

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

RAFAELA GIL BOSSLE

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA OVICIDA DE FLUOPSINA C EM
OVOS DE *Fasciola hepatica*



LAGES
2026

RAFAELA GIL BOSSLE

**DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA OVICIDA DE FLUOPSINA C EM
OVOS DE *Fasciola hepatica***

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

2026

FICHA CATALOGRÁFICA

Gil Bossle, Rafaela

Determinação da concentração mínima ovicida de fluopsina c em ovos de fasciola hepatica / Rafaela Gil Bossle. – 2026.

65 p.

Orientador: Andreas Lazaros Chryssafidis

Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2026.

1. Zoonose parasitária. 2. Atividade fasciolicida. 3. Resistência. 4. Ensaios in vitro. I. Lazaros Chryssafidis, Andreas . II. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

RAFAELA GIL BOSSLE

**DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA OVICIDA DE FLUOPSINA C EM
OVOS DE *Fasciola hepatica***

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

Prof. Dr. Andreas Lazaros Chryssafidis
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Membros:

Prof. Dr. Pedro Ortiz Oblitas
Universidade Nacional de Cajamarca
(Titular externo)

Prof. Dr. Galdino Andrade Filho
Universidade do Estado de Londrina
(Titular externo)

Lages, 11 de fevereiro de 2026.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC – 2023TR000236) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq – 420740/2023-6) pelo financiamento ao projeto.

Agradeço à Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasil (CAPES), pelo apoio financeiro concedido por meio da bolsa de estudos ao longo deste projeto.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Andreas, expresso minha profunda gratidão pelo auxílio constante, pela generosidade em compartilhar conhecimento e pela experiência transmitida, que foram fundamentais para a realização e o amadurecimento deste trabalho.

Aos meus pais, Marcia e Marcos, que estiveram presentes em todas as etapas da minha vida, e à minha irmã Duda, minha parceira de casa e de jornada, agradeço pelo amor incondicional, pela confiança e pelo apoio permanente, essenciais que eu chegasse até aqui.

Também, deixo expresso o meu reconhecimento e agradecimento especial a Sabrina, Gabriela, Fernanda e Fábio do Frigorífico de Pouso Redondo, agradeço a ajuda inestimável no fornecimento das amostras, parceria e disponibilidade para a realização do estudo.

Às minhas colegas de pós-graduação, Amanda, Faiane, Larissa Américo e Thayná, sou imensamente grata pela amizade, pelo suporte e pelo companheirismo que tornaram essa caminhada mais leve.

Agradeço também, ao meu namorado Erick, por seu amor, incentivo e presença constante, especialmente nos momentos desafiadores.

Registro aqui meu agradecimento a todos os alunos de doutorado, mestrado e graduação do Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias (LAPAR) cuja amizade, troca de conhecimento e apoio foram essenciais em todas as fases deste projeto. Agradeço ao Laboratório de Ecologia Microbiana da Universidade Estadual de Londrina pelo apoio oferecido e pela colaboração constante.

Por fim, estendo meu reconhecimento a todos que, de alguma forma, contribuíram para esta jornada. A colaboração e o apoio de cada um tornaram o desenvolvimento deste trabalho mais leve, significativo e enriquecedor.

“Todas as vitórias ocultam uma abdicação”
(Simone de Beauvoir)

RESUMO

A fasciolose é uma enfermidade zoonótica causada pelo trematódeo *Fasciola hepatica*, que parasita o fígado e as vias biliares de diversos animais, principalmente ruminantes, acarretando prejuízos econômicos a produção pecuária. O tratamento dessa enfermidade enfrenta desafios devido a relatos crescente de resistência aos fármacos disponíveis. Nesse contexto, há necessidade de novos agentes terapêuticos, dentre eles a Fluopsina C (FpC), um metabólito secundário produzido por *Pseudomonas aeruginosa* cepa LV, conhecido por sua ação antibacteriana, antifúngica e antitumoral. O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial fasciolicida da FpC por meio da determinação de sua atividade ovicida (AO) utilizando o teste de desenvolvimento e eclosão de ovos (TDEO). Amostras de bile de bovinos naturalmente parasitados por *F. hepatica* foram obtidas em abatedouros, sob inspeção do serviço de inspeção federal (SIF), no município de Pouso Redondo, no estado de Santa Catarina, Brasil, para o isolamento dos ovos. Os ovos foram recuperados os ovos por um processo de lavagem e quantificados ao final do processo. No TDEO, testaram-se diferentes concentrações de FpC para determinar a concentração mínima ovicida (CMO): 0,25, 0,5, 1, 2, 4 e 8 µg/mL, além do controle negativo, contendo água destilada. As amostras, preparadas em triplicatas, foram distribuídas em alíquotas de 100 µL contendo aproximadamente 400 ovos, em frascos coletores universais, aos quais se adicionaram 20 mL das soluções teste. Em seguida, os frascos foram incubados a 27°C por 28 dias. Foram utilizados 20 isolados de *F. hepatica* de diferentes animais para determinação da CMO. Observou-se que a FpC exerceu efeito ovicida relevante em todas as amostras testadas e foi dose-dependente, com redução progressiva de ovos desenvolvidos, à medida que a concentração de FpC aumentava. A partir da concentração 2 µg/mL, não houve diferença significativa entre os grupos (2, 4 e 8 µg/mL). Com base nesses resultados, a concentração de 2 µg/mL foi estabelecida como CMO da FpC. Esses achados indicam que a FpC apresenta AO relevante contra *F. hepatica* e pode representar um candidato promissor para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas.

