNA do protozoário em linguiças frescas e salame curado de oito produtores distintos. Das 118 amostras coletadas, detectaram-se 46 (39,0%) amostras positivas. Dias et al. (2005) em um estudo com linguiça frescal de oito frigoríficos da região de Londrina, Paraná, observou que 8,7% (13/149) das amostras coletadas foram positivas para *T. gondii*, com viabilidade de cistos teciduais, por meio de bioensaio, e assim confirmando a grande importância desta espécie na cadeia epidemiológica da toxoplasmose. Entretanto, o processo de cura e salga de subprodutos de carne suína e embutidos podem inativar os cistos do parasito, dependendo da interação sinérgica entre a concentração de sal, tempo de maturação e temperatura. Estudos demonstram a viabilidade de *T. gondii* em diferentes processos de cura (GOMEZ-SAMBLAS et al., 2015; HERRERO et al., 2017; HILL et al., 2004).

Para o diagnóstico da toxoplasmose, utiliza-se métodos de detecção de anticorpos, como o teste de aglutinação direta modificada (MAT), a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), ensaios imunoenzimáticos (ELISA) ou hemaglutinação (HA) (DUBEY, 2010). Além disso emprega-se testes de bioensaio para isolar o agente e avaliar o risco de infecção, assim como a PCR (GUO et al., 2015). Além disso, diferentes técnicas moleculares são empregadas para o estudo e diagnóstico da população clonal de *T. gondii* incluindo a técnica de RFLP e a genotipagem para a pesquisa em tecidos e produtos cárneos (DA SILVA et al., 2005; SU et al., 2010).

Tendo em vista a importância da infecção de ambos os agentes em animais domésticos e humanos e especialmente o fato da escassez de estudos que evidenciem a infecção por *Sarcocystis* spp. na espécie suína no Brasil e a ocorrência do maior surto de toxoplasmose humana reportado mundialmente, no município de Santa Maria, RS; este trabalho teve como objetivos pesquisar a ocorrência de anticorpos anti-*Sarcocystis* spp. e anti-*T. gondii* em suínos de criações domésticas provenientes do município de Santa Maria, RS, Brasil, e detectar a presença DNA de *Sarcocystis* spp. e *T. gondii* em carne suína e embutidos produzidos no município e destinados ao consumo humano.



## 2. CAPÍTULO 1

(Artigo Científico submetido à Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária)

### ***Sarcocystis* spp. and *Toxoplasma gondii* seroprevalence in swine and detection of nucleic acids from these protozoa in tissues and sausages**

Seroprevalência de *Sarcocystis* spp. e *Toxoplasma gondii* em suínos e detecção de ácidos nucleicos desses protozoários em tecidos e embutidos

Sarcosytosis and toxoplasmosis in swine and sausages

Bruna Dias Espindola<sup>1</sup>; Fagner D'ambroso Fernandes<sup>1\*</sup>; Isac Junior Roman<sup>1</sup>; Gisele Vaz Aguirre Samoel<sup>1</sup>; Roberto Antônio Delgado Barcelos<sup>1</sup>; Alisson Rodrigues Döhler<sup>1</sup>; Sonia de Avila Botton<sup>1</sup> Fernanda Silveira Flores Vogel<sup>1</sup>; Luís Antônio Sangioni<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Doenças Parasitárias (LADOPAR), Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Av. Roraima, nº 1000, Prédio 63C, Bairro Camobi. CEP:97105-900, Santa Maria, RS, Brasil

#### **Abstract**

The aim of this study was to evaluate the occurrence of anti-*Sarcocystis* ssp. and anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in domestic-raised pigs from Santa Maria, RS, Brazil. Furthermore, the presence of DNA of *Sarcocystis* spp. and *T. gondii* was investigated through

---

\*Corresponding author:

Endereço: Av. Roraima, nº1000, Prédio 63C, Bairro Camobi. CEP: 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

Telefone: +55 (55) 999865156

E-mail: fagnermedvet@gmail.com

ORCID iD: 0000-0002-2591-2327

molecular tests in swine tissues and sausages produced in the municipality and destined for human consumption. Serum samples from 84 swine from 31 farms were tested using the indirect immunofluorescence reaction (IFAT) technique. The frequency of occurrence of anti-*Sarcocystis* spp. was 36.9% (31/84), with titers ranging from 32 to 1024 (SD  $\pm$  196.3), and 25% (21/84) for anti-*T. gondii*, with titers ranging from 64 to 2,048 (SD  $\pm$  491.8). A total of 53 swine tissue samples were subjected to polymerase chain reaction (PCR). Of these samples, 36 (67.9%) and 7 (13.2%) were positive for *Sarcocystis* spp. and *T. gondii*, respectively. The presence of antibodies and DNA detection of these protozoa suggest that the pigs were infected and could serve as an important reservoir. The presence of these protozoa in the swine population is relevant to public health because of its zoonotic potential.

**Keywords:** Swine, sarcocystosis, toxoplasmosis, serology, RIFI, PCR

### Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência de anticorpos anti-*Sarcocystis* spp. e anti-*Toxoplasma gondii* em suínos, de criações domésticas, provenientes de Santa Maria, RS, Brasil. Além disso investigou-se a presença de DNA de *Sarcocystis* spp e *T. gondii*, por meio de testes moleculares em tecidos de suínos e embutidos, produzidos no município e destinados ao consumo humano. Amostras de soros de 84 suínos, oriundos de 31 criações foram testadas pela técnica de reação de imunofluorescência indireta (RIFI). A frequência de ocorrência de anticorpos anti – *Sarcocystis* spp. foi de 36,9% (31/84) com titulação variando de 32 a 1024 (DP  $\pm$  196.3) e anti- *T. gondii* foi de 25% (21/84) com títulos variando de 64 a 2.048 (DP  $\pm$  491.8). O total de 53 amostras de tecidos de suínos foram submetidos a reação em cadeia da polimerase (PCR). Dessas amostras 36 (67,9%) e 7 (13,2%) foram positivas para presença de *Sarcocystis* spp e *T. gondii* respectivamente. A presença de anticorpos e detecção de DNA destes protozoários, sugerem que os suínos foram infectados e podem servir como importante reservatório. A presença destes protozoários na população suína tem relevância na área da saúde pública, devido seu potencial zoonótico.

**Palavras-chave:** Suínos, sarcocistose, toxoplasmose, sorologia, RIFI, PCR

### Introduction

*Sarcocystis* spp. and *Toxoplasma gondii* are obligate intracellular protozoa that have a worldwide distribution and are capable of infecting many animals, including humans,

mammals, and birds. These protozoa belong to the Apicomplexa phylum, heteroxenes, and require two hosts to complete their life cycle. The sexual phase occurs in the intestine of definitive hosts, culminating in the production and excretion of oocysts in the feces. However, in intermediate hosts, they form cysts asexually in various tissues (Dubey, 2010, 2015). Transmission of these protozoa to humans can occur through the consumption of raw or undercooked meat or sausages containing parasite cysts, which can cause clinical disease (Cook et al., 2000; Fayer et al., 2015).

