



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

LARISSA AMÉRICO

**INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA FASCIULOSE BOVINA NO PLANALTO
SERRANO CATARINENSE**

**LAGES
2021**

LARISSA AMÉRICO

**INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA FASCIULOSE BOVINA NO PLANALTO
SERRANO CATARINENSE**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias – CAV, da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC.

Orientador: Prof. Dr. Andreas Lazaros Chryssafidis

LAGES

2021

LARISSA AMÉRICO

**INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA FASCIULOSE BOVINA NO PLANALTO
SERRANO CATARINENSE**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciência Animal pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias – CAV, da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC.

Orientador: Prof. Dr. Andreas Lazaros Chryssafidis

BANCA EXAMINADORA

Dr. Andreas Lazaros Chryssafidis
UDESC/Lages-SC (Orientador e Presidente)

Membros:

Dr. Anderson Barbosa de Moura
UDESC/Lages-SC (Membro)

Dr. Mauro Maciel de Arruda
UNIBAVE/Orleans-SC (Membro externo)

Lages, 17 de dezembro de 2021.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pela bolsa de estudos, e à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC – chamada pública nº 027/2020 – termo de outorga 793/2021) pelo apoio e incentivo à pesquisa.

Agradeço ao meu orientador Andreas pela grande oportunidade, e por todo o conhecimento adquirido ao longo do projeto.

Aos meus pais, que sempre estiveram ao meu lado me apoiando ao longo de toda a minha trajetória.

Aos amigos do laboratório, Marieli Ayumi Kaibara, Larissa Godeski Moreira, Gustavo Neuhaus, Ana Luiza Bilck Girardi, Maria Eduarda Albano, Heloísa Ottequir, Ângela Wolosyn Brum de Oliveira, Vitória Martins, Sandy Radünz, Felipe Rieth, Paula Maciel Arruda, Mirian Prevelato de Andrade e Luna Silvestri, que contribuíram diretamente para a realização deste trabalho, auxiliando nas coletas e no processamento de todas as amostras.

À minha amiga Thaynara Freitas Eger, por estar sempre ao meu lado em todos os momentos, e por todas as palavras de apoio.

A todos os produtores que nos receberam de forma tão acolhedora em suas propriedades.

Aos extensionistas da EPAGRI, César Alessandro Arruda, Ana Paula Schilichting e Cristian Lemos de Medeiros, por acreditarem no projeto e nos acompanharem até as propriedades.

Aos veterinários da prefeitura de Lages, Mayckon Antonio Cardoso Padilha e Thiago Cordeiro, pela parceria.

Aos veterinários Guilherme Drescher e Josiane Matos pelo apoio e disposição em fornecer as informações adicionais para a conclusão deste trabalho.

RESUMO

Fasciola hepatica é relatada como um trematódeo de grande importância, sendo causador da fasciolose, uma das doenças parasitárias zoonóticas mais negligenciadas no mundo. No Brasil, foram calculadas perdas potenciais ao redor dos US\$ 210 milhões anuais, somente com a fasciolose bovina. O Estado de Santa Catarina está localizado na região Sul do Brasil, contando com mais de 4 milhões de cabeças de ruminantes. O Planalto Serrano Catarinense é composto por 18 municípios, os quais possuem tradição agropecuária consolidada, principalmente na pecuária extensiva de ruminantes. O objetivo do presente trabalho foi pesquisar a ocorrência e distribuição de casos autóctones de fasciolose bovina no Planalto Serrano, bem como investigar a presença dos caramujos vetores na região. Para isso, foram realizadas análises em propriedades rurais de sete municípios e em três abatedouros do Planalto Serrano. Propriedades rurais foram aleatoriamente selecionadas e visitadas, sendo realizada coleta de amostras fecais de até 20 bovinos por propriedade, com idade superior a um ano, incluídos também de forma aleatória. Estas amostras foram acondicionadas em caixa térmica e transportadas ao LAPAR para realização de exame coproparasitológico de sedimentação. Nestas propriedades, foram realizadas buscas ativas pelos gastrópodes vetores e realizada a identificação morfológica dos espécimes coletados. Ainda, foram analisados dados de rastreamento de bovinos abatidos em três frigoríficos da região, entre os anos de 2018 e 2021. No total, houveram coletas em 102 fazendas, em sete municípios, totalizando 1.837 bovinos testados. Destes, 178 (9,7%) foram positivos e autóctones. Dos 670 caramujos coletados, 62 foram pioneiramente identificados como *Pseudosuccinea columella*, uma das principais espécies vetoras de *F. hepatica*. Nos abatedouros, durante o período foram abatidos 9.826 bovinos, sendo que 1.625 (16,5%) animais eram positivos e, de acordo com os relatórios de movimentação animal, nunca deixaram a Mesorregião Serrana. O presente estudo confirmou a presença de casos autóctones da fasciolose bovina em municípios do Planalto Serrano Catarinense e verificou um alto índice de positividade em animais abatidos em frigoríficos de Inspeção Estadual. O caramujo *P. columella*, importante hospedeiro intermediário do trematódeo, foi identificado pela primeira vez nos municípios de Lages, Capão Alto e Paineira. Quando comparamos a prevalência da fasciolose bovina *in vivo* com o índice de positividade *post mortem*, houve diferença entre estes resultados nos municípios de Bocaina do Sul, Lages, Paineira e Urupema (p -valor $<0,05$). Houve concordância entre estas análises apenas no município de Capão Alto (p -valor = 0,22), enfatizando a necessidade da investigação a campo para o correto entendimento da distribuição e frequência deste parasito. Sendo assim, novos estudos são essenciais para a avaliação dos fatores epidemiológicos importantes para a ocorrência da fasciolose bovina, contribuindo para o planejamento e implementação de medidas eficientes para o controle da doença e diminuição das perdas econômicas decorrentes da parasitose.

Palavras-chave: *Fasciola hepatica*. Zoonose. Prevalência. Ruminantes.

ABSTRACT

Fasciola hepatica is reported as a trematode of great importance, causing fasciolosis, one of the most neglected zoonotic parasitic diseases in the world. In Brazil, potential losses were estimated at around US\$ 210 million per year, only with bovine fasciolosis. The State of Santa Catarina is located in the southern region of Brazil, with more than 4 million ruminant heads. The Planalto Serrano Catarinense is composed of 18 municipalities which have a consolidated agricultural tradition, mainly in extensive ruminant livestock. The objective of the present work was to investigate the occurrence and distribution of autochthonous cases of bovine fasciolosis in the Planalto Serrano, as well as to investigate the presence of vector snails in the region. For this, analyzes were carried out in rural properties in seven municipalities and in three slaughterhouses in the Planalto Serrano. Rural properties were randomly selected and visited, and fecal samples were collected from up to 20 cattle per property, aged over one year, also randomly included. These samples were packed in a thermal box and transported to LAPAR for coproparasitological sedimentation examination. In these properties, active searches were carried out for the gastropod vectors, followed by the morphological identification of the collected specimens was carried out. Also, tracking data of cattle slaughtered in three slaughterhouses in the region, between the years of the 2018 and 2021 were analyzed. In total, there were collections in 102 farms, in seven municipalities, with a total of 1.837 cattle tested. Of these, 178 (9,7%) were positive and autochthonous. From the 670 snails collected, 62 were identified as *Pseudosuccinea columella*, one of the main vector species of *F. hepatica*. During the period, 9.826 cattle were slaughtered at the slaughterhouses of which 1.625 (16,5%) were positive and, according to animal movement reports, never left the Serrana Mesoregion. The present study confirmed the presence of autochthonous cases of bovine fasciolosis in municipalities of the Planalto Serrano Catarinense, and verified a high rate of positivity in animals slaughtered in State Inspection slaughterhouses. The snail *P. columella*, an important intermediate host of the trematode, was identified for the first time in the municipalities of Lages, Capão Alto and Painel. When we compared the prevalence of bovine fasciolosis *in vivo* with the *post mortem* positivity index, there was a difference between these results in the municipalities of Bocaina do Sul, Lages, Painel and Urupema (p -value <0.05). There was agreement between these analyzes only in the municipality of Capão Alto (p -value = 0.22), emphasizing the need for field investigation for the proper understanding of the distribution and frequency of this parasite. Therefore, new studies are essential for the evaluation of epidemiological factors important for the occurrence of bovine fasciolosis, contributing to the planning and implementation of efficient measures for disease control and reduction of the economic losses resulting from the parasitosis.

Keywords: *Fasciola hepatica*. Zoonosis. Prevalence. Ruminants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Morfologia externa de <i>Fasciola hepatica</i> adulta.....	15
Figura 2 - Ovos operculados de <i>Fasciola hepatica</i> não embrionados.....	16
Figura 3 - Ciclo biológico de <i>Fasciola hepatica</i>	17
Figura 4 - Imagem de fígado bovino analisado <i>post mortem</i> cujo ducto biliar se encontra bastante espessado, sugerindo parasitismo por vermes adultos de <i>Fasciola hepatica</i>	20
Figura 5 - Imagem de fígado bovino analisado <i>post mortem</i> com lesões cicatriciais causadas pelo processo de migração dos parasitos jovens de <i>Fasciola hepatica</i>	21
Figura 6 - Municípios amostrados na região do Planalto Serrano Catarinense para a coleta de amostras de fezes de animais <i>in vivo</i>	26
Figura 7 - Procedimento de coleta de amostra intra-retal de animais a campo.....	27
Figura 8 - Anotação dos dados individuais dos bovinos amostrados na ficha de controle de campo do projeto de pesquisa.....	28
Figura 9 - Materiais utilizados no exame coproparasitológico de sedimentação.....	29
Figura 10 - Sedimento resultante do exame coproparasitológico de sedimentação, corado com azul de metileno 1% para a leitura.....	30
Figura 11 - Busca ativa por gastrópodes vetores em ambientes propícios ao seu desenvolvimento.....	32
Figura 12 - Análise morfológica dos gastrópodes coletados.....	33
Figura 13 - Exposição dos gastrópodes ao estímulo luminoso, com o auxílio dos estereomicroscópios, para avaliação da liberação de cercárias.....	33
Figura 14 - Armazenamento dos gastrópodes. Microtubo com gastrópodes em álcool 70° e identificação para o armazenamento (a). Rack com vários espécimes coletados e armazenados em microtubos (b).....	34
Figura 15 - Mapa da distribuição da fasciolose bovina nos sete municípios do Planalto Serrano de SC avaliados no presente estudo. Prevalência encontrada nos bovinos	

analisados a campo, em propriedades aleatórias, de 2019 a 2021.....	37
Figura 16 – Mapa da distribuição do índice de positividade da fasciolose bovina de 2018 a 2021 de acordo com dados de três frigoríficos sob o Serviço de Inspeção Estadual em dezoito municípios do Planalto Serrano - SC.....	39
Figura 17 - Ambientes propícios ao desenvolvimento de gastrópodes vetores de <i>Fasciola hepatica</i> . Presença de água correntes com fluxo lento (a). Açude com a presença de matéria orgânica e de fácil acesso aos animais (b).....	40
Figura 18 - Presença de <i>Pseudosuccinea columella</i> . (a) Aderido à mangueira de polietileno. (b) Localizados entre as folhas de grimpã de Araucária. (c) Entre os vincos de um pedaço de madeira.....	41
Figura 19 - Concha com coloração marrom e presença de manchas da espécie <i>Pseudosuccinea columella</i> visualizados através do estereomicroscópio.....	42
Figura 20 - Presença de <i>Potamolithus</i> sp. aderidos às pedras.....	42
Figura 21 - Amostra fecal bovina positiva para fasciolose analisada por exame coproparasitológico de sedimentação, visualizada sob estereomicroscópio.....	44
Figura 22 - <i>Pseudosuccinea columella</i> coletados no município de Lages – SC.....	47
Figura 23 - <i>Potamolithus</i> sp. localizados em pedras de riachos com água corrente.....	48
Figura 24 - <i>Biomphalaria</i> sp. capturado em Lages-SC, no Planalto Serrano Catarinense.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Cálculo amostral baseado na população de bovídeos em sete municípios do Planalto Serrano.....	36
Tabela 2 - Prevalência da <i>Fasciola hepatica</i> através da pesquisa de ovos em amostras fecais de bovinos naturalmente infectados em municípios do Planalto Serrano Catarinense, entre 2019 e 2021.....	37
Tabela 3 - Prevalência da <i>Fasciola hepatica</i> em bovinos na linha de abate de três frigoríficos do Sistema de Inspeção Estadual em municípios do Planalto Serrano.....	38
Tabela 4 – Comparação entre a prevalência da fasciolose bovina <i>in vivo</i> com o índice de positividade <i>post mortem</i> nos municípios de Bocaina do Sul, Capão Alto, Lages, Painel e Urupema.....	40
Tabela 5 - Gastrópodes coletados e identificados morfológicamente, de municípios localizados no Planalto Serrano - SC.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAV	Centro de Ciências Agroveterinárias
CIDASC	Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina
Cfb	Clima Oceânico Temperado
EPAGRI	Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina
G	Gramas
GTA	Guia de Transporte Animal
LAPAR	Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias
Min	Minuto
MI	Mililitro
NEJ	Newly existed juvenile
OMS	Organização Mundial da Saúde
RPM	Rotações por minuto
SIE	Sistema de Inspeção Estadual
SIF	Sistema de Inspeção Federal
Sigen	Sistema de Gestão de Negócios
SISBOV	Sistema de Identificação e Certificação de Bovinos e Bubalinos
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1	HISTÓRICO	14
2.2	O PARASITO.....	15
2.3	CICLO BIOLÓGICO	16
2.4	EPIDEMIOLOGIA.....	18
2.5	FISIOPATOLOGIA E SINAIS CLÍNICOS	19
2.6	A DOENÇA NO SER HUMANO	21
2.7	DIAGNÓSTICO	22
2.8	TRATAMENTO E CONTROLE.....	22
3	OBJETIVOS.....	25
3.1	OBJETIVO GERAL.....	25
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
4	MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1	CARACTERIZAÇÃO LOCAL.....	26
4.2	AMOSTRAGEM FECAL DE RUMINANTES	27
4.3	PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	28
4.4	RETORNO AOS PARTICIPANTES.....	30
4.5	DADOS DE ABATEDOUROS FRIGORÍFICOS SOB SERVIÇO DE INSPEÇÃO ESTADUAL	31
4.6	RASTREABILIDADE INDIVIDUAL DOS ANIMAIS ANALISADOS	31
4.7	BUSCA ATIVA POR GASTRÓPODES VETORES	32
4.8	PRÉ-IDENTIFICAÇÃO E INDUÇÃO DE ELIMINAÇÃO DE CERCÁRIAS	32
4.9	IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DOS GASTRÓPODES.....	34
4.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
5	RESULTADOS.....	36
6	DISCUSSÃO	43
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	50
8	REFERÊNCIAS.....	51
9	ANEXOS	60

1 INTRODUÇÃO

Devido ao grande impacto gerado na saúde humana e animal, principalmente na bovinocultura, *F. hepatica* é relatada como um trematódeo de grande importância, sendo causador da fasciolose, uma das doenças parasitárias zoonóticas mais negligenciadas no mundo (MAS-COMA; BARGUES; VALERO, 2005; WHO, 2015; CALVANI; ŠLAPETA, 2020), integrando também a lista de doenças tropicais negligenciadas da Organização Mundial da Saúde (OMS), no grupo de trematodíases transmitidas por alimentos (WHO, 2015).