Palavras-chave: Zoonose parasitária; Saúde única; Resistência parasitária; Ensaio *in vitro*.

ABSTRACT

Fasciolosis is a zoonotic disease caused by the trematode *Fasciola hepatica*, which parasitizes the liver and bile ducts of various animals, mainly ruminants, causing economic losses to livestock production. The treatment of this disease faces challenges due to increasing reports of resistance to the available drugs. In this context, there is a need for new therapeutic agents, among them Fluopsin C (FpC), a secondary metabolite produced by *Pseudomonas aeruginosa* strain LV, known for its antibacterial, antifungal, and antitumor activity. The aim of this study was to evaluate the fasciolicidal potential of FpC by determining its ovicidal activity (OA) using the egg development and hatching test (EDHT). Bile samples from cattle naturally parasitized by *F. hepatica* were obtained at slaughterhouses, under inspection by the Federal Inspection Service (SIF), in the municipality of Pouso Redondo, in the state of Santa Catarina, Brazil, for egg isolation. The eggs were recovered by a washing process and quantified at the end of the process. In the EDHT, different concentrations of FpC were tested to determine the minimum ovicidal concentration (MOC): 0.25, 0.50, 1, 2, 4 and 8 µg/mL, in addition to the negative control containing distilled water. The samples, prepared in triplicate, were distributed into 100 µL aliquots containing approximately 400 eggs, in universal collection vials, to which 20 mL of the test solutions were added. Then, the vials were incubated at 27°C for 28 days. Twenty *F. hepatica* isolates from different animals were used to determine the MOC. It was observed that FpC exerted a relevant ovicidal effect in all tested samples and was dose-dependent, with a progressive reduction in developed eggs as the FpC concentration increased. From the concentration of 2 µg/mL onward, there was no significant difference among the groups (2, 4, and 8 µg/mL). Based on these results, the concentration of 2 µg/mL was established as the MOC of FpC. These findings indicate that FpC shows relevant OA against *F. hepatica* and may represent a promising candidate for the development of new therapeutic alternatives.

Keywords: Parasitic zoonosis; One Health; Parasitic resistance; *In vitro* assay.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. <i>Fasciola hepatica</i> adulta com o corpo achatado com formato de folha, coloração marrom acinzentada com duas ventosas, a oral e a ventral	20
Figura 2. Ovo de <i>Fasciola hepatica</i> não embrionado, operculado com coloração amarelo-acastanhado no aumento de 40x (objetiva de 4x)	21
Figura 3. Representação esquemática do ciclo biológico de <i>Fasciola</i> spp.....	23
Figura 4. A) A bile de animais positivos coletada no momento da inspeção <i>post mortem</i> em frasco de vidro com tampa e devidamente identificado com o número do brinco do bovino; B) O conteúdo biliar distribuído em frascos cônicos de 500 mL diluído em água, na proporção 1:5 mantido em repouso por 10 min.....	39
Figura 5. Isolamento dos ovos de <i>Fasciola hepatica</i> : (A) Sedimento final contendo os ovos, após as centrifugações e descarte do sobrenadante; (B) Sedimento final sendo ressuspensionado com água destilada até 5 mL para a quantificação no microscópio das três alíquotas da amostra.....	40
Figura 6. Quantificação dos ovos das três alíquotas da amostra sob microscópio óptico com aumento 40x (objetiva de 4x), utilizando um contador de células para registro, calculando o número médio de ovos no volume final.	41
Figura 7. A) Amostras de ovos de <i>Fasciola hepatica</i> acondicionados em coletores universais incubados em estufa por 28 dias, a 27°C, sem iluminação; B) Amostras de ovos de <i>Fasciola hepatica</i> acondicionados em coletores universais abertos sob luz, por 24 h para eclosão dos miracídios.....	42
Figura 8. Fases dos ovos de <i>Fasciola hepatica</i> observadas nos controles negativos com água destilada: (A) ovo não embrionado (B) ovo embrionado contendo o miracídio (ponta da seta) e ovo eclodido (seta).....	43
Gráfico 1. Variação da Atividade Ovicida (%) de ovos de <i>Fasciola hepatica</i> expostos a diferentes concentrações de Fluopsina C	45
Quadro 1. Caracterização da origem geográfica dos animais segundo município e região.....	46