*Sarcocystis* spp. present in a variety of species of carnivores and omnivores as definitive hosts, as well as carnivores, herbivores, or omnivores as intermediate hosts, playing an important role in producing animals (Fayer et al., 2015). Approximately 200 species of this protozoan were identified as *Sarcocystis* spp.; *Sarcocystis hominis* and *Sarcocystis suihominis* are considered zoonotic agents, including humans as the definitive host of the parasite. Cases are usually asymptomatic or do not present with severe clinical manifestations (Prakas & Butkauskas, 2012; Fayer et al., 2015). Furthermore, humans can also be accidental intermediate hosts of other species of *Sarcocystis* spp. through ingestion of water and food contaminated with oocysts (Italiano et al., 2014; Anderson et al., 2018). Pigs are infected by three species: *Sarcocystis miescheriana*, *Sarcocystis suihominis*, and *Sarcocystis porcifelis*. *S. miescheriana* and *S. suihominis* are pathogenic for this animal species. The infection is commonly mild or subclinical and may be associated with weight loss, anorexia, fever, miscarriage, muscle tremors, and myocarditis (Reiner et al., 2002; Caspari et al., 2011).

*Sarcocystis* spp. infection in swine has been described in several countries, including China, Germany, India, Uruguay, Romania, and the United States (Freyre et al., 1992; Dubey & Powell, 1994; Damriyasa et al., 2004; Yan et al., 2013; Kaur et al., 2016; Imre et al., 2017). However, studies involving the detection of this parasite in swine species are scarce, and there are no reports in Brazil.

Toxoplasmosis caused by *T. gondii* is an important zoonosis in public health (Tenter et al., 2000). In humans, the transmission of the agent orally is the most frequent form. The infection is often asymptomatic or may present mild symptoms. However, in immunocompromised individuals or in cases of transplacental infection, clinical signs may be more severe. In pregnant women, the disease can cause fetal death, abortion, or congenital changes (Montoya and Liesenfeld, 2004). In animals, the greatest epidemiological importance of the infection has been verified in swine and small ruminant species. Clinical signs in these species are related to reproductive problems, such as abortion, return to heat, fetal

mummification, stillbirths, and increased perinatal mortality (Dubey, 2010). Pigs are more susceptible to *T. gondii* infection because of their omnivorous habits. Swine has been implicated as an important source of parasite infection in humans, and tissue cysts have been found in different organs (Dubey, 1996, 2010).

Considering the importance of both agents, the present study aimed to detect the occurrence of anti-*Sarcocystis* spp. and anti-*T. gondii* in domesticated swine from the municipality of Santa Maria, RS, Brazil, and to detect the presence of nucleic acids (DNA) from *Sarcocystis* spp. and *T. gondii* in swine and sausages produced in the municipality and intended for human consumption.

## **Material and methods**

This cross-sectional study aimed to verify the prevalence of antibodies and DNA detection of *Sarcocystis* spp. and *Toxoplasma gondii* in serum, tissues, and sausages.

### **Samples**

The municipality of Santa Maria, RS, Brazil has a herd of 3,191 swine, on approximately 689 properties. These animals are predominantly bred for family subsistence or local commerce, with an average of eight animals per property (IBGE, 2017). Population sampling was performed using the non-probabilistic method, for convenience, in the form of a snowball (Bailey, 1994). To carry out this study, 84 blood samples were obtained from pigs from 31 family farms located in various regions of the city. The sample collection period was from May 2020 to March 2021, without distinction of age, race, and sex in the population studied. Blood samples were obtained on the properties, with the pigs properly contained, through puncture of the jugular vein or the marginal vein of the ear, varying according to the size of the animal. Additionally, samples of pork sausages were collected from five open markets and fresh tissue samples from rural producers. A total of 53 samples were obtained, consisting of 32 salamis, nine sausages, one black pudding, six hearts, two brains, two tongues, and one costal muscle, from informal production and without sanitary inspection.

The samples were stored in cool boxes and sent to the Parasitic Diseases Laboratory (LADOPAR) of the Federal University of Santa Maria (UFSM). The blood of each animal was identified and centrifuged to obtain serum. The sausages and tissues were macerated,

randomly selected, and divided into two 50  $\mu$  aliquots. Subsequently, the materials were frozen at -20 °C until laboratory analysis.

Descriptive statistics were used in this study. All procedures were approved by the Ethics Committee on the Use of Animals of the Federal University of Santa Maria (CEUA/UFSM) under No. 3151070220.

### **Antibody detection**

Serum samples were analyzed by indirect immunofluorescence reaction (IFAT) for the detection of anti-*Sarcocystis* spp. (Moon, 1987) and anti-*Toxoplasma gondii* (Camargo, 1964) antibodies. *Sarcocystis* spp. bradyzoites, acquired from a naturally infected bovine heart, from a slaughterhouse inspected by the Municipal Inspection Service (SIM) (Moré et al., 2008) and tachyzoites of the *T. gondii* strain RH, obtained from cultivation, (Vero cells) (LADOPAR). In all reactions, fluorescein-conjugated pig IgG (Sigma®, St Louis, USA) was used as the secondary antibody. In the positive and negative controls, blood serum samples from pigs, known to be positive and negative, respectively, were used. The samples were tested in sequential dilutions in base two, from 1:16, until the maximum titer was reached, considering as a positive reaction (cut-off point) animals with anti-*Sarcocystis* spp. and anti-*T. gondii* equal to or greater than 32 and 64, respectively. Later, the reading of the slides was performed under Optiphase INV- 403 epi-fluorescence microscope at a 400X magnification.

### **Nucleic acid extraction and polymerase chain reaction (PCR)**

A Genomic DNA Purification Kit (Promega®, Madison, USA) was used, following the manufacturer's recommendations, with adaptation in the lysis step, according to Bräunig et al. (2016). DNA samples were stored at -20 °C until PCR was performed.

To identify the presence of *Sarcocystis* spp. DNA, PCR was performed using the following primers: SARCO F (CGCAAATTACCCAATCCTGA 5'-3' ') and SARCO R (ATTTCTCATAAGGTGCAGGAG 5'-3'), amplifying a fragment of approximately 700bp of the 18s rDNA gene, according to Ferreira et al. (2018). The PCR conditions were as follows: initial heating at 94 °C for 5 min, followed by 35 cycles of denaturation at 94 °C for 45 s, annealing at 60 °C for 30 s, and extension at 72 °C for 50 s, followed by heating at 72 °C for 10 min.