O parasito jovem localiza-se no parênquima hepático e o adulto no interior das vias biliares de animais de sangue quente, tais como ovinos, caprinos, bovinos, búfalos, suínos e seres humanos (MAS-COMA; BARGUES, 1997; CUERVO et al., 2015). *F. hepatica* apresenta um ciclo de vida indireto, envolvendo caramujos de água doce da família Lymnaeidae como hospedeiros intermediários (MAS-COMA; BARGUES, 1997).

Estima-se um impacto econômico anual superior a US\$ 3,2 bilhões na produção mundial de ruminantes somente por condenação hepática decorrente da fasciolose (MEHMOOD et al., 2017). No Brasil, foi calculado um potencial de perdas entorno de US\$ 210 milhões anuais somente com a fasciolose bovina (MOLENTO et al., 2018). Dentre os Estados com maiores perdas relacionadas à diminuição no peso da carcaça e condenação hepática, estão o Rio Grande do Sul, Espírito Santo e Santa Catarina, em ordem decrescente (MOLENTO et al., 2018).

A fasciolose é considerada uma parasitose endêmica na região Sul do Brasil (SILVA et al., 2020). O Estado de Santa Catarina está localizado na região Sul, e conta com um rebanho de mais de 4 milhões de cabeças de ruminantes (IBGE, 2019). A fasciolose é uma parasitose com alta incidência na faixa litorânea do Estado (BENNEMA et al., 2014; SERRA-FREIRE e NUERNBERG, 1992; SILVA, et al., 2020), devido a fatores climáticos que favorecem, principalmente, o desenvolvimento dos gastrópodes vetores, como as temperaturas amenas e alta umidade (FISS et al., 2012; BENNEMA et al., 2014; ALEIXO et al., 2015).

O Planalto Serrano Catarinense é composto por 18 municípios (IBGE, 1990) que possuem tradição agropecuária consolidada, principalmente na pecuária extensiva de ruminantes (PINTO et al., 2016). O clima serrano é classificado segundo

Köppen-Gelger como clima Cfb (Clima Oceânico Temperado) ou seja, temperado e constantemente úmido (RICKEN; HESS; BORSOI, 2018), e a tipologia vegetal é classificada como Floresta Ombrófila Mista (FORMENTO et al., 2004; GASPER et al., 2013), que favorece o desenvolvimento dos gastrópodes vetores. Há estudos que relatam condenação hepática por fasciolose em bovinos abatidos na região em frigoríficos sob inspeção federal, porém, não há nenhuma análise sobre a origem dos animais ou autoctonia dos casos (BENNEMA et al., 2014; DUTRA et al., 2010; SERRA-FREIRE e NUERNBERG, 1992; SILVA, et al., 2020).

Dada a importância da fasciolose, é fundamental avaliar a ocorrência da doença na população animal e identificar os ambientes infestados por caramujos vetores, antecipando a distribuição da doença e fornecendo subsídio para o delineamento de estratégias de controle. O objetivo do presente trabalho foi pesquisar a ocorrência e distribuição de casos autóctones de fasciolose bovina no Planalto Serrano, bem como investigar a presença dos caramujos vetores na região.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 HISTÓRICO

No século IX, no ano de 865, ocorreu o primeiro registo de *F. hepatica* no mundo, sendo descrita como uma “doença do fígado” no Tratado de Saúde Animal do Mundo Árabe (REZENDE, 1979). A primeira ilustração do parasito na forma adulta foi publicada em 1668 sob autoria de Francisco Redi, após encontrarem o verme do fígado em um bovino (HATSCHBACH, 1995).

Na Alemanha, em 1882, o ciclo de vida de *F. hepatica* foi descrito com a identificação do caramujo *Lymnea truncatula* como hospedeiro intermediário, bem como a descrição das formas larvais do trematódeo (LEUCKART, 1882). Um ano mais tarde, o mesmo caramujo foi identificado como vetor da fasciolose na Inglaterra (THOMAS, 1883).

Em 1918 ocorreu a primeira notificação da *F. hepatica* no Brasil, sendo encontrada em bovinos e ovinos infectados no Rio Grande do Sul (OLIVEIRA e RESENDE, 2017). Silva, et al. (1936), por meio de um estudo em abatedouros de bovinos no Rio de Janeiro entre 1927 e 1935, apontaram uma prevalência de 0,23% de animais infectados. Em ovinos, a fasciolose era conhecida como “podridão do fígado” e teve seus primeiros registros na França em 1939 (NELSON, 1991). Nos anos de 1946 e 1947, foram encontradas prevalências de 2,93% e 3,40%, respectivamente, através de uma avaliação de carcaças e vísceras condenadas de bovinos em matadouros do Brasil Central (RIBEIRO, 1949).

Corrêa (1965) avaliou o índice de infecção por *F. hepatica* em bovinos abatidos em frigoríficos no Rio Grande do Sul entre os anos de 1958 e 1963, obtendo um índice de positividade de animais infectados de 7,99%. Com o crescimento de relatos da parasitose, várias pesquisas foram realizadas para evidenciar a presença do trematódeo em diferentes estados do Brasil (BENNEMA et al., 2014; BERNARDO et al., 2011; DRACZ e LIMA, 2014; DUTRA et al., 2010; MOLENTO et al., 2018; SILVA, PEREIRA et al., 2020).

Em 1958, quarenta anos após os primeiros diagnósticos de fasciolose animal, foi detectado o primeiro caso de fasciolose humana em uma criança de três anos de idade em Campo Grande, no Estado do Mato Grosso do Sul (REY, 1991). No ano de 1965 foram publicados relatos sobre os sete primeiros casos de fasciolose humana

no Vale do Paraíba, em São Paulo, e posteriormente em 1967, mais um caso em Cornélio Procópio, no Estado do Paraná (CORRÊA; FLEURY, 1970).

Esta parasitose foi considerada de importância secundária até o final da década de 1980, com apenas 2000 casos mundiais relatados em seres humanos nos 25 anos anteriores a 1990 (WHO, 1990). Atualmente, a fasciolose humana é reconhecida como um problema negligenciado na saúde pública mundial e, em animais, como uma das parasitoses causadoras das maiores perdas econômicas, principalmente relacionadas a bovinocultura (MAS-COMA et al., 2005).

2.2 O PARASITO

F. hepatica pertence ao Reino Animalia, Filo Platyhelminthes, Classe Trematoda, Subclasse Digenea, Ordem Echinostomida, Família Fasciolidae (RAILLIET, 1895), Gênero e Espécie *F. hepatica* (LINNAEUS, 1758).

A forma adulta da *F. hepatica* possui cerca de 6 a 12 mm de largura e 20 a 40 mm de comprimento (OLAECHEA, 2004), corpo achatado em formato de folha (Figura 1), e na extremidade anterior possui duas ventosas, a oral e a ventral. A extremidade anterior do corpo possui formato mais pontiagudo se comparado com a porção posterior, que é mais arredondada. O tegumento é recoberto por espinhos que auxiliam na sua fixação nos ductos biliares (MAS-COMA; BARGUES, 1997).

O sistema nervoso é composto por um par de gânglios que emergem a partir da faringe, abaixo da ventosa oral. Já o sistema digestório é composto pela faringe, esôfago e ceco, que termina em um fundo cego (MAS-COMA; BARGUES, 1997).

Figura 1 – Morfologia externa de *Fasciola hepatica* adulta.



Fonte: Própria autora (2020).

Este parasito é hermafrodita (MAS-COMA; BARGUES, 1997; ELELU; EISLER, 2018; HOWELL; WILLIAMS, 2020) e os seus órgãos sexuais estão localizados na parte central do corpo do verme. O testículo é ramificado, a bolsa do cirro é bem visível, o ovário é dendrítico e pré-testicular. O útero é curto, espiralado e localizado entre o intestino e o ovário. Ao serem eliminados pelo parasito, os ovos (Figura 2) são operculados, de coloração típica amarelada e não embrionados (MAS-COMA; BARGUES, 1997; MAS-COMA; VALERO; BARGUES, 2019).

Figura 2 – Ovos operculados de *Fasciola hepatica* não embrionados.



Fonte: OLIVEIRA e FILHA (2009).

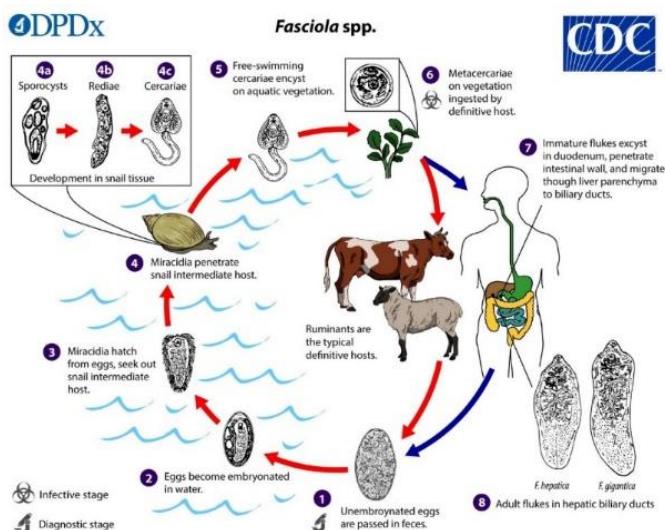
2.3 CICLO BIOLÓGICO

A fasciolose é uma doença zoonótica causada por duas espécies: *F. hepatica* e *F. gigantica*, que pertencem à subfamília Fasciolinae (MAS-COMA; VALERO; BARGUES, 2019). São transmitidos por caramujos da família Lymnaeidae de água doce (Filo Mollusca, Classe Gastropoda) (MAS-COMA; VALERO; BARGUES, 2009; MAS-COMA; BARGUES; VALERO, 2005). Em sua forma adulta, parasita os ductos biliares de diversas espécies de mamíferos (MAS COMA et al., 1988; MAS-COMA; BARGUES, 1997), domésticos e selvagens. Os ruminantes devido ao seu hábito de alimentação, participam de forma significativamente da epidemiologia da doença (MAS-COMA; BARGUES, 1997).

Há relatos de roedores natural e experimentalmente infectados (MAS COMA et al., 1988). Os seres humanos também são hospedeiros susceptíveis à parasitose, sendo a fasciolose um grave problema de saúde pública, principalmente nos países Andinos da América do Sul (TRAVERSA, 2007; ROBINSON; DALTON, 2009; ALEIXO et al., 2015; PRITSCH et al., 2019).

O ciclo de vida (Figura 3) dura em torno de 14 a 23 semanas, sendo necessários dois hospedeiros para que se complete (MAS-COMA; BARGUES, 1997; MAS-COMA; BARGUES; VALERO, 2005).

Figura 3 – Ciclo biológico de *Fasciola hepatica*.



Fonte: Adaptado de Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2019).

De modo geral, no interior de seus hospedeiros definitivos, *F. hepatica* adulta se adere aos ductos biliares onde se alimenta de tecido e sangue. É nesse local que inicia a produção de ovos que se acumulam na vesícula biliar e são enviados ao intestino por meio da excreção da bile, sendo posteriormente eliminados no ambiente juntamente ao bolo fecal (MAS-COMA; BARGUES, 1997; ROBINSON; DALTON, 2009).

No ambiente, os ovos se desenvolvem em água doce e em condições climáticas favoráveis (BEESLEY et al., 2017). Em temperaturas, entre 15 e 25°C, o ovo leva cerca de 9 a 21 dias para completar o seu desenvolvimento larval, marcado pela formação do miracídio. Caso as condições ambientais não sejam adequadas, o embrião não se desenvolve, mas os ovos permanecem viáveis por vários meses (MAS-COMA; VALERO; BARGUES, 2019).

Sob estímulo luminoso e de temperatura, o miracídio eclode e nada rapidamente em busca do caramujo hospedeiro intermediário (WHO, 1990; CARAVEDO; CABADA, 2020). O miracídio penetra no gastrópode e em seu interior passa por mais três fases larvais: o miracídio gera um esporocisto, que vai dar origem a várias rédias, que por sua vez formarão diversas cercárias. Também sob estímulo

de luz e temperatura, estas cercárias deixam o corpo dos caramujos e nadam até a vegetação mais próxima da margem da coleção de água, perdendo suas caudas e eliminando substâncias cistogênicas de grânulos dorsais, encistando-se na forma de metacercárias, a fase infectante do parasito. Um único miracídio tem a capacidade de se multiplicar expressivamente nos caramujos vetores, gerando centenas de formas infectantes e contaminando o ambiente de maneira muito eficiente (MAS-COMA; BARGUES, 1997; ROBINSON; DALTON, 2009; MAS-COMA; VALERO; BARGUES, 2019).