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Valores da Atividade Ovicida (%) das 20 amostras testadas com as concentrações de 0,25, 0,50, 1,00 2,00 4,00 e 8,00 ug/mL de Fluopsina C.....43

Tabela 2. Percentual médio de ovos desenvolvidos e da Atividade Ovicida (AO) da Fluopsina C em diferentes concentrações.....44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABDZ	Albendazol
AO	Atividade Ovicida
ANOVA	Análise de Variância
CAV	Centro de Ciências Agroveterinárias
CET	Teste de Eficácia Controlada
CLS	Closantel
Cm	Centímetros
CMO	Concentração Mínima Ovicida
DMSO	Dimetilsulfóxido
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
FpC	Fluopsina C
h	Hora
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IgG	Imunoglobulina G
LAPAR	Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias
m	Metros
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
NTXL	Nitroxinil
OMS	Organização Mundial da Saúde
rpm	Rotações por Minuto
SIF	Serviço de Inspeção Federal
SIGEN	Sistema de Gestão de Defesa Agropecuária Catarinense
SISBOV	Sistema Brasileiro de Identificação Individual de Bovinos e Bubalinos
TCBZ	Triclabendazol
TDEO	Teste de Desenvolvimento e Eclosão dos Ovos
TRCOF	Teste de Redução na Contagem de Ovos nas Fezes
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina
W	Watt

%	Porcento
°C	Graus Celsius
µg	Micrograma
µL	Microlitro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1	AGENTE ETIOLÓGICO E CICLO BIOLÓGICO	19
2.2	EPIDEMIOLOGIA NO BRASIL E SANTA CATARINA.....	23
2.3	ASPECTOS CLÍNICOS	25
2.4	FASCIIOLOSE EM HUMANOS	26
2.5	DIAGNÓSTICO	27
2.6	TRATAMENTO E CONTROLE.....	30
2.7	RESISTÊNCIA ANTI-HELMÍNTICA.....	31
2.8	FLUOPSINA C.....	33
2.9	TESTE DE DESENVOLVIMENTO E ECLOSÃO DE OVOS (TDEO)	35
3	OBJETIVOS	36
3.1	OBJETIVO GERAL.....	36
3.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	36
4	MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1	COLETA DAS AMOSTRAS.....	37
4.2	ISOLAMENTO DOS OVOS DE <i>F. HEPATICA</i>	37
4.3	TESTE DE DESENVOLVIMENTO E ECLOSÃO DE OVOS (TDEO) E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE OVICIDA (AO)	40
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
5	RESULTADOS.....	43
6	DISCUSSÃO	47
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	52

1 INTRODUÇÃO

A fasciolose é uma enfermidade causada pelo trematódeo *Fasciola hepatica*, que apresenta ciclo de vida indireto e requer caramujos de água doce da família Lymnaeidae como hospedeiros intermediários. Os parasitos adultos localizam-se no interior das vias biliares de animais de sangue quente, com maior frequência em ruminantes (Mas-Coma; Bargues, 1997).

Trata-se de uma importante doença parasitária zoonótica transmitida por água e alimentos, considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma das doenças tropicais altamente negligenciada (WHO; 2020). É uma enfermidade de distribuição cosmopolita, predominante em zonas temperadas com temperaturas amenas, bem como áreas mais frias de alta altitude nos trópicos e subtrópicos (Mas-Coma; Bargues, 1997).

Estima-se um impacto econômico anual superior a US\$ 3,2 bilhões na produção mundial, decorrente da condenação de fígados em abatedouros (Mehmood *et al.*, 2017). No Brasil as perdas econômicas estão estimadas em US\$ 210 milhões por ano, com maior impacto nos estados de Rio Grande do Sul, Espírito Santo e Santa Catarina, devido à redução no ganho de carcaça e à condenação hepática (Molento *et al.*, 2018).

A fasciolose é considerada endêmica na região do Sul do Brasil, local que apresenta condições ambientes favoráveis à presença dos hospedeiros intermediários (Alba *et al.*, 2020; Almeida *et al.*, 2024; Medeiros *et al.*, 2014). O estado de Santa Catarina, localizado nessa região, possui um rebanho estimado em 4.540.794 ruminantes, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2023).

O controle da enfermidade é realizado predominantemente pela aplicação de anti-helmínticos nos animais parasitados, principalmente os benzimidazóis. No entanto o uso excessivo e/ou inadequado, aliado à movimentação de animais sem adequada fiscalização, e à falta de estratégias terapêuticas baseadas em diagnósticos, têm favorecido o surgimento de casos de resistência (Cabada *et al.*, 2016; Fairweather *et al.*, 2020; Kelley *et al.*, 2016; Ramadan *et al.*, 2019).