To detect *Toxoplasma gondii* DNA, the primers TOX4 (5'-CGCTGCAGGGAGGAAGACGAAAGTTG-3') and TOX5 (5'-

CGCTGCAGACACAGTGCATCTGGATT-3') were used in a PCR reaction, which amplified a 529 bp DNA fragment, following the methodology described by Homan et al. (2000). In the positive and negative controls, a DNA sample of RH strain tachyzoites from cell culture, provided by the State University of Londrina (UEL), and ultrapure water, respectively, were used. The parameters used for total DNA amplification were as follows: initial heating at 94 °C for 5 min, followed by 35 cycles of denaturation at 94 °C for 30 s, annealing at 63 °C for 45 s, and extension at 72 °C for 45 s, followed by heating at 72 °C for 5 min.

A T100™ thermocycler (Bio-Rad®, USA) was used to perform PCR. The amplification products were visualized in a UV transilluminator after electrophoresis on a 1.5% agarose gel stained with SYBR® Safe DNA Gel Stain (Invitrogen™, USA).

## Results and discussion

Of the 84 samples of sera from pigs tested, 31 (36.9%) and 21 (25%) were positive for anti-*Sarcocystis* spp. and *Toxoplasma gondii*, respectively. Serological titers for anti-*Sarcocystis* antibodies ranged from 32 to 1,024 (SD ± 196.3) and from 64 to 2,048 (SD ± 491.8) for *T. gondii*. (Table 1). Antibodies to the two protozoa were found in 4% (4/84) of the animals. Of the 31 farms, 67.7% (21/31) and 29% (9/31) had at least one swine positive for *Sarcocystis* spp. and *T. gondii*, respectively, and in 12.9% (4/31), circulation of the two parasites was found. Furthermore, among the 53 samples of tissues and pork sausages, 67.9% (36/53) and 13.2% (7/53) were positive for the presence of *Sarcocystis* spp. and *T. gondii* DNA, respectively (Table 2). Of these, 11.3% (6/53) were positive for both protozoa.

In relation to the protozoan *Sarcocystis* spp., it is noteworthy that studies evaluating the occurrence of anti-*Sarcocystis* antibodies in swine are scarce, and there are no data on its prevalence in Brazil.

The lack of standardization of the cutoff point for IFAT and the use of different diagnostic techniques make comparisons with other studies difficult. Using the IFAT technique, Moon (1987) detected cross-reactivity with *T. gondii* until a titer of 16. Therefore, this study utilized the titer of 32, and the seropositivity cutoff for *Sarcocystis* spp. was reached in 35.9% of the samples. This result is similar to that reported in other countries using different techniques. In Spain, 43% of the animals analyzed were seropositive using the indirect hemagglutination test (IHA) (Pereira & Bermejo, 1988). In Germany, Damriyasa et al. (2004) analyzed by ELISA the seroprevalence of 2,041 females from 230 properties,

where 29% of the animals presented antibodies against *Sarcocystis* spp. in 72% (68/94) of the farms. In this study, 67.7% of the animals were seropositive.

On these properties, the pigs were raised semi-confined and/or free-living, and the sanitary management conditions were precarious. In addition, animals of other species, such as dogs, cats, chickens, birds, and cattle, were in contact with the swine. The feed of these animals consisted of horticultural waste and food leftovers from commercial establishments, rations, pasture, and broken grains. The water offered came from sources such as slopes, dams, and artesian wells. The risk factors for infection in pigs by *Sarcocystis* spp. are not yet fully delineated. However, Damriyasa et al. (2004) and Kaur et al. (2016) suggested that the conditions of livestock management and the age of the animals influence the prevalence of the parasite, because of prolonged exposure to infective forms of the agent present in the environment and in food, mainly in free-living animals.

Furthermore, the severity of the disease is related to the amount of sporocyst ingested by the animal, and although infection in pigs is often subclinical, there is a reduction in weight gain in the affected animals, resulting in economic losses, especially in finishing animals (Reiner et al., 2002).

In addition, the presence of *Sarcocystis* spp. in swine was described by direct examination using electron microscopy, which revealed a prevalence of 57.2% in Uruguay (Freyre et al., 1992), 27% in the Philippines (Claveria et al., 2001), 23.4% in Romania (Imre et al., 2017), and 18.2% in the United States (Dubey & Powell, 1994). In the present study, 67.9% of the samples submitted to PCR were positive for *Sarcocystis* spp., showing a higher prevalence than the previously mentioned ones. However, this indicator was similar to a study carried out in India, where they reported a prevalence of 72.8% in pig heart samples destined for slaughter for human consumption. Detection and analysis of polymorphic restriction fragments (RFLP) of the positive samples obtained from an isolated *Sarcocystis miescheriana* and six isolates of *Sarcocystis suihominis* was performed (Kaur et al., 2016).

Studies investigating the prevalence of *Sarcocystis* spp. in boars reported the detection of *S. suihominis* tissue (Gazzonis et al, 2019; Chauhan et al, 2020). In China, Huang et al. (2019), after morphological characterization of boar muscle samples that were positive for *Sarcocystis* spp., reported a prevalence of 32.9% *S. miescheriana* and 17.1% *S. suihominis*.

In humans, data on the prevalence of *S. suihominis* are rare compared to that regarding *S. hominis*, which presents in cattle as an intermediate host (Poulsen & Stensvold, 2014). In Brazil, some studies have demonstrated the presence of *S. hominis* in bovine tissues intended

for human consumption. Pena et al. (2001) examined raw kebab sold at restaurants in Sao Paulo (SP) and found that 100% of samples were positive for *Sarcocystis* spp., and there was the presence of *S. hominis* in 94% of the samples, which were consumed by six volunteers presenting diarrhea and excretion of sporocysts in the feces. A study in Rio Grande do Sul identified that 6.3% of bovine meat samples and colonial salami tested positive for *S. hominis* (Alves et al., 2018).

The consumption of raw or undercooked pork meat containing *Sarcocysts* spp. is a risk factor for human infection because of the zoonotic potential of *S. suihominis*. However, freezing at -4 °C and cooking at 65 °C has been shown to be effective in inactivating tissue cysts (Srivastava et al., 1986). The results of this study did not allow the differentiation of the parasite species; however, the occurrence of seropositive pigs and *Sarcocystis* spp. DNA detection in tissues and sausage shows the participation of these animals in the life cycle of the protozoan.