Os hospedeiros definitivos se infectam pela ingestão das metacercárias que contaminam a vegetação. Depois de passar pelo suco gástrico, a jovem *F. hepatica* excistada, ou NEJ (*Newly existed juvenile*), penetra no duodeno, atinge a cavidade abdominal e migra em direção ao fígado. No fígado, as NEJs migram durante cinco a seis semanas, até finalmente penetrarem nos ductos biliares e terminarem seu desenvolvimento até a fase adulta e sexualmente madura, iniciando então a produção de ovos. O período pré-patente dura em média dois meses, porém esse período pode variar de acordo com o hospedeiro e o número de helmintos adultos no fígado (MAS-COMA; BARGUES, 1997; WHO, 1990; MAS-COMA; BARGUES; VALERO, 2005; WEBB; CABADA, 2018; MAS-COMA; VALERO; BARGUES, 2019; HOWELL; WILLIAMS, 2020)

2.4 EPIDEMIOLOGIA

F. hepatica está presente em cinco continentes do mundo, estando ausente somente na Antártida (MAS-COMA; VALERO; BARGUES, 2019), e continua em expansão geográfica, com relatos de novas regiões endêmicas na Ásia, África e Oriente Médio (Al, et al., 2017; BADIRZADEH e SABZEVARI, 2017). As áreas de distribuição do parasito são principalmente em zonas de clima temperado e subtropical (MAS-COMA; BARGUES, 1997).

A fasciolose afeta significativamente os animais de produção, causando perdas consideráveis para a indústria e aos produtores rurais de países desenvolvidos e em desenvolvimento (MEHMOOD et al., 2017). É importante também ressaltar a correlação entre a fasciolose humana e animal em áreas endêmicas, influenciando diretamente na epidemiologia da doença (MAS-COMA; VALERO; BARGUES, 2019)

No Brasil, a prevalência de fasciolose é considerada baixa, entretanto, a doença é considerada endêmica em algumas regiões (BENNEMA et al., 2014; SILVA e SANTOS, 2016) e representa um sério problema econômico (MOLENTO et al., 2018).

Dados de 2003 a 2008 demonstraram que os Estados do Rio Grande do Sul (RS) e Santa Catarina (SC) apresentavam as maiores incidências de condenação hepática no Sistema de Inspeção Federal (SIF) devido a parasitose, apresentando taxas de condenação de 18,66% e 10,14%, respectivamente. As áreas de alto risco identificadas se tornaram alvo para a elaboração de estratégias de controle visando a diminuição das perdas econômicas na pecuária e a vigilância para potencial risco de infecção humana (DUTRA et al., 2010).

Foram coletados dados de abatedouros frigoríficos, sob o SIF, contendo informações de 1.032 municípios localizados nos estados de Goiás, Pará, Espírito Santo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, São Paulo e Santa Catarina sendo contabilizado nos 11 estados, casos de fígados condenados devido a presença de *F. hepatica* (BENNEMA et al., 2014).

Em um estudo realizado por Silva et al.,(2020) entre 2004 e 2008, bem como no ano de 2010, no estado de SC, revelou-se que dos 293 municípios analisados 198 (68%) apresentaram positividade para fasciolose em dados de abatedouros do SIF. No sul do Estado do Espírito Santo, conforme os dados fornecidos de abatedouros do SIF e Sistema de Inspeção Estadual (SIE), pode-se relatar que a região apresentou alta prevalência da parasitose (FREITAS et al., 2014). Atualmente os Estados com maiores perdas econômicas relacionadas à condenação hepática e diminuição no peso da carcaça são o Rio Grande do Sul, Espírito Santo e Santa Catarina, em ordem decrescente (MOLENTO et al., 2018).

2.5 FISIOPATOLOGIA E SINAIS CLÍNICOS

F. hepatica possui grande poder de imunomodulação no hospedeiro definitivo, secretando em seu processo de migração e fixação catepsina L que auxilia na penetração do parasito no hospedeiro, ajuda na sua alimentação, bem como sua evasão do sistema imunológico (ORTIZ et al., 2000; DALTON et al., 2003).

Além disso, para o diagnóstico de algumas doenças é necessário a detecção da resposta imunológica do hospedeiro como é o caso da tuberculose bovina causada por *Mycobacterium* sp.. Para sua detecção *ante mortem*, o exame mais utilizado é o teste intradérmico da tuberculina, que utiliza derivados proteicos purificados (PPD) de *M. bovis*, que é capaz de induzir uma resposta de hipersensibilidade no local da inoculação quando o hospedeiro está infectado. O parasito *F. hepatica* é capaz de reduzir a expressão de citocinas pró-inflamatórias no hospedeiro infectado (CLARIDGE et al., 2012). Com isso, hospedeiros co-infectados por *F. hepatica* e *M. bovis* podem apresentar um resultado falso-negativo de tuberculose, devido à forte capacidade imunomodulatória do parasito, comprometendo o controle desta importante zoonose (CLARIDGE et al., 2012; NARANJO et al., 2017; BYRNE et al., 2019).

O quadro clínico está diretamente relacionado à quantidade de metacercárias ingeridas e, conseqüentemente, ao total de helmintos no fígado e ductos biliares (Figura 4). Quando a NEJ passa pela parede intestinal, pode causar hemorragias focais e inflamação local, além de poder carregar bactérias patogênicas ao tecido hepático, levando a um quadro de septicemia (DALTON et al., 2013).

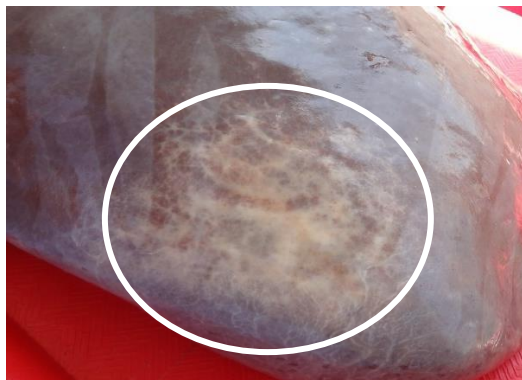
As lesões geradas pela migração das NEJs podem ser observadas no fígado a olho nu ou através de cortes histológicos (MAS-COMA; BARGUES, 1997). Os parasitos jovens também podem morrer no processo de migração, agravando as lesões geradas no parênquima hepático devido a sua migração, sendo, posteriormente, substituídas por tecido cicatricial (Figura 5) (SMITHERS, 1982).

Figura 4 - Imagem de fígado bovino analisado *post mortem* cujo ducto biliar se encontra bastante espessado, sugerindo parasitismo por vermes adultos de *Fasciola hepatica*.



Fonte: Própria autora (2021).

Figura 5 – Imagem de fígado bovino analisado *post mortem* com lesões cicatriciais causadas pelo processo de migração dos parasitos jovens de *Fasciola hepatica*.



Fonte: CHRYSSAFIDIS, A.L. (2014).

Na maioria dos casos, a fasciolose é assintomática, porém, dependendo do grau de parasitismo, o hospedeiro definitivo pode manifestar sinal clínico. Entre os sinais mais frequentes estão: anorexia, náusea, diarreia, perda do apetite, pelos opacos, apatia, dor abdominal e icterícia (SILES-LUCAS et al., 2020).

2.6 A DOENÇA NO SER HUMANO

A fasciolose é considerada uma importante doença parasitária zoonótica transmitida por alimentos, porém, ainda bastante negligenciada (MAS-COMA et al. 1997; WHO, 2015). Casos humanos foram relatados em diversos países da Europa, América, Ásia e África (CHE; MOTT, 1990). Supõe-se que o tempo de vida do parasito dentro do ser humano, sem tratamento, possa ser de 9 a 13 anos (MAS-COMA; BARGUES, 1997).

Os sintomas da fasciolose não são patognomônicos, e na maior parte dos casos a infecção é assintomática ou oligossintomática. Portanto, o diagnóstico é muitas vezes impreciso, contribuindo para a falta de informações sobre a fasciolose humana em diferentes localidades e à subnotificação da doença (MAS-COMA; BARGUES, 1997; PRITSCH et al., 2019).

O aumento do número de relatos em humanos pode ser justificado pelo melhor atendimento dos profissionais de saúde e o diagnóstico da doença, principalmente em áreas endêmicas (MAS-COMA, 2005). A infecção de humanos é determinada por alguns fatores como: condições climáticas adequadas, presença dos caramujos

hospedeiros intermediários no ambiente, presença de fasciolose animal na região e hábito alimentar (MAS-COMA; BARGUES, 1997). Para prevenir casos de fasciolose em humanos, o controle de gastrópodes no cultivo de plantas aquáticas é fundamental, como por exemplo o agrião, pois estes vegetais podem estar contaminados por metacercárias e estão relacionados à infecção humana em zonas endêmicas (MAS-COMA, 2005).

2.7 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico de fasciolose geralmente é baseado na detecção de ovos de *F. hepatica* nas fezes ou anticorpos específicos de *F. hepatica* no soro (CHARLIER et al., 2008). O exame coproparasitológico é um dos métodos mais utilizados, porém, outras técnicas vêm sendo desenvolvidos para a detecção da parasitose em sua fase aguda e pré-patente, nas quais não encontramos ovos nas fezes devido à ausência de helmintos adultos (MAS-COMA; BARGUES, 1997; CARAVEDO; CABADA, 2020).

O diagnóstico sorológico pode ser utilizado mesmo quando a quantidade de ovos nas fezes é muito baixa ou o animal ainda está em fase pré-patente, pois detecta Imunoglobulina G (IgG) anti-*F. hepatica* no soro do hospedeiro (GRAHAM-BROWN et al., 2019; CARAVEDO; CABADA, 2020). Entretanto, os níveis sorológicos de IgG podem persistir por longos períodos, mesmo após o tratamento do animal, impossibilitando a diferenciação de uma infecção ativa ou inativa (SÁNCHEZ-ANDRADE et al., 2002). Dentre as técnicas disponíveis atualmente, o teste imunoenzimático indireto (ELISA) está sendo utilizado de maneira mais frequente, e é indicado para estudos epidemiológicos (O'NEILL et al., 1998; MAS-COMA, 2005; CALVANI et al., 2018).

A detecção de coproantígenos através do ELISA, também pode ser utilizada para detectar hospedeiros infectados (GORDON et al., 2012). Essa técnica possibilita a detecção de fasciolose de maneira mais precoce em comparação ao exame coproparasitológico (BERNARDO et al., 2012).

2.8 TRATAMENTO E CONTROLE

O triclabendazol é a principal molécula utilizada mundialmente em ruminantes para controle da fasciolose (KELLEY et al., 2016). Foi introduzido na década de 80

como uma droga para controle da forma aguda e crônica da doença, possuindo eficácia contra os helmintos adultos e NEJs (FAIRWEATHER; BORAY, 1999). Entre os anos de 1995 e 2016 foram avaliadas a ocorrência de resistência ao triclabendazol em humanos, bovinos e ovinos (KELLEY et al., 2016). Em diversos países há resistência a medicação, como: Argentina (OLAECHEA et al., 2011), Peru (CABADA et al., 2016), Chile (GIL et al., 2014), Espanha (ÁLVAREZ-SÁNCHEZ et al., 2006), Irlanda (HANNA et al., 2015), Austrália (OVEREND; BOWEN, 1995), Nova Zelândia (HASSELL; CHAPMAN, 2012), Holanda (WINKELHAGEN et al., 2012), Gales (DANIEL et al., 2012), Turquia (BELGIN et al., 2015) e Escócia (GORDON et al., 2012a).

Outros medicamentos anti-helmínticos podem ser administrados para o tratamento, como: closantel, albendazol e nitroxinil (SILES-LUCAS et al., 2020), porém, esses princípios ativos atuam em somente uma das fases de vida do parasito: fase adulta (Albendazol e Nitroxinil) e fase imatura (Closantel) (KELLEY et al., 2016). Esse fator diminui a eficácia do tratamento de acordo com o período de infecção do hospedeiro pelo parasito (KELLEY et al., 2016).

Além do diagnóstico e tratamento dos hospedeiros com fasciolose, ações sobre o ambiente são essenciais no controle da doença, ressaltando-se que a imunidade natural gerada pela infecção comumente não é suficiente para proteger o animal de novas infecções (MOLINA-HERNÁNDEZ et al., 2015). O isolamento de áreas com presença de caramujos e potencial contaminação, como riachos e locais alagados, bem como a instalação de caixas d'água em locais estratégicos, evita a infecção ou reinfecção dos animais (BORAY, 1982; MAS-COMA, 2005; CHARLIER et al., 2008).

O controle dos gastrópodes vetores com agentes químicos pode gerar graves problemas ambientais e, devido a isso, o controle biológico é empregado de forma mais eficiente com introdução de predadores como (aves anseriformes e peixes) que, através da ingestão dos gastrópodes, contribuem diretamente para o controle ambiental (MALEK, 1985; ADAMS, 2018; ALEIXO et al., 2015).

Ainda mais, o trânsito animal pode ser um fator que contribui diretamente para a disseminação da parasitose para novos locais. Para a prevenção, estratégias de controle relacionadas ao transporte animal devem ser consideradas pelos órgãos competentes a fim de evitar a contaminação de áreas livres da parasitose (FREITAS et al., 2014).

As medidas de controle devem focar na prevenção à ocorrência da parasitose, e todas as ações devem ser avaliadas de acordo com a localização, condições topográficas e meteorológicas da região, objetivo e manejo da propriedade (MAS-COMA; BARGUES, 1997).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a ocorrência e distribuição da fasciolose bovina e de gastrópodes vetores de *F. hepatica* na região do Planalto Serrano Catarinense.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificar animais positivos para *F. hepatica* por meio da análise coproparasitológica por sedimentação;

Verificar a distribuição geográfica de *F. hepatica* em animais *in vivo*;

Analisar os dados de bovinos com condenação hepática por fasciolose em três abatedouros do Sistema de Inspeção Estadual de SC;

Rastrear individualmente os animais positivos *in vivo* e *post mortem* em busca de casos autóctones do Planalto Serrano;

Avaliar a concordância entre os resultados de prevalência (*in vivo*) e índice de positividade (*post mortem*);

Descrever o ambiente propício para a presença e captura de gastrópodes vetores;

Examinar a liberação de cercárias pelos gastrópodes coletados quando submetidos a estímulo luminoso;

Caracterizar morfológicamente os espécimes de gastrópodes encontrados em propriedades rurais do Planalto Serrano Catarinense.