A busca por novas moléculas fasciolícidas torna-se necessária diante deste cenário. A Fluopsina C (FpC) é um composto organocúprico, sendo um metabólito secundário produzido por diferentes bactérias, como *Pseudomonas* spp. e

Streptomyces spp., quando expostas a excesso de cobre (Afonso *et al.*, 2022; Egawa *et al.*, 1970; Gionco *et al.*, 2017).

Estudos prévios, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, demonstraram que a FpC apresenta atividade antimicrobiana (Afonso *et al.*, 2024; Navarro *et al.*, 2019; Navarro *et al.*, 2020), antineoplásica (Lima *et al.*, 2022; Ma *et al.*, 2013) e antitopatogênica (Pistori *et al.*, 2018). Navarro *et al.* (2019) também avaliaram a ação da FpC em larvas de *Tenebrio molitor*, demonstrando alta mortalidade.

Em um ensaio preliminar, foi detectada atividade ovicida de FpC em ovos de *F. Hepatica* nas concentrações de 5,00 µg/ml and 20,00 µg/ml (Chryssafidis, comunicação pessoal). Essa evidência sustenta o potencial da FpC como uma alternativa promissora no controle da fasciolose.

Assim, este estudo teve como objetivo avaliar a atividade ovicida (AO) *in vitro* da FpC, verificando sua capacidade de inibir o desenvolvimento e a eclodibilidade dos ovos de *F. hepatica* isolados de bovinos naturalmente parasitados, por meio do teste de desenvolvimento e eclosão de ovos (TDEO).

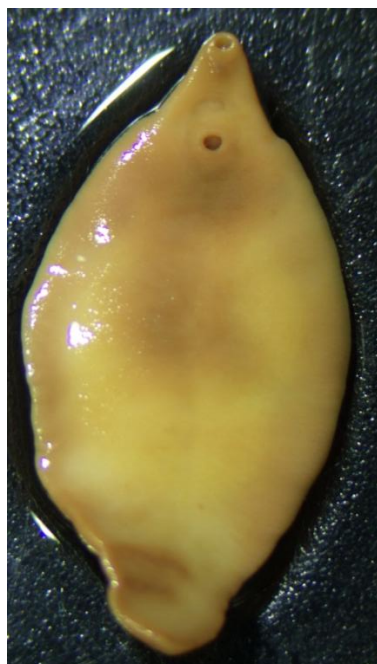
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 AGENTE ETIOLÓGICO E CICLO BIOLÓGICO

F. hepatica e *F. gigantica* pertencem ao Reino Animalia, Filo Platyhelminthes, Classe Trematoda, Ordem Echinostomida e Família Fasciolidae, sendo as duas principais espécies responsáveis pela fasciolose, uma enfermidade parasitária que acomete animais e humanos. *F. hepatica* está presente em todo o mundo, predominando em zonas temperadas e em áreas mais frias de alta altitude nos trópicos e regiões subtropicais, enquanto *F. gigantica* é encontrado exclusivamente em regiões tropicais, principalmente em Ásia e África (Mas-Coma; Bargues, 1997). No entanto, há relatos de hibridização entre as espécies, resultante do cruzamento entre *F. hepatica* e *F. gigantica*, gerando descendentes geneticamente mistos. Esse fenômeno ocorre principalmente em áreas onde ambas infectam os mesmos hospedeiros definitivos e compartilham hospedeiros intermediários, abrangendo regiões da Ásia, África e Oriente Médio (Ashrafi *et al.*, 2004; Calvani; Slapeta, 2021; Walker *et al.*, 2008).

As fascíolas jovens excistadas têm 1–2 mm de comprimento, assemelhando-se a uma lanceta. Já a forma adulta tem o corpo achatado, com formato de folha, coloração acastanhada, amarelada ou marrom-acinzentada quando conservada, com cerca de 2,50 –3,50 cm de comprimento por 1,50 cm de largura. O tegumento é coberto por espinhos auxiliando na fixação nos ductos biliares. A extremidade anterior é mais pontiaguda com duas ventosas, a oral e a ventral (Figura 1). A ventosa oral desempenha papel fundamental na alimentação e excreção, enquanto a ventosa ventral é caracterizada principalmente como um órgão de fixação. Ambas contribuem para os movimentos migratórios do parasito (Mas-Coma; Bargues, 1997; Robinson *et al.*, 2022; Sangster *et al.*, 2022; Taylor *et al.*, 2022).

Figura 1. *Fasciola hepatica* adulta com o corpo achatado com formato de folha, coloração marrom acinzentada com duas ventosas, a oral e a ventral.



Fonte: Própria autora (2025).