The detection of *T. gondii* antibodies (26.9%) obtained in this study is in agreement with the reported mean for pigs from subsistence farming, according to other studies carried out in Brazil, with 36% (36/100) found in Rio Grande do Sul (Cademartori et al. 2014), 25.5% (104/408) in Paraná (Millar et al., 2008), and 51.8% (311/600) in Minas Gerais (Marques-Santos et al., 2017). The results of the detection of *T. gondii* antibodies found are compatible with the analyzed breeding system, as the risk of infection of farm animals varies according to the breeding system, environmental contamination and the presence of other animal species and the presence of definitive hosts in the facilities, as observed by Guo et al. (2015).

Risk factors associated with *T. gondii* infection in pigs related to lack of sanitary management include lack of rodent control, incorrect handling of carcass disposal, and the quality of the water source supplied to the animals. A decrease in the infection rate of this protozoan in swine has been observed because of the modernization of production systems and the implementation of hygienic sanitary programs in industrial breeding (Tenter et al., 2000; Dubey & Jones, 2008). In Brazil, animals on industrial farms have a lower prevalence of infection when compared to that of animals raised for subsistence on domestic farms, with 12.5% in the State of Pernambuco (Samico Fernandes et al., 2012), 12.8% in Mato Grosso (Muraro et al., 2010), and 13.4% in Paraná (Piassa et al., 2010). In this study, it is noteworthy that the antibody titers ranged from 64 to 2048 (SD  $\pm$  491.8). The highest titer of anti-*T. gondii* observed in this study was 2,048, and 128 and 64 were the most frequent (Table 1).



These results suggest the occurrence of chronic infection or reinfection, considering the type of animal husbandry, which includes unsatisfactory environmental conditions, facilities, and sanitary management adopted on the properties. Vidotto et al. (1990) reported that the occurrence of variation in antibody titers (64 to 16,000) indicates a chronic infection, demonstrating an inversely proportional relationship of the decrease in cases with the increase in tested titers.

The detection of protozoans in tissue samples and swine sausages intended for human consumption is extremely important for public health, owing to the risk of human infection (Cook et al., 2000; Torgerson et al., 2015). The result found in this study (13.2%) is similar to that reported in Poland by Sroka et al. (2019), who observed that 12.2% of the samples of pig heart and diaphragm were positive for *T. gondii*. However, a higher prevalence has been described in other studies. It was observed in 38% of tissues and sausages in the UK (Aspinall et al., 2002), 57% of porcine heart samples in Italy (Bacci et al., 2015) and 73.7% of porcine heart, tongue, and muscle samples in Spain. In Brazil, a prevalence of 27.5% in pork sausages has been reported in São Paulo (Da Silva et al., 2005) and 39% in Rio Grande do Sul (Costa et al., 2018).

However, in another study in Parana, a lower prevalence was observed, and it was found that 8.7% of samples were positive for *T. gondii* in fresh sausages and pork, demonstrating the viability of tissue cysts (Dias et al., 2005). In addition, Cademartori et al. (2014) and Herrero et al. (2016) used an isolating agent with a bioassay technique in mice from infected swine tissue, confirming the importance of this species in the epidemiological chain of toxoplasmosis.

Pork meat and fresh or cured sausages are important sources of parasite infection in humans (Jones & Dubey, 2012). However, the curing and salting processes performed in the production of these products can inactivate parasite cysts, depending on the interaction between the sodium chloride concentration and maturation time. Thus, the importance of consuming products of animal origin that are controlled by the Official Inspection Services is highlighted, where the technological processes adopted during manufacturing, such as the addition of food additives and control of physical-chemical parameters, are strictly monitored and in compliance with the Technical Regulation of Identity and Quality (RTIQ) of the products (Brazil, 2017). Hill et al. (2004) emphasized that the treatment of meat with 2% sodium chloride, sodium, or potassium lactate, at a concentration greater than or equal to 1.4%, when treated alone or in combination, was effective in controlling infection, making the

cysts unviable after a day of treatment. In addition, meat heat treatment processes, such as freezing at -12 °C (Kotula et al., 1991) and cooking at or above 63 °C (Jones & Dubey, 2012), can be efficient strategies to reduce the transmission of *T. gondii* to humans.

## Conclusions

This study demonstrated the presence of anti-*Sarcocystis* spp. and anti-*T. gondii* in swine from domestic farms in the city of Santa Maria, RS, Brazil, and the presence of *Sarcocystis* spp. and *T. gondii* DNA in tissues and sausages intended for human consumption. The results indicate that the pigs were infected and participate in the circulation of these parasites, which may lead to the formation of cysts in the tissues of the affected animals. This can be a risk factor for the transmission of these agents to humans through the consumption of raw or undercooked meat containing viable tissue cysts. Thus, it emphasizes the importance of implementing adequate sanitary management in swine breeding, aiming to control infection in animals, as well as to reduce environmental risk factors. New research is needed to identify the species of the genus *Sarcocystis* that circulate in pig populations in order to carry out measures to control the disease and transmission risks of the zoonotic agent.

## Acknowledgment

To the National Research Council (CNPq) and the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for financing the project. CAPES (Financial code 001).

## References

Alves MEM, Cadore GC, Oliveira CS, Portella LP, Sangioni LA, Vogel FSF. Molecular characterization of *Sarcocystis* spp. in samples of meat. *Pesqui Vet Bras* 2018; 38(3): 420–429. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-4606>

Anderson D, Nathoo N, Lu JQ, Kowalewska-Grochowska KT, Power C. *Sarcocystis* myopathy in a patient with HIV-AIDS. *J Neurovirol* 2018; 24(3): 376–378. <https://doi.org/10.1007/s13365-018-0620-x>

Aspinall T V., Marlee D, Hyde JE, Sims PFG. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in

commercial meat products as monitored by polymerase chain reaction – food for thought? *Int J Parasitol* 2002; 32(9): 1193–1199. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(02\)00070-X](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(02)00070-X)

Bacci C, Vismarra A, Mangia C, Bonardi S, Bruini I, Genchi M, et al. Detection of *Toxoplasma gondii* in free-range, organic pigs in Italy using serological and molecular methods. *Int J Food Microbiol* 2015; 202: 54–56. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.03.002>

Bailey, K. D. *Methods of social research*. 7. Ed. New York: Free Press;1994.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Decreto N° 9.013 de 29 de Março de 2017*. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento;2017. [https://www.in.gov.br/materia/-/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/20134722/do1-2017-03-30-decreto-n-9-013-de-29-de-marco-de-2017-20134698](https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/20134722/do1-2017-03-30-decreto-n-9-013-de-29-de-marco-de-2017-20134698)

Bräunig P, Portella LP, Cezar AS, Libardoni F, Sangioni LA, Vogel FSF, et al. DNA extraction methods and multiple sampling to improve molecular diagnosis of *Sarcocystis* spp. in cattle hearts. *Parasitol Res* 2016; 115(10): 3913–3921. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5158-3>