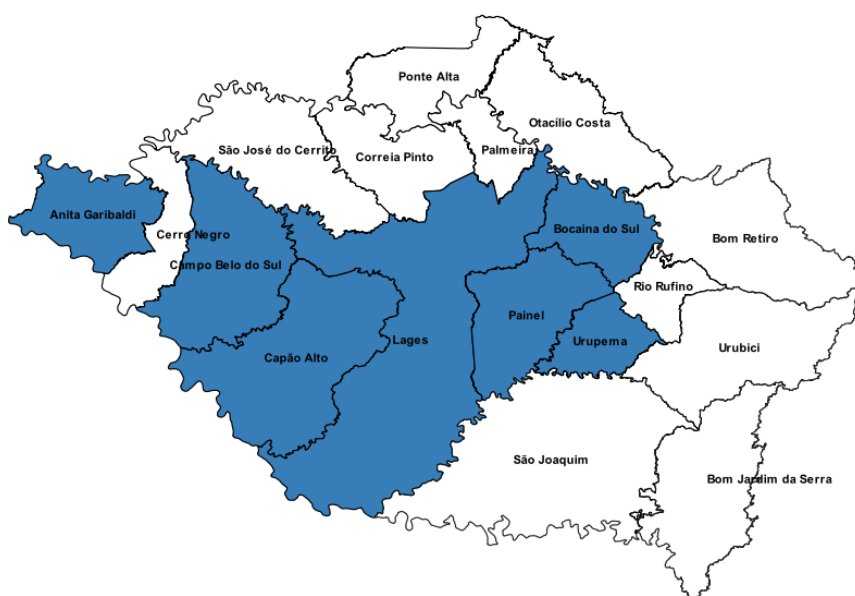
4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os protocolos utilizados foram aprovados pelo comitê de ética no uso de animais (protocolo CEUA N° 5381070619).

4.1 CARACTERIZAÇÃO LOCAL

A região do Planalto Serrano é composta de 18 municípios (IBGE, 1990). Os municípios designados para a amostragem foram selecionados de acordo a sua localização geográfica, bem como a disponibilidade e flexibilidade de acesso aos produtores devido às diretrizes impostas pela pandemia de Covid-19, abrangendo a parte central e a extremidade oeste do Planalto. Assim, foram incluídos no projeto os municípios de Anita Garibaldi, Campo Belo do Sul, Capão Alto, Bocaina do Sul, Lages, Paineel e Urupema (Figura 6). Ao final das coletas foi aplicado um questionário para compreender se os produtores já possuíam conhecimento anterior sobre *F. hepatica* na região.

Figura 6 - Municípios amostrados na região do Planalto Serrano Catarinense para a coleta de amostras de fezes de animais *in vivo*.



Fonte: Própria autora (2021).

4.2 AMOSTRAGEM FECAL DE RUMINANTES

O número total de ruminantes e de produtores por município do Planalto Serrano Catarinense foram gentilmente fornecidos pela Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (CIDASC). O tamanho da amostra de bovinos por município foi calculado de acordo com a análise de estimativa de prevalência de amostragem aleatória simples (OPS, 2011) com a prevalência esperada em Santa Catarina de 4,5% (BENNEMA et al., 2014) e erro amostral de 5%.

$$n = \frac{1,96^2 P_{esp}(1 - P_{esp})}{d^2}$$

Posteriormente foi aplicado o cálculo de correção para populações finitas, para a obtenção do tamanho da amostra ajustada.

$$n_{ajus} = \frac{N * n}{N + n}$$

Para a coleta de amostras e diagnóstico da infecção por *F. hepatica* foram amostrados bovinos dos sete municípios do Planalto Serrano entre o mês de agosto de 2019 e fevereiro de 2021.

Foram amostrados bovinos com idade superior a 12 meses, sendo selecionados aleatoriamente nas propriedades incluídas no estudo (Figura 7). Em cada propriedade foram amostrados aproximadamente 20 animais. As coletas eram realizadas diretamente da ampola retal com o auxílio de luvas longas de palpação e sacos plásticos de polietileno transparentes (10x30 cm), para o armazenamento das amostras após a coleta.

Figura 7 - Procedimento de coleta de amostra intra-retal de animais a campo



Fonte: Própria autora (2020).

Na ficha de controle de campo (Figura 8), cada animal foi identificado de acordo com a numeração sequencial estabelecida pelo projeto, número do brinco oficial do Estado e se havia ou não a presença de sinais clínicos evidentes ou alterações na consistência (líquida, semilíquida ou presença de muco) e coloração das fezes (negra, verde brilhante ou sanguinolenta).

Figura 8 - Anotação dos dados individuais dos bovinos amostrados na ficha de controle de campo do projeto de pesquisa.



Fonte: Própria autora (2021).

Após a coleta, as amostras foram armazenadas em uma caixa térmica e transportadas até o Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias (LAPAR) da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) onde foram refrigeradas (4°C) e armazenadas até o momento de seu processamento.

4.3 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

Para o processamento das amostras no laboratório, todo material utilizado foi previamente identificado de acordo com a numeração sequencial específica de cada amostra. Todas as propriedades, além da ficha de campo, possuíam sua ficha de identificação específica de acordo com procedimento operacional padrão do LAPAR (Anexo I), sendo nesta descrita cada etapa executada em cada amostra coletada, e

quem realizou tal procedimento. Essa ficha era de extrema importância para a padronização do exame laboratorial visando a não divergência na realização da técnica, independente do processador.

Para a análise coproparasitológica, a técnica utilizada foi o exame de sedimentação adaptado (HOFFMAN; PONS; JANER, 1934). O exame de sedimentação é caracterizado por uma baixa sensibilidade (CHARLIER et al., 2008), assim, visando aumentá-la, é recomendada a utilização do dobro da quantidade de fezes descrita no protocolo original (CALVANI et al., 2018). Com isso, buscou-se otimizar o desempenho do teste empregado, reduzindo a ocorrência de falsos negativos.

O exame coproparasitológico consistia primeiramente no uso da coluna graduada de polietileno de 250 ml, sendo adicionados 84 ml de água comum, e posteriormente, com o auxílio de uma espátula de inox foram adicionados à coluna aproximadamente 6 g de fezes, correspondendo ao volume total no tubo de 90 ml. Com o auxílio de um bastão de vidro, o conteúdo foi fortemente homogeneizado e transferido a um copo plástico descartável através de uma peneira de chá. O conteúdo resultante foi transferido a um frasco cônico de 500 ml, sendo a adicionada água até o volume de 400ml. O material utilizado está representado na Figura 9.

Figura 9 - Materiais utilizados no exame coproparasitológico de sedimentação.

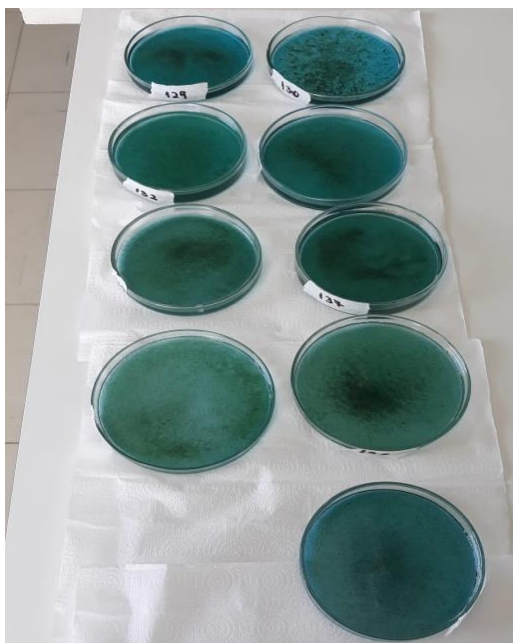


Fonte: Própria autora (2020).

O material foi deixado durante 10 min em processo de sedimentação, sendo o sobrenadante descartado com um movimento lento, único e preciso. Este procedimento de lavagem e sedimentação foi realizado duas vezes.

Após a segunda lavagem e descarte do sobrenadante, três gotas de azul de metileno 1% (JAPA; SIRIWECHVIRIYA; PRAKHAMMIN, 2020), eram adicionadas ao sedimento, que então, era dividido entre duas placas de Petri, sendo todo o conteúdo analisado sob estereomicroscópio (Stremi 508, Zeiss), buscando detectar os ovos de *F. hepatica* (Figura 10). Caso houvesse dúvida, a confirmação morfológica do ovo era realizada em microscópio óptico (Nikon, Eclipse E200) em aumento de 100x, para melhor visualização das suas características, aumentando a confiabilidade do diagnóstico.

Figura 10 - Sedimento resultante do exame coproparasitológico de sedimentação, corado com azul de metileno 1% para a leitura.



Fonte: Própria autora (2020).

4.4 RETORNO AOS PARTICIPANTES

Após o diagnóstico laboratorial, realizava-se a emissão de um laudo com os resultados individuais dos animais testados, além de recomendações para o seu tratamento. Os produtores rurais participantes do projeto receberam este laudo, bem como uma explicação detalhada sobre o ciclo biológico do helminto, sua importância

para a saúde animal, humana e impacto econômico. Também havia informações sobre manejo animal e profilaxia da doença. O envio do laudo era realizado através de aplicativo de mensagens, e-mail ou entrega de cópia impressa ao produtor. Caso houvesse alguma dúvida, os esclarecimentos eram realizados por meio de ligações telefônicas ou aplicativo de mensagens.

4.5 DADOS DE ABATEDOUROS FRIGORÍFICOS SOB SERVIÇO DE INSPEÇÃO ESTADUAL

Para a elaboração de uma análise comparativa do diagnóstico de animais *in vivo* e condenação hepática em frigoríficos, foram obtidos relatórios da Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (CIDASC) com dados do número total de bovinos abatidos na região e o número de fígados condenados por fasciolose entre junho de 2018 e julho de 2021.

Os dados analisados são oriundos de três frigoríficos sob o Serviço de Inspeção Estadual localizados nos municípios de Lages, Otacílio Costa e São Joaquim. Esses frigoríficos recebem animais dos municípios das Mesorregiões Serrana, Sul, Oeste e do Vale do Itajaí. No estudo foram analisados somente os dados dos 18 municípios que representam o Planalto Serrano Catarinense.

4.6 RASTREABILIDADE INDIVIDUAL DOS ANIMAIS ANALISADOS

Para a confirmação de casos originários da Mesorregião Serrana, todos os números de identificação (brincos) dos animais amostrados a campo e dos animais que tiveram fígado condenado por fasciolose foram pesquisados no Sistema de Identificação e Certificação de Bovinos e Bubalinos (SISBOV) do Sistema de Gestão da Defesa Agropecuária Catarinense (SIGEN).

Foi investigado o histórico completo do animal, desde o nascimento até o momento da coleta ou abate, para a avaliação da origem e movimentação dos animais. Casos autóctones eram contabilizados quando o bovino infectado não tivesse transitado em nenhum município fora da Mesorregião Serrana.

4.7 BUSCA ATIVA POR GASTRÓPODES VETORES

Para a busca ativa por gastrópodes, diferentes substratos presentes em coleções de água eram analisados visualmente, como pedras, galhos de árvore, grimpas de araucária, lama e vegetação (Figura 11). Os gastrópodes, quando localizados, foram retirados do seu local de fixação com o auxílio de pinças anatômicas. Os caramujos foram armazenados em potes de polipropileno transparentes de 80 ml e com tampa de rosca.

Figura 11 - Busca ativa por gastrópodes vetores em ambientes propícios ao seu desenvolvimento.



Fonte: Própria autora (2020).

Para a manutenção do bem-estar dos gastrópodes, dentro dos respectivos potes, era adicionado água específica do local coletado até o volume de aproximadamente 40ml, bem como pequenos pedaços de material orgânico como folhas e madeiras.

4.8 PRÉ-IDENTIFICAÇÃO E INDUÇÃO DE ELIMINAÇÃO DE CERCÁRIAS

Após a coleta, os caramujos foram analisados e separados de acordo com suas características morfológicas básicas, como coloração, tamanho e formato da concha (Figura 12).

Figura 12 - Análise morfológica dos gastrópodes coletados.



Fonte: Própria autora (2020).

Para avaliação da liberação de cercárias, os caramujos eram colocados em saquinhos plásticos transparentes com água destilada a uma temperatura de aproximadamente 31°C. Com o auxílio de estereomicroscópios (Figura 13), os moluscos foram submetidos a luz incandescente por 30 minutos, com verificações visuais a cada 5 minutos.

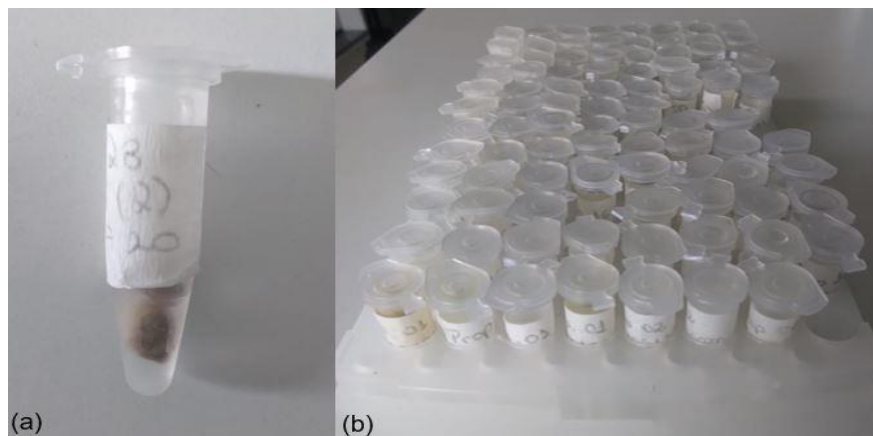
Figura 13 - Exposição dos gastrópodes ao estímulo luminoso com o auxílio dos estereomicroscópios para avaliação da liberação de cercárias.