Seu sistema nervoso é composto por um par de gânglios que emergem a partir da faringe, abaixo da ventosa oral. Já o sistema digestório consiste na abertura oral que se comunica com a faringe, esôfago e um par de ceco ramificado, com terminação cega. São hermafroditas, com os testículos e o ovário multirramificados, com cirro bem desenvolvido. Seus ovos têm parede fina com conteúdo granular não embrionado, operculado com coloração amarelo-acastanhado e grandes ($130\text{--}150 \times 65\text{--}90 \mu\text{m}$) (Figura 2) (Mas-Coma; Bargues, 1997; Taylor *et al.*, 2022). Estudos indicam que a morfologia e a morfometria dos ovos dos trematódeos refletem fatores epidemiológicos relevantes, como o tipo de hospedeiro, a origem geográfica e a coexistência de espécies (*F. hepatica* e *F. gigantica*) (Loginova *et al.*, 2024; Valero *et al.*, 2009).

O ciclo de vida de *F. hepatica* tem duração de 14 a 23 semanas e os trematódeos da subclasse Digenea apresentam um ciclo de vida complexo envolvendo hospedeiros intermediários (Figura 3). Assim, para ocorrer o ciclo desse parasito é necessário a presença dos moluscos do Filo Mollusca, da Classe Gastropoda e Família Lymnaeidae. Algumas espécies de moluscos já foram identificadas no Brasil como *Pseudosuccinea columella*, *Galba viatrix*, *Galba cubensis*,

Galba truncatula e *Lymnaea rupestris* (Furtado *et al.*, 2015; Medeiros *et al.*, 2014; Ngcamphalala *et al.*, 2022).

Figura 2. Ovo de *Fasciola hepatica* não embrionado, operculado com coloração amarelo-acastanhado no aumento de 40x (objetiva de 4x).



Fonte: Própria autora (2025).

Os hospedeiros definitivos da fasciolose são diversas espécies de mamíferos domésticos e selvagens, destacando principalmente os ruminantes domésticos, como ovinos, bovinos e caprinos, e cervos e lebres como animais silvestres (Beesley *et al.*, 2017). No interior do hospedeiro definitivo, a *F. hepatica* adulta se aloja nos ductos biliares onde se alimenta de tecido e sangue dando início à sua produção de ovos. Esses ovos se acumulam na vesícula biliar e por meio da excreção da bile chegam ao intestino, onde são eliminados no ambiente juntamente com o bolo fecal. No ambiente, especialmente em água doce e em condições climáticas adequadas os ovos se desenvolvem. Em temperatura entre 15 e 25°C o ovo leva cerca de 9 a 21 dias para completar o seu desenvolvimento larval, formando o miracídio. Em condições inadequadas os ovos não se desenvolvem, mas podem permanecer viáveis por meses (Beesley *et al.*, 2017; Mas-Coma; Bargues, 1997; Mas-Coma *et al.*, 2019 Robison; Dalton, 2009).

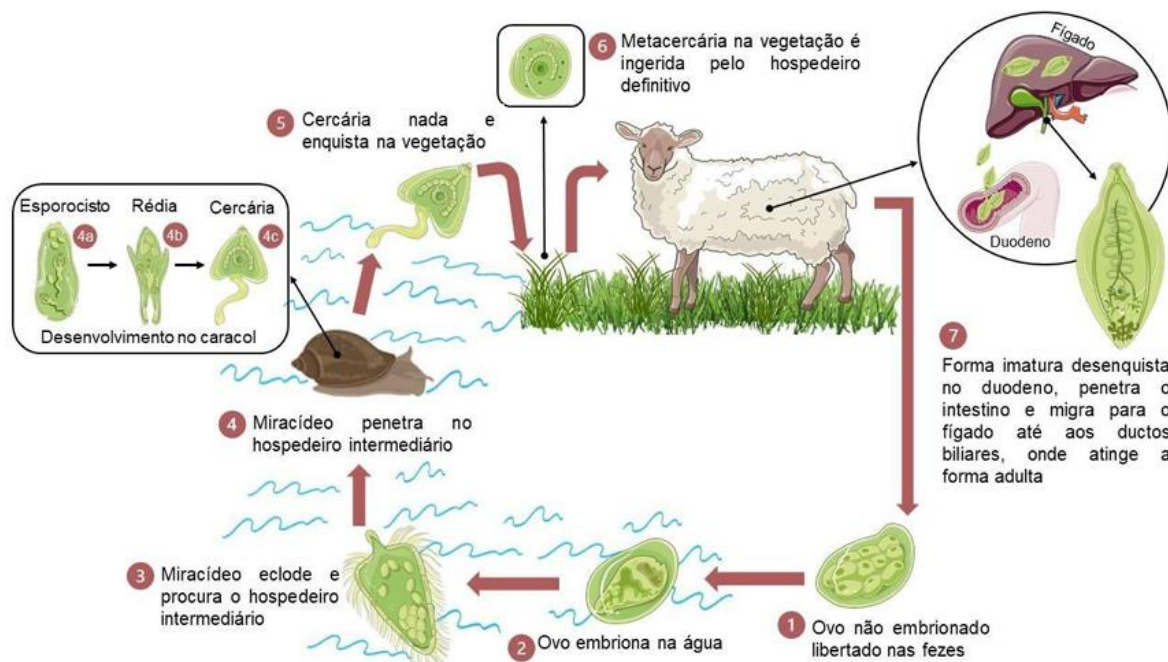
Sob estímulo luminoso e temperatura adequada, o miracídio eclode e nada em busca dos hospedeiros intermediários, os caramujos. O miracídio tem apenas 24 horas para penetrar no gastrópode, onde passa por mais três fases larvais: esporocisto, rédias e cercárias. O miracídio que penetra no gastrópode transforma-se em um esporocisto, uma estrutura alongada e pouco diferenciada, cuja principal função é atuar como unidade germinativa. A partir desse esporocisto, cerca de 200