Cademartori BG, Santos LMJF, Oliveira FC, Quevedo P, Oliveira PA, Ramos TS, et al. Isolation and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* in naturally infected (rustic farm) pigs in southern Brazil. *Vet Parasitol* 2014; 203(1–2): 207–211. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.02.009>

Camargo ME. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnostic of toxoplasmosis. *Rev Inst Med Trop* 1964; 6(3): 117–118. PMID:14177810

Caspari K, Grimm F, Kühn N, Caspari NC, Basso W. First report of naturally acquired clinical sarcocystosis in a pig breeding stock. *Vet Parasitol* 2011; 177: 175–178. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.11.019>

Chauhan RP, Kumari A, Nehra AK, Ram H, Garg R, Banerjee PS, et al. Genetic

characterization and phylogenetic analysis of *Sarcocystis sui hominis* infecting domestic pigs (*Sus scrofa*) in India. *Parasitol Res* 2020; 119(10): 3347–3357. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06857-3>

Claveria FG, De La Peña C, Cruz-Flores MJ. *Sarcocystis miescheriana* infection in domestic pigs (*Sus scrofa*) in the Philippines. *J Parasitol* 2001; 87(4): 938–939. [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2001\)087\[0938:SMIIDP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2001)087[0938:SMIIDP]2.0.CO;2)

Cook AJ, Gilbert RE, Buffolano W, Zufferey J, Petersen E, Jenum PA, et al. Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. *BMJ* 2000; 321(7254): 142–7. <https://doi.org/10.1136/bmj.321.7254.142>

Costa DF, Fowler F, Silveira C, Nóbrega MJ, Nobrega HAJ, Nascimento H, et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* DNA in Processed Pork Meat. *Foodborne Pathog Dis* 2018; 15(11): 734–736. <https://doi.org/10.1089/fpd.2018.2438>

Da Silva AV, Mendonça A, Pezerico SB, Domingues PF, Langoni H. Genotyping of *Toxoplasma gondii* strains detected in pork sausage. *Parasitol Latinoam* 2005; 60(1–2). <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-77122005000100011>

Damriyasa IM, Bauer C, Edelhofer R, Failing K, Lind P, Petersen E, et al. Cross-sectional survey in pig breeding farms in Hesse, Germany: Seroprevalence and risk factors of infections with *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis* spp. and *Neospora caninum* in sows. *Vet Parasitol* 2004; 126(3): 271–286. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.07.016>

Dias RAF, Navarro IT, Ruffolo BB, Bugni FM, Castro MV DE, Freire RL. *Toxoplasma gondii* in fresh pork sausage and seroprevalence in butchers from factories in Londrina, Paraná State, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2005; 47(4): 185–189. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652005000400002>

Dubey JP. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. *Vet Parasitol* 1996; 64(1–2): 65–70. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(96\)00961-2](https://doi.org/10.1016/0304-4017(96)00961-2)

Dubey JP. *Toxoplasmosis of Animals and Humans*. 2. ed. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group; 2010.

Dubey JP. Foodborne and waterborne zoonotic sarcocystosis. *Food Waterborne Parasitol* Elsevier Inc 2015; 1(1): 2-11. <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2015.09.001>

Dubey JP, Jones JL. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *Int J Parasitol* 2008; 38(11): 1257–1278. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.03.007>

Dubey JP, Powell EC. Prevalence of Sarcocystis in sows from Iowa. *Vet Parasitol* 1994; 52(1–2): 151–155. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(94\)90045-0](https://doi.org/10.1016/0304-4017(94)90045-0)

Fayer R, Esposito DH, Dubey JP. Human infections with Sarcocystis species. *Clin Microbiol Rev* 2015; 28(2): 295–311. <https://doi.org/10.1128/CMR.00113-14>

Ferreira MST, Vogel FSF, Sangioni LA, Cezar AS, Braunig P, Avilla Botton S, et al. Sarcocystis species identification in cattle hearts destined to human consumption in southern Brazil. *Vet Parasitol Reg Stud Reports* 2018; 14: 94–98. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.09.002>

Freyre A, Chifflet L, Mendez J. Sarcosporidian infection in pigs in Uruguay. *Vet Parasitol* 1992; 41(1–2): 167–171. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(92\)90020-A](https://doi.org/10.1016/0304-4017(92)90020-A)

Gazzonis AL, Gjerde B, Villa L, Minazzi S, Zanzani SA, Riccaboni P, et al. Prevalence and molecular characterisation of *Sarcocystis miescheriana* and *Sarcocystis suihominis* in wild boars (*Sus scrofa*) in Italy. *Parasitol Res* 2019; 118(4): 1271–1287. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06249-2>

Guo M, Dubey JP, Hill D, Buchanan RL, Gamble HR, Jones JL, et al. Prevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in meat animals and meat products destined for human consumption. *J Food Prot* 2015; 78(2): 457–76. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-328>

Herrero L, Gracia MJ, Pérez-Arquillué C, Lázaro R, Herrera M, Herrera A, et al. *Toxoplasma gondii*: Pig seroprevalence, associated risk factors and viability in fresh pork meat. *Vet Parasitol* 2016; 224: 52–59. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.05.010>

Hill DE, Sreekumar C, Gamble HR, Dubey JP. Effect of commonly used enhancement solutions on the viability of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork loin. *J Food Prot* 2004; 67(10): 2230–2233. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.10.2230>

Homan W., Vercammen M, De Braekeleer J, Verschueren H. Identification of a 200- to 300-fold repetitive 529 bp DNA fragment in *Toxoplasma gondii*, and its use for diagnostic and quantitative PCR. *Int J Parasitol* 2000; 30(1): 69–75. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(99\)00170-8](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(99)00170-8)

Huang Z, Ye Y, Zhang H, Deng S, Tao J, Hu J, et al. Morphological and molecular characterizations of *Sarcocystis miescheriana* and *Sarcocystis suihominis* in domestic pigs (*Sus scrofa*) in China. *Parasitol Res* 2019; 118(12): 3491–3496. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06521-5>

IBGE . Pesquisa Pecuária Municipal. 2017. Acesso em 11 de dezembro de 2020. [https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/templates/censo\\_agro/resultadosagro/pecuaria.html?localidade=43&tema=75677](https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/templates/censo_agro/resultadosagro/pecuaria.html?localidade=43&tema=75677)

Imre K, Sala C, Morar A, Imre M, Ciontu C, Chisăliță I, et al. Occurrence and first molecular characterization of *Sarcocystis* spp. in wild boars (*Sus scrofa*) and domestic pigs (*Sus scrofa domesticus*) in Romania: Public health significance of the isolates. *Acta Trop* 2017; 167: 191–195. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.12.038>

Italiano CM, Wong KT, AbuBakar S, Lau YL, Ramli N, Syed Omar SF, et al. *Sarcocystis nesbitti* Causes Acute, Relapsing Febrile Myositis with a High Attack Rate: Description of a Large Outbreak of Muscular Sarcocystosis in Pangkor Island, Malaysia, 2012. *PLoS Negl Trop Dis* 2014; 8(5): e2876. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002876>

Jones JL, Dubey JP. Foodborne toxoplasmosis. *Clin Infect Dis* 2012; 55(6): 845–851.