Fonte: Própria autora (2020).

Após o ensaio, os caramujos foram inseridos em microtubos de 1,5 ml contendo álcool 70% e congelados a -20 °C. Cada microtubo foi identificado de acordo com a data, número sequencial da propriedade e o meio em que foi armazenado (Figura 14).

Figura 14 - Armazenamento dos gastrópodes. Microtubo com gastrópodes em álcool 70° e identificação para o armazenamento (a). Rack com vários espécimes coletados e armazenados em microtubos (b).



Fonte: Própria autora (2021).

4.9 IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DOS GASTRÓPODES

A análise morfológica dos espécimes coletados foi realizada utilizando estereomicroscópio e microscópio, de acordo com informações de literatura e chaves pictóricas malacológicas (AGUDO-PADRÓN, 2008; CARVALHO, 2014). Os gastrópodes foram analisados de acordo com suas características morfológicas, como espessura do lábio externo (grosso ou fino), coloração da concha (escura ou clara, presença de manchas) e seu sentido de rotação (dextrógiro ou sinistrógiro, horário ou anti-horário), além do formato e presença de linha nos tentáculos e suas características (presença ou não de linhas).

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados do projeto foram armazenados e organizados em planilhas no Microsoft Excel® 2013 para posterior análise e comparação das respectivas propriedades coletadas, bem como avaliação dos ensaios realizados.

A análise dos dados de coletas a campo e do frigorífico do SIE foram analisados separadamente. A prevalência (P) da fasciolose bovina *in vivo* e o índice de positividade (IP) foram calculados de acordo com o número de animais ou fígados positivos (AI), em relação ao número de animais amostrados ou abatidos do mesmo município (AA), conforme a seguinte fórmula:

$$P/IP = \frac{AI}{AA} \times 100$$

Os resultados foram expressos em percentual (prevalência e índice de positividade) com intervalo de confiança (IC) de 95%.

Nos municípios que apresentaram respectivamente dados de animais positivos e negativos *in vivo* e *post mortem*, foi aplicado o teste qui-quadrado (X^2) de *Pearson* e o teste exato de *Fisher* para analisar a concordância entre as duas variáveis. Os resultados dos testes foram declarados com diferença significativa quando o valor de p foi $<0,05$. Todas as análises foram realizadas com auxílio do software estatístico R (versão 3.6.3, CORE TEAM, 2018).

Para determinação da potencial perda econômica gerada pela fasciolose bovina nos municípios avaliados, os dados obtidos no estudo foram extrapolados de acordo com o rebanho total de cada município. As perdas foram calculadas baseadas em US\$ 56,6 dólares por animal positivo para *F. hepatica* (MOLENTO et al., 2018).

Mapas representativos da prevalência e índice de positividade de cada município foram produzidos com o software QGIS 3.20 (Geographic Information System), sendo os resultados subdivididos em grupos de baixa (0,1-5,0%), média (5,1-10,0%) e alta ($>10,1\%$) positividade (GUIMARÃES et al., 2013). Para a elaboração das tabelas apresentadas, foi utilizado o software Microsoft Excel 2013.

5 RESULTADOS

Foram visitadas 102 propriedades de bovinos provenientes de sete municípios do Planalto Serrano Catarinense. De acordo com a metodologia descrita na seção 4.2, o tamanho da amostra para população infinita foi de $n = 66,037104$, dada a prevalência regional de fasciolose bovina de 4,5%, descrita em literatura (BENNEMA et al., 2014). O n ajustado de acordo com a população foi o mesmo, e se encontra descrito na Tabela 1. A amostragem mínima foi extrapolada na maior parte dos municípios incluídos neste projeto (Tabela 1).

Tabela 1. Cálculo amostral baseado na população de bovídeos em sete municípios do Planalto Serrano .

Municípios	População de Bovídeos do Planalto Serrano	n -ajustado	n coletado
Anita Garibaldi	40100	66	216
Bocaina do Sul	21324	66	34*
Campo Belo do Sul	35966	66	20*
Capão Alto	40325	66	284
Lages	112895	66	466
Painel	44655	66	423
Urupema	23781	66	394

n : número amostral. * O número mínimo amostral não foi alcançado.

Fonte: Própria autora (2022).

No total, 1.837 bovinos foram testados através do exame coproparasitológico de sedimentação, destes, 178 foram positivos autóctones, com prevalência geral de 9,7% (178/1.837). Os municípios que apresentaram elevada prevalência (>10.1%) foram: Painel (24,3%; 103/423) e Capão Alto (11,2%; 32/284); e prevalência média: Lages (7.51%; 35/466) e Bocaina do Sul (5,88% 2/34) (Tabela 2) (Figura 15).

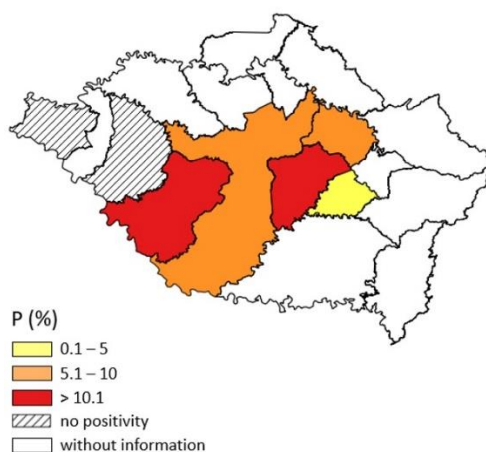
Tabela 2. Prevalência da *Fasciola hepatica* por meio da pesquisa de ovos em amostras fecais de bovinos naturalmente infectados em municípios do Planalto Serrano Catarinense, entre 2019 e 2021.

Município	Animais amostrados (N)	Animais positivos (N)	Prevalência (%)	IC 95%
Anita Garibaldi	216	0	0,00	-
Bocaina do Sul	34*	2	5,88	[1,48-20,68]
Campo Belo do Sul	20*	0	0,00	-
Capão Alto	284	32	11,27	[8,08-15,50]
Lages	466	35	7,51	[5,44-10,28]
Painel	423	103	24,35	[20,50-28,67]
Urupema	394	6	1,52	[0,69-3,35]
Total	1837	178	9,69	[8,42-11,13]

IC: Intervalo de Confiança. * O número mínimo amostral não foi alcançado.

Fonte: Própria autora (2021).

Figura 15 – Mapa da distribuição da fasciolose bovina nos sete municípios do Planalto Serrano de SC avaliados no presente estudo. Prevalência encontrada nos bovinos analisados a campo, em propriedades aleatórias, de 2019 a 2021.



Fonte: Própria autora (2021).

Foi possível analisar através do questionário aplicado aos produtores a campo que 40,2% (39/97) dos pecuaristas da região não apresentavam conhecimento prévio sobre *F. hepatica* ou fasciolose bovina. Outro ponto a ser ressaltado é o tipo de criação dos bovinos presentes na região, sendo observado que a maioria dos produtores cria

seus animais de modo extensivo, com as principais fontes de água dos animais em rios, riachos, nascentes e açudes.

Na hipótese de que estes ruminantes permanecessem parasitados até o encaminhamento ao abatedouro, as perdas decorrentes ao não diagnóstico precoce acarretariam consequente na diminuição do peso da carcaça e condenação hepática, calculando-se um prejuízo final entorno de US\$ 1 milhão de dólares em um período de três anos, baseada em US\$ 56,6 dólares por animal positivo (MOLENTO et al., 2018).

Com base nos dados dos três frigoríficos de Inspeção Estadual localizados no Planalto Serrano Catarinense, 9.826 bovinos foram abatidos entre o período de junho de 2018 e julho de 2021, com 1.625 animais com fígados condenados devido a presença do parasito e lesões geradas pela fasciolose. Dos 18 municípios incluídos no estudo, 17 deles apresentaram positividade (Tabela 3). Foram contabilizados apenas animais que transitaram nos municípios da Mesorregião Serrana, caracterizando assim todos os animais positivos como autóctones.

Tabela 3. Índice de positividade da *Fasciola hepatica* em bovinos na linha de abate de três frigoríficos do Sistema de Inspeção Estadual em municípios do Planalto Serrano.

Município	Animais amostrados (N)	Animais positivos (N)	Índice de Positividade (%)	IC 95%
Anita Garibaldi	46	1	2,17	[0,31-13,88]
Bocaina do Sul	61	40	65,57	[52,90-76,36]
Bom Jardim da Serra	137	3	2,19	[0,71-6,57]
Bom Retiro	134	3	2,24	[0,72-6,71]
Campo Belo do Sul	101	3	2,97	[0,96-8,81]
Capão Alto	641	93	14,51	[11,99-17,45]
Cerro Negro	27	6	22,22	[10,34-41,45]
Correia Pinto	1088	188	17,28	[15,15-19,64]
Lages	1917	357	18,62	[16,94-20,43]
Otacílio Costa	956	181	18,93	[16,57-21,54]
Painel	325	133	40,92	[35,70-46,36]
Palmeira	693	194	27,99	[24,78-31,46]
Ponte Alta	569	182	31,99	[28,28-35,93]
Rio Rufino	8	0	0,00	-
São Joaquim	1632	67	4,11	[3,24-5,18]
São José do Cerrito	1379	164	11,89	[10,29-13,71]

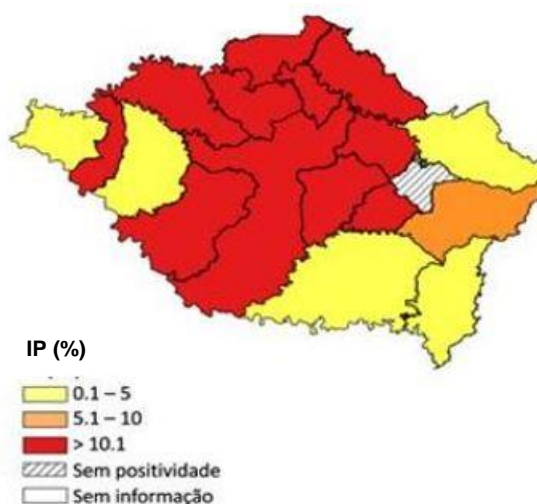
Urubici	100	6	6,00	[2,72-12,72]
Urupema	12	4	33,33	[13,09-62,41]
Total	9.826	1.625	16,58	[3,57-51,63]

IC: Intervalo de Confiança.

Fonte: Própria autora (2021).

Na análise dos dados dos frigoríficos foi verificado que o IP geral dos 17 municípios com animais infectados foi de 16,5% (1.625/9.826) na região serrana. Os municípios que apresentaram alto índice de positividade (>10.1%) (em vermelho, Figura 16) foram Bocaina do Sul (65,5% 40/61), Paineira (40,9% 133/325), Urupema (33,3% 4/12), Ponte Alta (31,9% 182/569), Palmeira (27,9% 194/693), Cerro Negro (22,2% 6/27), Otacílio Costa (18,9% 181/956), Lages (18,6% 357/1.917), Correia Pinto (17,2% 188/1.088), Capão Alto (14,5% 93/641) e São José do Cerrito (11,8% 164/1.379). Apenas o município de Rio Rufino não apresentou positividade de condenação hepática por fasciolose.

Figura 16 – Mapa da distribuição do índice de positividade da fasciolose bovina de 2018 a 2021 de acordo com dados de três frigoríficos sob o Serviço de Inspeção Estadual em dezoito municípios do Planalto Serrano -SC.



Fonte: Própria autora (2021).

No estudo, foi analisada a concordância entre os dados de condenação hepática e amostragem a campo dos animais positivos e negativos para *F. hepatica* nos municípios de Bocaina do Sul, Capão Alto, Lages, Paineira e Urupema, através do teste qui-quadrado e o teste exato de Fisher (Tabela 4).

Como resultado, foi encontrada diferença significativa (p -valor $<0,05$) com os resultados dos municípios de Bocaina do Sul, Lages, Paineel e Urupema. No município de Capão Alto, o p -valor não foi significativo (qui-quadrado $p = 0,22$; Fisher $p = 0,21$) indicando concordância entre as análises comparadas.

Tabela 4 – Comparação entre a prevalência da fasciolose bovina *in vivo* com o índice de positividade *post mortem* nos municípios de Bocaina do Sul, Capão Alto, Lages, Paineel e Urupema.

Município	p -valor qui-quadrado	p -valor Fisher
Bocaina do Sul	6,65e-08*	5,21e-06*
Capão Alto	0,2203	0,211
Lages	9,82e-06*	6,05e-07*
Paineel	1,98e-06*	1,76e-03*
Urupema	1,38e-06*	8,46e-02*
Geral	$<2,2e-16^*$	$< 2,2e-16^*$

*Diferença significativa.

Fonte: Própria autora (2022)

Em relação à busca ativa por gastrópodes vetores em propriedades localizadas em municípios do Planalto Serrano, o ambiente mais propício para localizar e coletar os moluscos foram locais com a presença de água corrente de fluxo lento (Figura 17a), com aspecto límpido ou levemente turva e com a presença de material orgânico como galhos, madeira, grimpas, pedras e mangueiras plásticas com limo (Figura 17b).

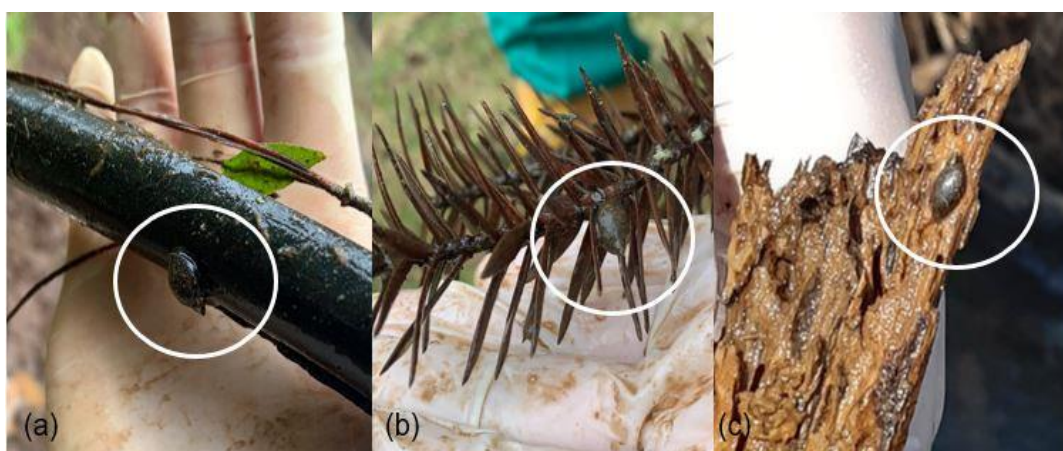
Figura 17 - Ambientes propícios ao desenvolvimento de gastrópodes vetores de *Fasciola hepatica*. Presença de água correntes com fluxo lento (a). Açude com a presença de matéria orgânica e de fácil acesso aos animais (b).