rédias são formadas e migram para diferentes tecidos do molusco, especialmente a glândula digestiva. Alimentam-se ativamente dos tecidos do hospedeiro, e em alguns casos, de outras larvas concorrentes. As rédias passam então a produzir cercárias, por meio de multiplicação assexuada, sendo que cada rédia origina aproximadamente 20 cercárias. (Andrews *et al.*, 2022; Beesley *et al.*, 2017; Dreyfuss *et al.*, 2022; Howell; Williams, 2020).

As cercárias quando em condições de luz e temperatura adequada abandonam os caramujos e nadam até a vegetação próxima à margem da coleção de água, onde perdem a cauda e liberam substâncias cistogênicas a partir de grânulos dorsais, encistando-se na forma de metacercárias, que constituem a fase infectante do parasito (Andrews *et al.*, 2022; Beesley *et al.*, 2017; Mas-Coma; Bargues, 1997). A espécie de caramujo influencia diretamente a produção de metacercárias, a *P. columella*, um importante vetor da fasciolose na América do Sul, demonstrou gerar um número maior de metacercárias de *F. hepatica* quando comparado a *G. truncatula* (Vignoles *et al.*, 2015; Dar *et al.*, 2014).

Os hospedeiros definitivos se infectam pela ingestão das metacercárias presentes na vegetação. Após o contato com o suco gástrico, penetram na parede intestinal, atingindo a cavidade abdominal e migrando pelo peritônio em direção ao fígado. No fígado, essas formas jovens de *F. hepatica* invadem o parênquima hepática e migram durante 5 a 6 semanas, até finalmente penetrarem nos ductos biliares e completarem seu desenvolvimento até a fase adulta e sexualmente madura na vesícula biliar, momento que iniciam sua produção de ovos (Andrews *et al.*, 2022; Beesley *et al.*, 2017; Dreyfuss *et al.*, 2022; Mas-Coma; Bargues, 1997; Mas-Coma *et al.*, 2019).

Figura 3. Representação esquemática do ciclo biológico de *Fasciola* spp.



Fonte: Oliveira, 2022

2.2 EPIDEMIOLOGIA NO BRASIL E SANTA CATARINA

A fasciolose no Brasil apresenta alta frequência na região Sul, região que possui condições ambientais favoráveis à presença dos hospedeiros intermediários, principalmente *P. columella*, tais como clima temperado com temperaturas amenas (entre 10-30°C), altitudes com variação de 0 a 1900 m, alta umidade e pluviosidade média de entre 1.500 e 2.000 mm, além da presença de áreas alagadas (Alba *et al.*, 2020; Almeida *et al.*, 2024; Malone *et al.*, 1984; Medeiros *et al.*, 2014). Entre 2002 e 2020, essa região registrou o maior número de fígados de bovinos contaminados, totalizando 2.032.430 casos, dos quais 1.703.392 ocorreram no Rio Grande do Sul e 221.187 em Santa Catarina (Almeida *et al.*, 2024).

No entanto, Almeida *et al.* (2024) demonstraram uma expansão da fasciolose abrangendo todas as regiões do Brasil. Em 2002, apenas 194 municípios apresentavam casos, em 2020 esse número aumentou para 747 municípios. Esse aumento pode ter ocorrido devido a mudanças no uso da terra, como desmatamento para criação de pastagens, além da intensa movimentação de bovinos sem inspeção sanitária, o que favorece a introdução do parasito em áreas não endêmicas (França *et al.*, 2021; Skidmore *et al.*, 2021).