<https://doi.org/10.1093/cid/cis508>

Kaur M, Singh BB, Sharma R, Gill JPS. Pervasive Environmental Contamination with Human Feces Results in High Prevalence of Zoonotic Sarcocystis Infection in Pigs in the Punjab, India. *J Parasitol* 2016; 102(2): 229–232. <https://doi.org/10.1645/15-828>

Kotula AW, Dubey JP, Sharar AK, Andrews CD, Shen SK, Lindsay DS. Effect of Freezing on Infectivity of *Toxoplasma gondii* Tissue Cysts in Pork. *J Food Prot* 1991; 54(9): 687–690. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-54.9.687>

Marques-Santos F, Amendoeira MRR, Carrijo KF, Santos JPAF, Arruda IF, Sudré AP, et al. Occurrence of *Toxoplasma gondii* and risk factors for infection in pigs raised and slaughtered in the Triângulo Mineiro region, Minas Gerais, Brazil. *Pesqui Vet Bras* 2017; 37(6): 570–576. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017000600006>

Millar PR, Daguer H, Vicente RT, Costa T DA, Sobreiro LG, Amendoeira MRR. *Toxoplasma gondii*: estudo soro-epidemiológico de suínos da região Sudoeste do Estado do Paraná. *Pesqui Veterinária Bras* 2008; 28(1): 15–18. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2008000100002>

Montoya J, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *Lancet* 2004; 363(9425): 1965–1976. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16412-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16412-X)

Moon MH. Serological cross-reactivity between Sarcocystis and Toxoplasma in pigs. *Korean J Parasitol* 1987; 25(2): 188. <https://doi.org/10.3347/kjp.1987.25.2.188>

Moré G, Basso W, Bacigalupe D, Venturini MC, Venturini L. Diagnosis of *Sarcocystis cruzi*, *Neospora caninum*, and *Toxoplasma gondii* infections in cattle. *Parasitol Res* 2008; 102(4): 671–675. <https://doi.org/10.1007/s00436-007-0810-6>

Muraro LS, Caramori Júnior JGC, Amendoeira MRR, Pereira JA, Oliveira Filho JX, Vicente RT, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in swine matrices in Nova Mutum and Diamantino, Mato Grosso, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2010; 19(4): 254–255. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612010000400012>

Pena HFDJ, Ogassawara S, Sinhorini LI. Occurrence of cattle sarcocystis species in raw kibbe from Arabian food establishments in the city of São Paulo, Brazil, and experimental transmission to humans. *J Parasitol* 2001; 87(6): 1459–1465. [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2001\)087\[1459:OOCSSI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2001)087[1459:OOCSSI]2.0.CO;2)

Pereira A, Bermejo M. Prevalence of Sarcocystis Cysts in Pigs and Sheep in Spain. *Vet Parasitol* 1988; 27: 353-355.

Piassa FR, Araújo JB, Rosa RC, Mattei RJ, Silva RC, Langoni H, et al. Prevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in certified and non-certified pig breeding farms in the Toledo microregion, PR, Brazil. *Rev Bras Parasitol Veterinária* 2010; 19(3): 152–156. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612010000300005>

Poulsen CS, Stensvold CR. Current status of epidemiology and diagnosis of human sarcocystosis. *J Clin Microbiol* American Society for Microbiology 2014; 52 (10): 3524-30. <https://doi.org/10.1128/jcm.00955-14>

Prakas P, Butkauskas D. Protozoan parasites from genus Sarcocystis and their investigations in Lithuania. *Ekologija* 2012; 58 (1): 45-58.

Reiner G, Eckert J, Peischl T, Bochert S, Jäkel T, Mackenstedt U, et al. Variation in clinical and parasitological traits in Pietrain and Meishan pigs infected with *Sarcocystis miescheriana*. *Vet Parasitol* 2002; 106(2): 99–113. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(02\)00041-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00041-9)

Samico Fernandes EFT, Samico Fernandes MFT, Kim PCP, Albuquerque PPF, Souza Neto OL, S. Santos A, et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in slaughtered pigs in the state of Pernambuco, Brazil. *J Parasitol* 2012; 98(3): 690–691. <https://doi.org/10.1645/GE-3032.1>

Srivastava PS, Saha AK, Sinha SRP. Effects of heating and freezing on the viability of sarcocysts of *Sarcocystis levinei* from cardiac tissues of buffaloes. *Vet Parasitol* 1986; 19(3–4): 329–332. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(86\)90080-4](https://doi.org/10.1016/0304-4017(86)90080-4)



Sroka J, Bilaska-Zajac E, Wójcik-Fatla A, Zajac V, Dutkiewicz J, Karamon J, et al. Detection and Molecular Characteristics of *Toxoplasma gondii* DNA in Retail Raw Meat Products in Poland. *Foodborne Pathog Dis* 2019; 16(3): 195–204. <https://doi.org/10.1089/fpd.2018.2537>

Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasitol* 2000; 30(12–13): 1217–58. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(00\)00124-7](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(00)00124-7)

Torgerson PR, Devleesschauwer B, Praet N, Speybroeck N, Willingham AL, Kasuga F, et al. World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 11 Foodborne Parasitic Diseases, 2010: A Data Synthesis. *PLoS Med* 2015; 12(12): e1001920. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001920>

Vidotto O, Navarro IT, Mitsuka R, Freire RL. Estudos epidemiológicos da toxoplasmose em suínos da região de Londrina – PR. *Semin Ciências Agrárias* 1990; 11(1): 53–59. <https://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.1990v11n1p53>

Yan W, Qian W, Li X, Wang T, Ding K, Huang T. Morphological and molecular characterization of *Sarcocystis miescheriana* from pigs in the central region of China. *Parasitol Res* 2013; 112(3): 975–980. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-3219-9>

Table 1- Titration of anti-*Sarcocystis* spp. and *Toxoplasma gondii* from serum-regent pigs in the indirect immunofluorescence reaction (IFAT) test.

<i>Sarcocystis</i> spp.		<i>Toxoplasma gondii</i>	
Antibody title	Nº of positive pigs (%)	Antibody title	Nº of positive pigs (%)
32	11 (35,5%)	64	8 (38,1%)
64	7 (22,6%)	128	7 (33,3%)
128	6 (19,4%)	256	1 (4,8%)
256	5 (16,1%)	512	2 (9,5%)
512	1 (3,2%)	1024	2 (9,5%)
1024	1 (3,2%)	2048	1 (4,8%)
Total	31 (100,0%)		21(100,0%)

Table 2- Occurrence of *Sarcocystis* spp. and *Toxoplasma gondii* in tissue and sausage samples collected in open markets and direct from producers in the municipality of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil, tested by polymerase chain reaction (PCR).