Fonte: Própria autora (2020).

Durante as buscas identificou-se gastrópodes aderidos a mangueiras de polietileno que estavam submersas em açudes (Figura 18a), em grimpas de Araucária que estavam dentro de riachos (Figura 18b), em lascas de madeira em processo de decomposição (Figura 18c) e de forma mais frequente a presença dos caramujos aderidos às pedras presentes em riachos.

Figura 18 - Presença de *Pseudosuccinea columella*. (a) Aderido à mangueira de polietileno. (b) Localizados entre as folhas de grimpas de Araucária. (c) Entre os vincos de um pedaço de madeira.



Fonte: Própria autora (2021).

Após a caracterização local, foi identificado morfologicamente 670 exemplares (Tabela 5), dentre eles: *Pseudosuccinea columella* (Figura 19), *Biomphalaria* spp. e em maior quantidade o gênero *Potamolithus* spp. (Figura 20). Antes do armazenamento, foi realizada também a exposição dos gastrópodes ao estímulo luminoso para o experimento de eliminação de cercária, porém, não se obteve sucesso em nenhuma das tentativas.

Tabela 5 – Gastrópodes coletados e identificados morfologicamente, de municípios localizados no Planalto Serrano - SC.

Gastrópodes	Total
<i>Pseudosuccinea columella</i>	62
<i>Biomphalaria</i> sp.	32
<i>Potamolithus</i> sp.	576

Fonte: Própria autora (2021)

Figura 19 - Concha com coloração marrom e presença de manchas da espécie *Pseudosuccinea columella* visualizados através do estereomicroscópio.



Fonte: Própria autora (2021).

Figura 20 - Presença de *Potamolithus* sp. aderidos às pedras.



Fonte: Própria autora (2020).

6 DISCUSSÃO

O presente estudo foi pioneiro na região do Planalto Serrano Catarinense, com a pesquisa de *F. hepatica* de animais *in vivo* e o levantamento de dados *post mortem* em frigoríficos sob o Serviço de Inspeção Estadual. Em relação à amostragem de animais a campo, os municípios de Bocaina do Sul e Campo Belo do Sul não atingiram a amostragem mínima necessária. Essa ocorrência foi justificada devido ao período estipulado para a realização do projeto coincidir com a pandemia do Coronavírus (COVID-19) e suas restrições. Por esta razão, em prol da saúde dos pesquisadores e produtores, nestes municípios a amostragem não foi ampliada.

No presente estudo, a prevalência média de animais infectados positivos através do exame coproparasitológico em sete municípios do Planalto Serrano Catarinense foi de 9,7% (178/1.837), no entanto, esta prevalência geral do Planalto Serrano não reflete a heterogeneidade nos níveis de prevalência encontradas dentre os municípios analisados individualmente. É importante ressaltar que a amostragem de animais a campo favoreceu também de forma direta os produtores rurais por meio da transmissão de novas informações sobre os riscos, modo de infecção e controle da parasitose, pois 40,2% (39/97) dos pecuaristas não possuíam conhecimento sobre a *F. hepatica*.

Mesmo que a fasciolose bovina comumente não cause mortalidade nos animais parasitados, ela ainda é uma doença de alta importância (MAS-COMA, 2005). A atenção aos animais infectados está diretamente relacionada ao grande impacto econômico em animais de produção em decorrência da diminuição na produção de leite, redução no ganho de peso e baixa fertilidade (DUTRA et al., 2010).

No Estado de Santa Catarina, houve duas pesquisas com metodologia semelhante, onde animais vivos foram analisados por exame coproparasitológico de sedimentação. A primeira foi um trabalho retrospectivo com amostras de bovinos, bubalinos, caprinos e ovinos encaminhadas ao laboratório do MAPA, em um período de 12 anos, totalizando 129 municípios amostrados e 88 com a presença de animais positivos no exame de fezes para ovos de *F. hepatica*. Neste estudo, indicou-se porcentagem de 27,8% (1.994/7.156) de bovinos infectados em SC. Contudo, estas amostras eram provenientes somente de animais já com alguma patologia ou sinal clínico, o que justifica o alto índice de positividade, comprometendo também a aleatoriedade da amostragem (SERRA-FREIRE & NUERNBERG, 1992).

A segunda pesquisa avaliou a prevalência de *F. hepatica* em bovinos de cinco municípios localizados no Extremo Sul Catarinense, sendo eles Turvo, Timbé do Sul, Meleiro, Jacinto Machado e Morro Grande, com o total de 290 amostras coletadas em 61 propriedades. Indicou-se uma prevalência de 30,45% (88/290) naquela região (BOTELHO et al., 2002).

Entretanto, em nenhum dos estudos houve qualquer análise de animais localizados em qualquer município da Mesorregião Serrana, enfatizando a escassez de dados e informações sobre a parasitose neste local.

O presente estudo teve foco específico no Planalto Serrano, priorizando a aleatoriedade dos animais coletados, para melhor avaliação da prevalência da enfermidade, e a pesquisa do trânsito animal completo até o momento da coleta, comprovando que os animais positivos estão se infectando nos municípios da região, ressaltando a legitimidade das análises realizadas.

O exame coproparasitológico de sedimentação adaptado (HOFFMAN; PONS; JANER, 1934) foi escolhido devido a sua especificidade para a pesquisa de ovos densos de *F. hepatica*. Para o aumento da sensibilidade da técnica foi utilizado o dobro de fezes indicado no protocolo original (CALVANI et al., 2018). Ademais, para a leitura das amostras, eram adicionadas gotas de Azul de Metileno 1% às amostras, e a leitura era realizada em todo o material acondicionado em placas de Petri (JAPA; SIRIWECHVIRIYA; PRAKHAMMIN, 2020). Essa técnica foi empregada para facilitar a visualização dos ovos em relação a coloração do fundo da placa, em que o sedimento adquiria a coloração azul e contrastava com os ovos que mantinham a coloração original amarelada (Figura 21), aumentando assim a precisão do diagnóstico laboratorial.

Figura 21 – Amostra fecal bovina positiva para fasciolose analisada por exame coproparasitológico de sedimentação, visualizada sob estereomicroscópio.



Fonte: Própria autora (2020).

Através do exame coproparasitológico dos animais *in vivo*, o estudo contribuiu também de modo direto para o controle epidemiológico da parasitose por meio do diagnóstico e tratamento dos animais antes do abate, elevando a rentabilidade final do processo de produção. Essa amplitude no processo de conscientização dificilmente é alcançada através de dados de animais abatidos, não contribuindo diretamente para a conscientização dos produtores e diminuição da parasitose.

Para a ampliação das informações sobre a fasciolose no Planalto Serrano Catarinense, dados dos frigoríficos do SIE localizados na região foram compilados em busca de novos dados de condenação hepática por *F. hepatica*. Alguns estudos já foram realizados anteriormente referentes a dados do Sistema de Inspeção Federal (AGUDO-PADRÓN et al., 2013; BENNEMA et al., 2014; MOLENTO et al., 2018; SILVA et al., 2020).

O Planalto Catarinense não era considerado endêmico para este parasito (AGUDO-PADRÓN et al., 2013). Silva et al. (2020), posteriormente, consideraram todo o Estado como endêmico, com base em dados de frigoríficos do sistema de inspeção federal (SIF). Todavia, não houve a análise da movimentação dos bovinos, ou comprovação de autoctonia dos casos, isto é, esses animais relatados como positivos em municípios específicos, como os da região serrana, poderiam ser provenientes de outras localidades, e encaminhados para o abate nos frigoríficos daqueles locais por diferentes razões, como é comum em todo o território nacional.

As informações do presente estudo demonstraram um IP relevante da doença na região, muito superior aos dados previamente descritos em literatura (SILVA et al., 2020). Conforme dados do SIE, o IP geral estimado foi de 16,5% (1.625/9.826) de animais infectados localizados em 17 municípios do Planalto Serrano Catarinense. Dados do SIF dos anos de 2004 a 2008 e 2010, estimaram o IP de 8,8% (24.455/518.635) de fígados infectados por *F. hepatica* em todo o Estado de Santa Catarina (SILVA et al., 2020). Os resultados deste estudo prévio corroboram com o presente estudo somente nos municípios de Palmeira, Bocaina do Sul e Ponte Alta, que apresentaram alto IP nos dois trabalhos.

Quando comparamos os resultados encontrados a campo com os resultados dos frigoríficos, foi detectada diferença significativa entre as análises nos municípios de Bocaina do Sul, Lages, Painel e Urupema, ou seja, não houve concordância entre as variáveis (Tabela 4). Essa ausência de concordância ressalta importância da

pesquisa a campo em busca de real situação epidemiológica dos animais que estão em processo de produção.

O município de Lages é historicamente conhecido por suas fazendas de grandes extensões dedicadas à pecuária (COSTA, 1982). Foi possível observar através deste estudo que o principal tipo de criação de bovinos na região é a pecuária extensiva. De acordo com Boldrini (2009), esse modelo de produção na Serra Catarinense é umas das principais atividades econômicas da região, sendo desenvolvida há mais de 150 anos. Esse tipo de manejo possibilita o contato animal direto com fontes de água como rios, riachos, açudes e banhados, ambientes que favorecem a proliferação dos gastrópodes, aumentando assim significativamente as chances de contaminação (MAS-COMA; BARGUES; VALERO, 2005). Soma-se a isso o clima da região do Planalto Serrano, temperado e úmido, ideal para o desenvolvimento dos gastrópodes vetores (RICKEN; HESS; BORSOI, 2018).

Nas propriedades visitadas foram encontrados caramujos *P. columella*, *Potamolithus* spp e *Biomphalaria* sp., bem como as características que compõem o ambiente ideal para o desenvolvimento dos hospedeiros intermediários, como presença de áreas alagadas, riachos e açudes. Contudo, em locais com água parada de aspecto turvo intenso, grande quantidade de sedimentos, matéria orgânica (limo, galhos, folhas e madeiras) e lama, foi verificada somente a presença de *Biomphalaria* sp., gastrópode que não é considerado um hospedeiro intermediário para *F. hepatica*. Este é um dado importante, pois algumas literaturas caracterizam este ambiente como ideal para a presença de limneídeos (ROBINSON; DALTON, 2009; HOWELL; WILLIAMS, 2020), entretanto, na região estudada, este tipo de ambiente não se mostrou o mais propício.

P. columella é considerado um dos principais hospedeiros intermediários de *F. hepatica* (LIMA et al., 2009; MAS-COMA; BARGUES; VALERO, 2005; PARAENSE, 1983; UENO et al., 1982). Possuem uma concha com cerca de 20mm, coloração marrom, presença de manchas e sentido horário, além de antenas curtas e com formato triangular (PARAENSE, 1986). Na literatura constam erros relacionados a presença de *P. columella* no Planalto Serrano Catarinense. Há indicação de presença deste caramujo no município de Lages (MEDEIROS et al., 2014), porém a citação presente no trabalho está errada, referenciando Lages a um trabalho que identificou *P. columella* no município de Urubici (AGUDO-PADRÓN, 2008). Quando o artigo cita o caramujo em Urubici, faz referência a uma dissertação realizada em Minas Gerais,

que sequer cita Santa Catarina (MEDEIROS et al., 2014). Além disso, no trabalho original, de qualidade, onde *P. columella* foi identificado em Urubici-SC, o próprio autor indica dúvida sobre a origem do gastrópode, e não o inclui em seu próprio banco de dados (AGUDO-PADRÓN, 2008; AGUDO-PADRÓN, 2013).

Sendo assim, de forma inequívoca, o presente estudo realizou os primeiros registros de *P. columella* nos municípios de Lages, Capão Alto e Paineira (Figura 22), confirmando a presença deste importante gastrópode no Planalto Serrano Catarinense.

Figura 22 - *Pseudosuccinea columella* coletados no município de Lages –SC.



Fonte: Própria autora (2021).

O gênero *Potamolithus* spp. (Figura 23) foi identificado em diversas propriedades, porém até o presente momento, não é considerado um hospedeiro intermediário para *F. hepatica*. Possui aproximadamente 6 mm, concha com coloração homogênea escurecida e seus tentáculos possuem uma listra longitudinal bem evidente (SILVA e VEITENHEIMER-MENDES, 2004).

Em Santa Catarina há relatos das espécies *Potamolithus catharinae* (PILSBRY, 1911), *Potamolithus kusteri* (STROBEL, 1874; QUADROS et al., 2007), *Potamolithus lapidum* (D'ORBIGNY, 1835) e *Potamolithus philippianus* (PILSBRY, 1911). No Planalto Serrano há um relato da espécie *Potamolithus kusteri* descrita no Alagado do Salto do Rio Caveiras (Distrito de Santa Terezinha, a Nordeste do Município de Lages) (QUADROS et al., 2007), confirmando assim a associação entre os achados de nossa pesquisa e a literatura existente sobre a presença do gastrópode na região. Em relação aos gastrópodes coletados, estudos moleculares serão realizados futuramente para a caracterização da espécie e tentativa de identificação das formas imaturas de *F. hepatica* no interior dos caramujos, devido a sua frequente e elevada

presença em propriedades com animais positivos para o parasito, bem como ausência de coletas de *P. columella*.

Figura 23 - *Potamolithus* sp. localizados em pedras de riachos com água corrente.