Fatores adicionais, como a adaptabilidade do parasito a novos ambientes e hospedeiros, a presença de corpos d'água em áreas de pastagens e fatores sociais, também contribuíram para a dispersão (Alba *et al.*, 2020). Há registros de *P. columella* nas regiões Sul, Sudeste, Oeste, Norte e Nordeste do Brasil (Ngcamphalala *et al.*, 2022; Medeiros *et al.*, 2014). Em Santa Catarina, Arruda *et al.* (2021) relataram o primeiro registro de *P. columella* nos municípios de Lages, Pains e São Joaquim, localizados no Planalto Serrano Catarinense, região Sul do país. Esses caramujos são encontrados em locais alagadiços, como áreas pantanosas, margens de rios e lagos, lagoas ou represas naturais/artificiais, e apresentam uma alta adaptabilidade, sendo abundantes em épocas chuvosas (Ngcamphalala *et al.*, 2022).

A fasciolose gera perdas econômicas estimadas em US\$ 210 milhões por ano, com prevalências significativas na região Sul do país, especialmente nos estados de Rio Grande do Sul, Espírito Santo e Santa Catarina (Molento *et al.*, 2018). Em animais de produção, principalmente ruminantes, ocorre perdas econômicas pela queda na produção de leite e carne, além de problemas reprodutivos (Charlier *et al.*, 2007; May *et al.*, 2019). Estudos demonstram que bovinos infectados apresentam pior conformação de carcaça, menor escore de gordura e redução média de 49,8kg no peso da carcaça de bovinos positivos, em comparação aos animais tratados (Molento *et al.*, 2020; Costa *et al.*, 2019).

O estado de Santa Catarina apresenta maior concentração de casos nas regiões Sul e Sudeste do estado (Silva *et al.*, 2020). Albuquerque *et al.*, (2022a, 2022b) demonstraram, no município de Orleans, localizado no sul do estado, uma soroprevalência de 27,78% (137/460 animais) e uma prevalência de bovinos infectados por fasciolose em abatedouros em 10,81% (2.699 positivos em 24.961 animais abatidos).

Já a Mesorregião Serrana de Santa Catarina, situada no sudeste do estado, era considerada livre da fasciolose (Agudo-Padrón *et al.*, 2013). Contudo, Silva *et al.*, (2020), com base em informações do Sistema Federal de Inspeção (SIF) provenientes de abatedouro regionais, classificaram Santa Catarina como um estado endêmico para a enfermidade. Neste estudo, não foi avaliado a movimentação dos bovinos positivos, tampouco se estabeleceu se os casos identificados eram autóctones na região.

Em contraste, Américo *et al.*, (2022) verificaram uma prevalência de 9,2% (178/1.927) na Mesorregião Serrana, confirmando que todos os casos eram de origem local por meio da investigação da movimentação dos animais. Essa prevalência foi determinada a partir de testes *in vivo*, o que contribuiu para um melhor controle epidemiológico e para a conscientização dos produtores, além de favorecer a rentabilidade por meio do diagnóstico e tratamento precoces dos animais infectados.

Diversos fatores influenciam a ocorrência dessa parasitose, como o sexo e a idade. Bovinos com mais de 3 anos apresentam maior risco de infecção, e as fêmeas tendem a ser mais acometidas do que os machos, possivelmente devido à sua maior longevidade e de fatores fisiológicos, como alterações imunológicas e hormonais associados aos períodos de gestação e lactação. Além disso, sistemas de produção com ciclo completo e manejo extensivo, caracterizados pelo acesso irrestrito à água e às pastagens, favorecem o contato com os hospedeiros intermediários. A movimentação de animais entre propriedades também contribui para o aumento da ocorrência da doença. (Albuquerque *et al.*, 2022a; Albuquerque *et al.*, 2022b; Diaz-Quevedo *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2020). Na América do Sul e África é encontrada essa parasitose em altas altitudes, acima de 3,820 m do nível do mar dependendo das temperaturas locais (Bargues *et al.*, 2021; Bennema *et al.*, 2017).

2.3 ASPECTOS CLÍNICOS

A patogenia e os sinais clínicos da fasciolose dependem da carga parasitária, da resposta imune do hospedeiro e, principalmente, da fase de desenvolvimento do parasito. O período de incubação pode variar de dias a meses, e é classificado em duas fases: aguda e crônica (Siles-Lucas *et al.*, 2021; Mas-Coma *et al.*, 1997).

A fase aguda ocorre após a ingestão das metacercárias com duração aproximada de dois a quatro meses. É caracterizada pela migração das formas jovens de *F. hepatica*, que penetram a parede intestinal, alcançam o peritônio e migram pelo parênquima hepático até atingirem os ductos biliares (Mas-Coma *et al.*, 2019). Durante essa fase, o indivíduo parasitado pode apresentar diferentes sinais clínicos, como febre, dor abdominal intensa, falta de apetite e diarreia (Mas-Coma *et al.*, 2019; Harrington *et al.*, 2017).