<i>Sarcocystis</i> spp.		<i>Toxoplasma gondii</i>	
Tissues and sausage	N° of positive sample (%)	Tissues and sausage	N° of positive sample (%)
Salami	20 (55,5%)	Salami	5 (71,4%)
Sausage	5 (13,9%)	Hearts	1 (14,3%)
Hearts	6 (16,7%)	Brains	1 (14,3%)
Brains	1 (2,8%)		
Tonges	2 (5,5%)		
Costal muscle	1 (2,8%)		
Black pudding	1 (2,8%)		
Total	36 (100,0%)		7 (100,0%)

### 3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos no neste trabalho indicam a circulação de *Sarcocystis* spp e *Toxoplasma gondii* na região pesquisada e que os suínos fazem parte do ciclo epidemiológico destes parasitos. Além disso, a taxa de detecção de DNA de *Sarcocystis* spp. em amostras de tecidos confirma que esta espécie animal contribui na epidemiologia desta enfermidade. Ressalta-se que a infecção de suínos por *Sarcocystis* spp. foi descrita anteriormente em outros países. Este dado é extremamente relevante pois não existem estudos sobre este parasito na espécie suína no Brasil.

A prevalência de anticorpos anti-*Sarcocystis* spp e anti- *T. gondii* encontrada nestes estudos, além da frequência da ocorrência da infecção nos animais das propriedades, sugere que haja uma grande contaminação ambiental nestas áreas analisadas. Destaca-se que os dados obtidos deste estudo são provenientes de criações domésticas de suínos, onde os animais têm acesso ao meio ambiente (vida livre), bem como, os manejos sanitários são precários e encontram-se mais expostos a carga parasitária ambiental, pois podem ingerir oocistos presentes na água, nos alimentos e no solo.

Considerando que em 2018, na cidade de Santa Maria, RS, ocorreu o maior surto de toxoplasmose humana reportado mundialmente, é de grande importância a identificação da ocorrência de *T. gondii* na população de animais de produção criados no município, assim como produtos cárneos processados e destinados ao consumo humano.

Tendo em vista que, a infecção em suínos por estes protozoários culmina em formação de cistos microscópicos, que não são detectados na inspeção da carcaça, durante o abate dos animais e as infecções representam um fator de risco de transmissão desses agentes ao homem, através do consumo de carne crua ou mal cozida. Desta forma, ressalta-se a importância de consumir produtos de origem animal controlados pelos Serviços de Inspeção Oficiais, onde os processos tecnológicos adotados durante a fabricação, como adição de aditivos alimentares e controle de parâmetros físico-químicos são rigorosamente monitorados, atendendo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) dos produtos.

Assim, sugere-se a necessidade de realizar novas pesquisas para identificar as espécies de *Sarcocystis* spp. envolvidas no ciclo da infecção dos suínos e contribuir no esclarecimento desta enfermidade, para possibilitar as intervenções e medidas de prevenção e controle da infecção nestes animais. Além disso, enfatiza-se a necessidade de orientação e esclarecimento

aos produtores e a população quanto ao risco de infecção por *Sarcocystis* spp e *T. gondii* em humanos e animais.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, M. E. M. et al. Molecular characterization of *Sarcocystis* spp. in samples of meat. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 3, p. 420–429, 1 jan. 2018.

ANDERSON, D. et al. *Sarcocystis* myopathy in a patient with HIV-AIDS. **Journal of NeuroVirology**, v. 24, n. 3, p. 376–378, 1 jun. 2018.

BAHIA-OLIVEIRA, L. M. G. et al. Highly Endemic, Waterborne Toxoplasmosis in North Rio de Janeiro State, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, n. 1, p. 55–62, jan. 2003.

BALBINO, L. S. et al. Epidemiological study of toxoplasmosis outbreaks in Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**, p. 1-8, 2021.

BONAMETTI, A. M. et al. Surto de toxoplasmose aguda transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, n. 1, p. 21–25, fev. 1997.

CASPARI, K. et al. First report of naturally acquired clinical *sarcocystosis* in a pig breeding stock. **Veterinary Parasitology**, v. 177, p. 175–178, 2011.

CLAVERIA, F. G.; DE LA PEÑA, C.; CRUZ-FLORES, M. J. *Sarcocystis miescheriana* infection in domestic pigs (*Sus scrofa*) in the Philippines. **Journal of Parasitology**, v. 87, n. 4, p. 938–939, 2001.

COOK, A. J. et al. Sources of *toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 321, n. 7254, p. 142–7, 15 jul. 2000.

COSTA, D. F. et al. Prevalence of *toxoplasma gondii* DNA in Processed Pork Meat. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 15, n. 11, p. 734–736, 1 nov. 2018.

DA SILVA, A. V. et al. Genotyping of *Toxoplasma gondii* strains detected in pork sausage. **Parasitología latinoamericana**, v. 60, n. 1–2, jun. 2005.

DAMRIYASA, I. M. et al. Cross-sectional survey in pig breeding farms in Hesse, Germany: Seroprevalence and risk factors of infections with *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis* spp. and *Neospora caninum* in sows. **Veterinary Parasitology**, v. 126, n. 3, p. 271–286, 15 dez. 2004.

DE MOURA, L. et al. Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 2, p. 326–329, 2006.

DIAS, R. A. F. et al. *Toxoplasma gondii* in fresh pork sausage and seroprevalence in butchers from factories in Londrina, Paraná State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**

de São Paulo, v. 47, n. 4, p. 185–189, ago. 2005.

DUBEY, J. P. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. **Veterinary Parasitology**, v. 64, n. 1–2, p. 65–70, 1 ago. 1996.

DUBEY, J. P. **Toxoplasmosis of Animals and Humans**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group, 2010. 304 p.

DUBEY, J. P. et al. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. **Parasitology**, v. 139, n. 11, p. 1375–1424, set. 2012.

DUBEY, J. P. et al. Detection and Survival of *Toxoplasma gondii* in Milk and Cheese from Experimentally Infected Goats. **Journal of Food Protection**, v. 77, n. 10, p. 1747–1753, out. 2014.

DUBEY, J. P. et al. **Sarcocystosis of animals and man**. 2. ed. Boca Raton, Flórida: CRC Press, Inc., 2015. 481 p.

DUBEY, J. P.; JONES, J. L. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States International. **International Journal for Parasitology**, v. 38, n. 11, p. 1257–1278, 1 set. 2008.