Fonte: Própria autora (2021).

O gênero *Biomphalaria* é considerado o principal hospedeiro intermediário do ciclo do parasito *Schistosoma mansoni*, causador da esquistossomose. No estudo, este gênero foi capturado (Figura 24) em locais com a presença de lama, água pútrida ou parada e com alta presença de matéria orgânica.

Figura 24 - *Biomphalaria* sp. capturado em Lages-SC, no Planalto Serrano Catarinense.



Fonte: Própria autora (2021).

No Brasil, há relatos de diversas espécies de gastrópodes pertencentes a este gênero, e em Santa Catarina as principais espécies descritas são: *Biomphalaria glabrata*, *Biomphalaria occidentalis*, *Biomphalaria oligoza*, *Biomphalaria peregrina*, *Biomphalaria schrammi*, *Biomphalaria straminea* e *Biomphalaria tenagophila* (AGUDO-PADRÓN, 2008). Nos municípios localizados no Planalto Serrano, há apenas dois registros do gênero *Biomphalaria peregrina* através da identificação morfológica em Lages e Otacílio Costa (SCHLEMPER et al., 1996) com isso, o presente trabalho foi essencial para a atualização e identificação morfológica do gênero *Biomphalaria* spp e posteriormente a descrição completa através de ensaios moleculares para a identificação desta espécie de planorbídeo.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo confirmou casos autóctones de infecção por *F. hepatica* em bovinos no Planalto Serrano Catarinense, combinando análises *in vivo* com a investigação *post mortem*. Caracterizou o ambiente favorável para o desenvolvimento de gastrópodes e confirmou na região a ocorrência de um dos principais hospedeiros intermediários que participam do ciclo da *F. hepatica*, o caramujo *P. columella*. Verificou um alto índice de positividade em animais abatidos em frigoríficos de Inspeção Estadual, além de enfatizar que houve diferença significativa entre o índice de positividade verificado por condenação hepática e a prevalência real da fasciolose em animais a campo. A prevalência da fasciolose bovina foi avaliada através de amostragem aleatória, inclusive extrapolando o *n* mínimo amostral, provendo ainda mais legitimidade aos resultados obtidos. Sendo assim, a ampliação deste trabalho através de novos estudos é importante para a caracterização dos fatores epidemiológicos acerca da fasciolose na região, contribuindo assim para o planejamento e implementação de medidas eficientes ao controle da doença, diminuição das perdas econômicas relacionadas à enfermidade, e proteção da saúde humana pela prevenção de quadros zoonóticos.

8 REFERÊNCIAS

ADAMS, A. M. Foodborne Parasites. **Springer International Publishing**, 2018. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-67664-7>>.

AGUDO-PADRÓN, A. I. et al. Moluscos e Saúde Pública em Santa Catarina: subsídios para a formulação estadual de políticas preventivas sanitárias. 1. ed. Duque de Caxias, RJ: **Espaço Científico Livre Projetos Editoriais**, 2013.

AGUDO-PADRÓN, I. Listagem Sistemática dos Moluscos Continentais Ocorrentes no Estado de Santa Catarina, Brasil. **Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay**, v. 9, n. 91, p. 147–179, 2008.

AI, L. et al. Specific PCR-based assays for the identification of Fasciola species: their development, evaluation and potential usefulness in prevalence surveys. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 104, n. 1, p. 65–72, 18 Jan. 2010.

AI, L. et al. Human Cases of Fascioliasis in Fujian Province, China. **Korean Journal of Parasitology**, v. 55, n. 1, p. 55–60, 1 Feb. 2017.

ALEIXO, M. A. et al. Fasciola Hepatica: Epidemiology, Perspectives in the Diagnostic and the Use of Geoprocessing Systems for Prevalence Studies. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 1451–1465, 2015.

ÁLVAREZ-SÁNCHEZ, M. A. et al. Resistance of Fasciola Hepatica to Triclabendazole and Albendazole in Sheep in Spain. **Veterinary Record**, v. 159, n. 13, p. 424–425, 1 Sep. 2006.

BADIRZADEH, A.; SABZEVARI, S. Hepatic Fascioliasis in Mashhad, Northeast Iran: First Report. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 50, n. 4, p. 571–574, 1 Jul. 2017.

BEESELEY, N. J. et al. Fasciola and Fasciolosis in Ruminants in Europe: Identifying Research Needs. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 65, p. 1–18, 2017.

BELGIN, G. et al. Partial Hepatectomy for the Resistant Fasciola Hepatica Infection in a Child. **APSP Journal of Case Reports**, v. 6, n. 3, p. 27, 2015.

BENNEMA, S. C. et al. Fasciola Hepatica in Bovines in Brazil: Data Availability and Spatial Distribution. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, n. 1, p. 35–41, 2014.

BERNARDO, C. das C. et al. Prevalence of Liver Condemnation Due to Bovine Fasciolosis in Southern Espírito Santo: Temporal Distribution and Economic Losses. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 1, p. 49–53, 2011.

BERNARDO, C. das C. et al. Kit Comercial de ELISA® Para a Detecção de Coproantígenos e Exame Coproparasitológico Em Bovinos Com Fígados Condenados Por Fasciolose. **Ciência Rural**, v. 42, n. 11, p. 2025–2029, Nov. 2012.

BOLDRINI, Ilsi Iob (Org.). **Biodiversidade dos Campos do Planalto das Araucárias**. Brasília: MMA, 240 p. 2009.

BORAY I.C. Fascioliasis. In: Handbook Series in Zoonoses. **Section C. Parasitic Zoonoses**. Volume III (G. V. Hillyer & C.E. Hopla edit.), CRC Press, Boca Raton-Florida: 71-88, 1982.

BOTELHO, G.J.; SOUZA, A.P.; BELLATO, V.; SARTOR, A.A. Prevalência da *Fasciola hepatica* em cinco municípios do Extremo Sul Catarinense. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, V.1, n. 1, p.11-15, 2002.

BYRNE, A. W. et al. Liver Fluke (*Fasciola Hepatica*) Co-Infection with Bovine Tuberculosis (BTB) in Cattle: A Retrospective Animal-Level Assessment of BTB Risk in Dairy and Beef Cattle. **Transboundary and emerging diseases**, v. 66, n. 2, p. 785–796, 1 Mar. 2019.

CABADA, M. M. et al. Treatment Failure after Multiple Courses of Triclabendazole among Patients with Fascioliasis in Cusco, Peru: A Case Series. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 1, p. e0004361, 25 Jan. 2016.

CALVANI, N. E. D. et al. Comparison of Early Detection of *Fasciola Hepatica* in Experimentally Infected Merino Sheep by Real-Time PCR, Coproantigen ELISA and Sedimentation. **Veterinary Parasitology**, v. 251, p. 85–89, Feb. 2018.

CALVANI, N. E. D.; ŠLAPETA, J. *Fasciola* Species Introgression: Just a Fluke or Something More? **Trends in Parasitology**, n. 1, p. 1–10, 2020.

CARAVEDO, M. A.; CABADA, M. M. Human Fascioliasis: Current Epidemiological Status and Strategies for Diagnosis, Treatment, and Control. **Research and Reports in Tropical Medicine**, v. 11, p. 149–158, 2020.

CARVALHO, C. Revisão Taxonômica e Elaboração de Mapas de Distribuição Geográfica de Espécies Brasileiras Da Família Lymnaeidae Rafinesque, 1815 (Gastropoda, Basommatophora). **Fundação Oswaldo Cruz**. Centro De Pesquisas René Rachou. Belo Horizonte 2014.

CHARLIER, J. et al. Qualitative and Quantitative Evaluation of Coprological and Serological Techniques for the Diagnosis of Fasciolosis in Cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 153, p. 44–51, 2008.

CHEN MG, MOTT KE. Progress in assessment of morbidity due to *Fasciola hepatica* infection: a review of recent literature. **Tropical Diseases Bulletin**, 1990.

CLARIDGE, J. et al. *Fasciola Hepatica* Is Associated with the Failure to Detect Bovine Tuberculosis in Dairy Cattle. **Nature Communications 2012 3:1**, v. 3, n. 1, p. 1–8, 22 May 2012.

CORRÊA, M. O. A.; FLEURY, G. C. Fascioliose Hepática Humana: Novo Caso Autóctone. **Congresso Brasileiro de Higiene**, v. 5, p. 267–270, 1970.

CORRÊA, O. Incidência de hidatidose, fasciolose, estefanurose e cisticercose nos rebanhos rio-grandenses. **Revista da Faculdade de Agronomia e Veterinária**. Porto Alegre, v.7, n.2, p.137-146,1965

CORE TEAM, R. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. 2018.

COSTA, LICURGO. O continente das Lagens – sua história e influência no sertão da terra firme. Florianópolis: **Fundação Catarinense de Cultura**, (4 volumes) 1982.

CUERVO, P. F. et al. Liver Fluke (*Fasciola Hepatica*) Naturally Infecting Introduced European Brown Hare (*Lepus Europaeus*) in Northern Patagonia: Phenotype, Prevalence and Potential Risk. **Acta Parasitologica**, v. 60, n. 3, p. 536–543, 2015.
DAWES, B. **The Trematoda**. Cambridge University Press. 1946

DRACZ, R. M.; LIMA, W. dos S. Autochthonous Infection of Buffaloes and Cattle by *Fasciola Hepatica* in Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 3, p. 413–416, 2014.

DALTON, J. P. et al. *Fasciola Hepatica* Cathepsin L-like Proteases: Biology, Function, and Potential in the Development of First Generation Liver Fluke Vaccines. **International journal for parasitology**, v. 33, n. 11, p. 1173–1181, 30 Sep. 2003.

DALTON, J. P. et al. Immunomodulatory Molecules of *Fasciola Hepatica*: Candidates for Both Vaccine and Immunotherapeutic Development. **Veterinary parasitology**, v. 195, n. 3–4, p. 272–285, 1 Aug. 2013.

DANIEL, R. et al. Composite Faecal Egg Count Reduction Test to Detect Resistance to Triclabendazole in *Fasciola Hepatica*. **The Veterinary record**, v. 171, n. 6, p. 153, 11 Aug. 2012.

D'ORBIGNY, A. Palustrines des Pierres, *Palustrina lapidium*. In: **Voyage dans l'Amérique Méridionale. Part: Mollusque**. Paris, P. Bertrand Editeur. v. 5, pt. 3, p. 382-383, 1835.

DUTRA, L. H. et al. Mapping Risk of Bovine Fasciolosis in the South of Brazil Using Geographic Information Systems. **Veterinary Parasitology**, v. 169, p. 76–81, 2010.

ELELU, N.; EISLER, M. C. A Review of Bovine Fasciolosis and Other Trematode Infections in Nigeria. **Journal of Helminthology**, v. 92, n. 2, p. 128–141, 22 Mar. 2018.

FAIRWEATHER, I.; BORAY, J. C. Fasciolicides: Efficacy, Actions, Resistance and Its Management. **Veterinary journal (London, England : 1997)**, v. 158, n. 2, p. 81–112, 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10489266/>.

FISS, L. et al. Subacute and Acute Fasciolosis in Sheep in Southern Brazil. **Parasitology Research**, v. 112, n. 2, p. 883–887, 2012.

- FRANÇA, I. Fasciola hepatica em bovinos no Vale do Paraíba. **Boletim do Campo**, Rio de Janeiro, n. 230, p. 21-22, 1969.
- FREITAS, D. F. et al. Bioclimatic Distribution and Prevalence Maps for Fasciola Hepaticain Espírito Santo State, Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 20, n. 32, p. 1–11, 2014.
- FORMENTO, S. et al. Dinâmica Estrutural Arbórea de Uma FFloresta Ombrófila Mista Em Campo Belo Do Sul, SC. **CERNE**, v. 10, n. 2, p. 196–212, 2004.
- GASPER, A. L. de et al. Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina: Espécies Da Floresta Ombrófila Mista. **Rodriguésia**, v. 64, n. 2, p. 201–210, Jun. 2013.
- GIL, L. C. et al. Resistant Human Fasciolosis: Report of Four Patients. **Revista médica de Chile**, v. 142, n. 10, p. 1330–1333, 1 Oct. 2014.
- GIRÃO, E.; UENO, H. Técnica dos quatro tamises para o diagnóstico coprológico quantitativo da Fasciolose dos ruminantes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.20, n. 8, p.905-912, 1985.
- GORDON, D. et al. Confirmation of Triclabendazole Resistance in Liver Fluke in the UK. **Veterinary Record**, v. 171, n. 6, p. 159–160, 1 Aug. 2012.
- GORDON, D. K. et al. On Farm Evaluation of the Coproantigen ELISA and Coproantigen Reduction Test in Scottish Sheep Naturally Infected with Fasciola Hepatica. **Veterinary parasitology**, v. 187, n. 3–4, p. 436–444, 6 Jul. 2012.
- GRAHAM-BROWN, J. et al. Composite Fasciola Hepatica Faecal Egg Sedimentation Test for Cattle. **Veterinary Record**, v. 184, n. 19, p. 1–8, May 2019. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1136/vr.105128>>.
- GUIMARÃES, R. J. P. S. et al. Multiple Regression for the Schistosomiasis Positivity Index Estimates in the Minas Gerais State - Brazil at Small Communities and Cities Levels. In: RIDI, R. EL (Ed.). **Parasitic Diseases - Schistosomiasis**. Cairo University, Egypt: InTech, 2013. p. 3–27.
- HANNA, R. E. B. et al. Fasciola Hepatica: A Comparative Survey of Adult Fluke Resistance to Triclabendazole, Nitroxynil and Closantel on Selected Upland and Lowland Sheep Farms in Northern Ireland Using Faecal Egg Counting, Coproantigen ELISA Testing and Fluke Histology. **Veterinary Parasitology**, v. 207, n. 1–2, p. 34–43, 15 Jan. 2015.
- HASSELL, C.; CHAPMAN, V. Case Report: Suspect Lack of Triclabendazole Efficacy in Liver Fluke in Sheep in the Taranaki. **Proceedings of the Sheep and Beef Cattle Veterinarians of the NZVA**, 1 Jan. 2012.
- HATSCHBACH, P. I. A *Fasciola hepatica* e sua história. **Hora Veterinária**, 1 (Edição extra): 10-12. 1995.
- HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The Sedimentation Concentration

Method in Schistosomiasis Mansoni. **Journal of Public Health and Tropical Medicine**, v. 9, p. 283–289, 1934.

HOWELL, A. K.; WILLIAMS, D. J. L. The Epidemiology and Control of Liver Flukes in Cattle and Sheep. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 36, n. 1, p. 109–123, 2020.

IBGE. Divisão Regional Do Brasil Em Mesorregioes e Microrregiões Geográficas. **Ministério da Economia, Fazenda e Planejamento**, v. 1, n. 9, p. 1–135, 1990.

IBGE. **Efetivo de Rebanho, Por Tipo de Rebanho**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>>. Acesso em: 2 jul. 2021.

JAPA, O.; SIRIWECHVIRIYA, P.; PRAKHAMMIN, K. Occurrence of Fluke Infection in Beef Cattle around Phayao Lake, **Phayao**, Thailand. 2020.

KELLEY, J. M. et al. Current Threat of Triclabendazole Resistance in Fasciola Hepatica. **Trends in Parasitology**, v. 32, n. 6, p. 458–469, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2016.03.002>.

KLEIMAN, F.; PIETROKOVSKY, S.; GIL, S.; WISNIVESKY-COLLI, C. Comparação de dois métodos coprológicos para diagnóstico da fasciolose. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.2, p.181- 185, 2005.

LEUCKART, R. Zur Entwick lungsgeschichte des Leberegels (*Distomum hepaticum*). **Nature**, v. 48, p. 80 – 119, 1882.

LIMA, W. dos S. et al. Occurrence of Fasciola Hepatica (Linnaeus, 1758) Infection in Brazilian Cattle of Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 2, p. 27–30, 2009.

MALEK E.A. Snail hosts of Schistosomiasis and other snail-transmitted diseases in tropical America: a manual. **Pan American Health Organization**, Washington, 325 pp,1985.

MAS-COMA, S. Epidemiology of Fascioliasis in Human Endemic Areas. **Journal of Helminthology**, v. 79, p. 207–216, 2005.

MAS-COMA, S.; BARGUES, M. D. Human Liver Flukes: A Review. **Research and Reviews in Parasitology**, v. 57, n. 3–4, p. 145–218, 1997.

MAS-COMA, S.; BARGUES, M. D.; VALERO, M. A. Fascioliasis and Other Plant-Borne Trematode Zoonoses. **International Journal for Parasitology**, v. 35, n. 11–12, p. 1255–1278, 2005.

MAS-COMA, S.; VALERO, M. A.; BARGUES, M. B. Fascioliasis. In: **Digenetic Trematodes, Advances in Experimental**. Valencia,Spain: Springer Nature

Switzerland, 2019. p. 71–103.

MAS-COMA, S.; VALERO, M. A.; BARGUES, M. D. Fasciola, Lymnaeids and Human Fascioliasis, with a Global Overview on Disease Transmission, Epidemiology, Evolutionary Genetics, Molecular Epidemiology and Control. In: **Advances in Parasitology**. Valencia, Spain: Elsevier Ltd, 2009. 69p. 41–146.

MAS COMA, S. et al. Small Mammals as Natural Definitive Hosts of the Liver Fluke, *Fasciola Hepatica* Linnaeus, 1758 (Trematoda: Fasciolidae): A Review and Two New Records of Epidemiologic Interest on the Island of Corsica. **Rivista di Parassitologia** **5**, v. 491, n. 49, p. 73–78, 14 Sep. 1988.

MATTOS, M.J.T. DE; CUNHA, F.O.V. DA; MARQUES, S.M.T. Comparação de duas técnicas parasitológicas na identificação de ovos de *Fasciola hepatica*. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia, Uruguiana**, v.16, n.1, p.105-112, 2009.

MEDEIROS, Camilla et al. Distribuição espacial de Lymnaeidae (Mollusca, Basommatophora), hospedeiros intermediários de *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 (Trematoda, Digenea) no Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 56, n. 3, p. 235–252, 2014.

MEHMOOD, K. et al. A Review on Epidemiology, Global Prevalence and Economical Losses of Fasciolosis in Ruminants. **Microbial Pathogenesis**, v. 109, p. 253–262, Aug. 2017.

MOLENTO, M. B. et al. Bovine Fascioliasis in Brazil: Economic Impact and Forecasting. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 12, p. 1–3, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2017.12.004>.

MOLINA-HERNÁNDEZ, V. et al. *Fasciola Hepatica* Vaccine: We May Not Be There yet but We're on the Right Road. **Veterinary Parasitology**, v. 208, n. 1–2, p. 101, 28 Feb. 2015.

NARANJO LUCENA, A. et al. The Immunoregulatory Effects of Co-Infection with *Fasciola Hepatica*: From Bovine Tuberculosis to Johne's Disease. **Veterinary journal (London, England : 1997)**, v. 222, p. 9–16, 1 Apr. 2017.

NELSON, G. S. A History of Human Helminthology. D. I. Grove. 1990. **Journal of Helminthology**, v. 65, n. 2, p. 120–120, Jun. 1991.

O'NEILL, S. M. et al. Immunodiagnosis of *Fasciola Hepatica* Infection (Fascioliasis) in a Human Population in the Bolivian Altiplano Using Purified Cathepsin L Cysteine Proteinase. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 58, n. 4, p. 417–423, 1998.

OLAECHEA, F. . *Fasciola hepatica*. In: Redacción de Helminología de FAO para América Latina y el Caribe: **Buenos Aires Conferencia Electronica, Anais.2004**.

OLAECHEA, F. et al. Resistance of *Fasciola Hepatica* against Triclabendazole in

Cattle in Patagonia (Argentina). **Veterinary Parasitology**, v. 178, n. 3–4, p. 364–366, 10 Jun. 2011.

OLIVEIRA, D. M.; RESENDE, P. O. Fasciola Hepatica: Ecologia e Trajetória Histórico-Geográfica Pelo Brasil. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 2, p. 09, 6 Sep. 2017.

OLIVEIRA, S.; FILHA, S. E. Fasciolose Hepática. **Biológico**, v. 71, n. 1, p. 5–7, 2009.

OPS . **Medición de las condiciones de salud y enfermedad de la población**. In: CASTILLO-SALGADO, C. et al. (Eds.). Módulo Principios Epidemiol para el Control Enfermedades (MOPECE). Segunda Ed ed. Washington D.C,EUA: Organización Panamericana de la Salud,v. 3p. 1–96, 2011.

ORTIZ, P. L. et al. The Specificity of Antibody Responses in Cattle Naturally Exposed to Fasciola Hepatica. **Veterinary parasitology**, v. 93, n. 2, p. 121–134, 10 Nov. 2000.

OVEREND, D.; BOWEN, F. Resistance of Fasciola Hepatica to Triclabendazole. **Australian Veterinary Journal**, v. 72, n. 7, p. 275–276, 1 Jul. 1995.

PARAENSE, W. L. Lymnaea columella in northern Brazil.**Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 1983.

PARAENSE, W. L. Lymnaea Columella: Two New Brazilian Localities in the States Amazonas and Bahia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, n. 1, p. 121–123, 1986.

PILSBRY, H.A. Non-marine Mollusca of Patagonia. In: Scott, W.B. (Eds.). **Reports of the Princeton University Expeditions to Patagonia**, Princetown University. Princetown, 1896-1899, v. 3, pt. 2, p. 513-633, 1911.

PINILLA, J. C. et.al. Prevalence and risk factors associated with liver fluke Fasciola hepatica in cattle and sheep in three municipalities in the Colombian Northeastern Mountains. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 19, n. December 2019, p. 100364, 2020.

PINTO, C. E. et al. Pecuária de corte: Vocaç o e inovaç o para o desenvolvimento catarinense. 1. ed. Florian polis: **Encarte Cultural**, 2016.

PRITSCH, I. C. et al. First Reported Case of Clinical Fascioliasis in Santa Catarina, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 52, p. 5–7, 2019.

QUADROS, R. M et al. A ecologia da malacofauna dulc cola do alagado do Salto do rio Caveiras na serra catarinense, Brasil. **XX Encontro Brasileiro de Malacologia**, Rio de Janeiro,Brasil. p. 304, 2007.

RAILLIET, A. Sur Une Forme Particulière de Douve Hépatique Provenant Du S n gal. **Comptes Rendus des Seances de la Societe de Biologie, Paris**, 1895.

REZENDE, H.E.B. Retrospectiva da Fasciolose Bovina no Brasil. In: **Seminário Nacional sobre parasitoses de bovino**. Campo Grande, MTS. Anais. EMBRAPA/CNPQC, P. 133-143, 1979.

REY, L. *Fasciola hepatica* e Fasciolose. **Parasitologia**. 2. Ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A. Cap. 36, p. 411-416, 1991

RIBEIRO, P. de A. Incidência Das Causas de Rejeição de Bovinos Abatidos No Brasil Central — Prejuízo Causado Pelas Mesmas Nos Anos de 1946-47. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo**, v. 4, n. 1, p. 167–184, 14 Dec. 1949.

RICKEN, P.; HESS, A. F.; BORSOI, G. A. Relações Biométricas e Ambientais No Incremento Diamétrico de Araucaria Angustifolia No Planalto Serrano Catarinense. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 4, p. 1592, 16 Dec. 2018.

ROBINSON, M. W.; DALTON, J. P. Zoonotic Helminth Infections with Particular Emphasis on Fasciolosis and Other Trematodiasis. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 364, n. 1530, p. 2763–2776, 27 Sep. 2009.

SÁNCHEZ-ANDRADE, R. et al. Influence of Age and Breed on Natural Bovine Fasciolosis in an Endemic Area (Galicia, NW Spain). **Veterinary research communications**, v. 26, n. 5, p. 361–370, 2002.

SERRA-FREIRE, N. M. da; NUERNBERG, S. Geopolitical Dispersion of the Occurrence of *Fasciola hepatica* in the State of Santa Catarina, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, n. 1, p. 263–269, 1992.

SCHLEMPER J. B. et al. Distribuição Geográfica de Planorbídeos em Santa Catarina, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 29:411-418, 1996.

SILES-LUCAS, M. et al. Fascioliasis and Fasciolopsiasis: Current Knowledge and Future Trends. **Research in Veterinary Science**, v. 134, p. 27–35, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.10.011>.

SILVA, A. A.; SANTOS, R. S. Fatores Que Determinam a Ocorrência de *Fasciola hepatica* Em Propriedades Leiteiras No Município de Brazópolis No Estado de Minas Gerais. **Fundação de Ensino e Pesquisa do Itajubá**, v. 3, n. 2, p. 1–3, 2016.

SILVA, A. E. P. et al. Correlation between Climate Data and Land Altitude for *Fasciola hepatica* Infection in Cattle in Santa Catarina, Brazil. **Revista brasileira de parasitologia veterinária**, v. 29, n. 3, p. 1–7, 2020.

SILVA, M. C. P.; VEITENHEIMER-MENDES, I. L. Redescrção de *Potamolithus catharinae* Com Base Em Topótipos (Gastropoda, Hydrobiidae), Rio Hercílio, Santa Catarina, Brasil. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 94, n. 1, p. 82–88, Mar. 2004.

SILVA, O.M.C. Parasitoses animais. **Correio da Manhã**. (Rio de Janeiro). pp. 13,1936.

SMITHERS S.R. Fascioliasis and other Trematode Infections. In: **Immunology of Parasitic Infections**, 2nd edition (S.Cohen & K.S. Warren edit.), Blackwell Scientific Publications, Oxford: 608-621,1982.

STROBEL, P. & SORDELLI, F. Materiali per una Malacostatica di terra e di acqua dolce dell'Argentina méridionale. **Pisa, Ed. della Biblioteca Malacologica**. 142p, 1874.

THOMAS, A. P. Memoirs: The Life History of the Liver-Fluke (Fasciola Hepatica). **Journal of Cell Science**, v. s2-23, n. 89, p. 99–133, 1 Jan. 1883.

TRAVERSA, D. Molecular Diagnosis of Certain Nematode Infections Can Save Life and Beauty, and Preserve Breeds of Socially Relevant and Sporting Animals. **Veterinary Parasitology**, v. 150, n. 1–2, p. 1–5, 2007.

UENO, H. et al. Fascioliasis Problems in Ruminants in Rio Grande Do Sul, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 11, n. 2–3, p. 185–191, 1 Nov. 1982.

WEBB, C. M.; CABADA, M. M. Recent Developments in the Epidemiology, Diagnosis, and Treatment of Fasciola Infection. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 31, p. 409–414, 2018.

WHO. Progress in assessment of morbidity due to fasciola hepatica infection : a review of recent literature. **World Health Organization**, , 1990.

WHO. Investing to Overcome the Global Impact of Neglected Tropical Diseases. **World Health Organization**, p. 1–211, 2015.

WINKELHAGEN, A. J. S. et al. Apparent Triclabendazole-Resistant Human Fasciola Hepatica Infection, the Netherlands - Volume 18. *Emerging Infectious Diseases Journal - CDC*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 18, n. 6, p. 1028–1029, 2012.



LAPAR - ANÁLISE COPROPARASITOLÓGICA - PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS (TÉCNICAS DE SEDIMENTAÇÃO)

Estudo: _____ Dia do estudo: _____

Data da coleta da amostra: _____ Parasitos de Interesse: _____

Centrifuga/Balança/Timer: _____ Técnica: _____ Sedimentação

Identificação do animal	Número sequencial	Peso da amostra (X, X g)	84ml de água + 6g amostra = 90 ml, homogêneo e peneirado	Despejar a solução no tamis acondicionado em frasco cônico	Adicionar água até aproximadamente 400 ml	Deixar em repouso por 10 min e repetir o processo	Descartar o sobrenadante e transferir o sedimento para duas placas de Petri	Adicionar 5 gotas de azul de metileno	Processado por (Iniciais e data)

N - Procedimento não realizado

Anexo I