DUBEY, J. P.; POWELL, E. C. Prevalence of *Sarcocystis* in sows from Iowa. **Veterinary Parasitology**, v. 52, n. 1–2, p. 151–155, 1 mar. 1994.

EKMAN, C. C. J. et al. Case-control study of an outbreak of acute toxoplasmosis in an industrial plant in the state of São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 54, n. 5, p. 239–244, set. 2012.

FAYER, R. *Sarcocystis* spp. in human infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 17, n. 2, p. 894–902, 2004.

FAYER, R.; ESPOSITO, D. H.; DUBEY, J. P. Human infections with *Sarcocystis* species. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, n. 2, p. 295–311, 1 abr. 2015.

FRAZÃO-TEIXEIRA, E.; DE OLIVEIRA, F. C. R. Anti-*Toxoplasma gondii* Antibodies in Cattle and Pigs in a Highly Endemic Area for Human Toxoplasmosis in Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 97, n. 1, p. 44–47, fev. 2011.

FREYRE, A.; CHIFFLET, L.; MENDEZ, J. Sarcosporidian infection in pigs in Uruguay. **Veterinary Parasitology**, v. 41, n. 1–2, p. 167–171, 1 fev. 1992.

FURTADO, J. M. et al. Toxoplasmosis: A global threat. **Journal of Global Infectious Diseases**. Anais...jul. 2011.

GOMEZ-SAMBLAS, M. et al. Quantification and viability assays of *Toxoplasma gondii* in commercial “Serrano” ham samples using magnetic capture real-time qPCR and bioassay techniques. **Food Microbiology**, v. 46, p. 107–113, 2015.

GUO, M. et al. Prevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in meat animals

and meat products destined for human consumption. **Journal of food protection**, v. 78, n. 2, p. 457–76, fev. 2015.

HERRERO, L. et al. *Toxoplasma gondii*: Pig seroprevalence, associated risk factors and viability in fresh pork meat. **Veterinary Parasitology**, v. 224, p. 52–59, 15 jul. 2016.

HERRERO, L. et al. *Toxoplasma gondii* in raw and dry-cured ham: The influence of the curing process. **Food Microbiology**, v. 65, p. 213–220, 1 ago. 2017.

HILL, D. E. et al. Effect of commonly used enhancement solutions on the viability of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork loin. **Journal of Food Protection**, v. 67, n. 10, p. 2230–2233, 2004.

IMRE, K. et al. Occurrence and first molecular characterization of *Sarcocystis* spp. in wild boars (*Sus scrofa*) and domestic pigs (*Sus scrofa domesticus*) in Romania: Public health significance of the isolates. **Acta Tropica**, v. 167, p. 191–195, 1 mar. 2017.

KAUR, M. et al. Pervasive Environmental Contamination with Human Feces Results in High Prevalence of Zoonotic *Sarcocystis* Infection in Pigs in the Punjab, India. **Journal of Parasitology**, v. 102, n. 2, p. 229–232, 1 abr. 2016.

KIJLSTRA, A.; JONGERT, E. Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. **International Journal for Parasitology**, v. 38, n. 12, p. 1359–1370, out. 2008.

MINUZZI, C. E. et al. Contaminated water confirmed as source of infection by bioassay in an outbreak of toxoplasmosis in South Brazil. **Transboundary and emerging diseases**, v. 68, n. 2, p. 767–772, 1 mar. 2021.

MONTOYA, J.; LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. **The Lancet**, v. 363, n. 9425, p. 1965–1976, jun. 2004.

MOON, M. H. Serological cross-reactivity between *Sarcocystis* and *Toxoplasma* in pigs. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 25, n. 2, p. 188, 1987.

PENA, H. F. D. J.; OGASSAWARA, S.; SINHORINI, L. I. Occurrence of cattle *sarcocystis* species in raw kibbe from Arabian food establishments in the city of São Paulo, Brazil, and experimental transmission to humans. **Journal of Parasitology**, v. 87, n. 6, p. 1459–1465, 1 dez. 2001.

PENA, H. F. J. et al. Population structure and mouse-virulence of *Toxoplasma gondii* in Brazil. **International Journal for Parasitology**, v. 38, n. 5, p. 561–569, 1 abr. 2008.

PEREIRA, A.; BERMEJO, M. Prevalence of *Sarcocystis* Cysts in Pigs and Sheep in Spain. **Veterinary Parasitology**, v. 27, p. 353–355, 1988.

REINER, G. et al. Variation in clinical and parasitological traits in Pietrain and Meishan pigs infected with *Sarcocystis miescheriana*. **Veterinary Parasitology**, v. 106, n. 2, p. 99–113, 3 jun. 2002.

ROBERT-GANGNEUX, F.; DARDÉ, M. L. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v.25, n. 2, 2012.

SAITO, M. et al. *Sarcocystis sui hominis* Detected for the First Time from Pigs in Japan. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 60, n. 3, p. 307–309, 1998.

SANTA MARIA. Secretaria de município da saúde de santa maria – RS. **Relatório de Gestão**. 2018. Santa Maria: [s.n.]. Disponível em: <<https://www.santamaria.rs.gov.br/saude/658-relatorios-aneais-de-gestao>>. Acesso em: 06 de abril de 2020.

SHAPIRO, K. et al. Environmental transmission of *Toxoplasma gondii*: Oocysts in water, soil and food. **Food and Waterborne Parasitology**, v. 12, 2019.

SPLENDORE, A. Un nuovo protozoa parassita de conigli incontrato nelle lesioni anatomiche d'una malattia che ricorda in punti kala-azar dell'umo. Nota preliminare. **Revista sociedade Scientifica São Paulo**, v. 3, p. 109–112, 1908.

SU, C. et al. Moving towards an integrated approach to molecular detection and identification of *Toxoplasma gondii*. **Parasitology**, v. 137, n. 1, p. 1–11, 21 jan. 2010.

SU, C. et al. Globally diverse *Toxoplasma gondii* isolates comprise six major clades originating from a small number of distinct ancestral lineages. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 15, p. 5844–9, 10 abr. 2012.

TENTER, A. M. Current research on *Sarcocystis* species of domestic animals. **International Journal for Parasitology**, v. 25, n. 11, p. 1311–1330, 1 nov. 1995.

TENTER, A. M. *Toxoplasma gondii* in animals used for human consumption. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 2, p. 364–369, 2009.

TENTER, A. M.; HECKEROTH, A. R.; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International journal for parasitology**, v. 30, n. 12–13, p. 1217–58, nov. 2000.

YAN, W. et al. Morphological and molecular characterization of *Sarcocystis miescheriana* from pigs in the central region of China. **Parasitology Research**, v. 112, n. 3, p. 975–980, mar. 2013.