Em ovinos, a fasciolose pode se manifestar nas formas aguda e fase subaguda. A fase aguda ocorre após grande ingestão de metacercárias (acima de duas mil),

resultando na migração intensa das formas jovens pelo parênquima e extensa destruição tecidual por um período de duas a seis semanas (Amarante *et al.*, 2014; Fiss *et al.*, 2013; Taylor *et al.*, 2022).

A fase subaguda, por sua vez, ocorre após a ingestão prolongada de aproximadamente quinhentas a mil metacercárias e apresenta duração de seis a dez semanas. Nessa fase, enquanto algumas fasciola jovens alcançam os ductos biliares para completar o ciclo, outras ainda permanecem migrando pelo parênquima hepático, ocasionando lesões semelhantes às observadas na forma aguda. Clinicamente, os ovinos podem apresentar perda de peso, palidez das mucosas, apatia, tremores musculares e edema submandibular e ascite, sinais decorrentes de anemia e hipoalbuminemia severas, podendo evoluir para a mortalidade (Amarante, 2014; Fiss *et al.*, 2013; Taylor *et al.*, 2022).

A fase crônica da fasciolose manifesta-se após meses ou anos de infecção e está associada à modulação da resposta imune do hospedeiro pelo parasito (Dalton *et al.*, 2013; Taylor *et al.*, 2022). Nessa fase, os exemplares adultos de *F. hepatica* localizam-se nos ductos biliares, promovendo inflamação e hiperplasia dos ductos, o que resulta em colangite e colecistite. Trata-se da forma mais comum da doença podendo ser assintomática ou apresentar sinais clínicos como anemia, icterícia, perda de peso e queda na produtividade (Siles-Lucas *et al.*, 2021).

Dessa forma, tanto a migração das formas jovens quanto a presença dos helmintos adultos nos ductos biliares ocasionam lesões mecânicas decorrentes da destruição tecidual, caracterizadas por hiperplasia e calcificação dos ductos, além de diferentes graus de fibrose, resultantes do processo de reparação tecidual. Essas alterações culminam na condenação do fígado no momento do abate dos animais (Martins; Sperandio, 2024).

2.4 FASCILOSE EM HUMANOS

A fasciolose é uma importante zoonose transmitida por alimentos e considerada altamente negligenciada (WHO; 2020). Os humanos são considerados hospedeiros acidentais, e a população em risco é composta, em geral, por pessoas que vivem em áreas endêmicas para fasciolose humana, sendo alguns fatores predisponentes como as condições climáticas adequadas, a presença de caramujos no ambiente, o compartilhamento de fontes de água com animais e hábitos alimentares como o

consumo de vegetais e verduras, como o agrião, contaminados com as metacercárias (Mas-Coma; Bargues, 1997; Robinson; Dalton, 2009).

Assim como nos animais, em humanos a doença decorre das lesões resultantes da migração das fasciolas jovens e pela presença persistente do helminto adulto no sistema biliar. O trematódeo adulto pode sobreviver até 10 anos nos ductos biliares, resultando em colangite crônica e fibrose (Hughes *et al.*, 2020). Em alguns casos, o acúmulo do parasito pode gerar colestase, acompanhada de processos inflamatórios e risco de sepse biliar (Hughes *et al.*, 2020; Lefryekh *et al.*, 2017; Mas-Comas *et al.*, 2019).

Durante a fase migratória, podem ocorrer localizações aberrantes em diversos órgãos, como o tecido subcutâneo, coração, cérebro, pulmões, pâncreas, baço, olhos e músculos. Em casos raros, o hospedeiro pode apresentar sintomas neurológicos como cefaleia, hemorragia subdural e hemorragia intracerebral (Hughes *et al.*, 2020).

No Brasil, a notificação não é obrigatória e a fasciolose é considerado uma doença subdiagnosticada. Entre 1950 e 2016, apenas 48 casos de fasciolose em humanos foram diagnosticados, dos quais 21 (43.7%) ocorreram na região Sul do país. (Pritsch; Molento, 2018). Em 2019, foi relatado o primeiro caso de fasciolose em humanos em Santa Catarina, no município de Balneário Piçarras, uma área com alta prevalência da doença em animais (Pritsch *et al.*, 2019).

É uma doença pouco conhecida pelos profissionais da saúde e, por não gerar sinais patognomônicos, sendo frequentemente assintomática ou oligossintomática, o diagnóstico torna-se difícil (Mas-Coma *et al.*, 2005; Pritsch; Molento, 2018). A prevenção e controle dessa zoonose baseiam-se no manejo de gastrópodes em áreas de cultivo de plantas aquáticas em zonas endêmicas, na higienização rigorosa de vegetais frescos, consumo de água potável e na atuação da vigilância ambiental (Mas-Coma *et al.*, 2005; Pritsch *et al.*, 2019).

2.5 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da fasciolose pode ser realizado por diferentes técnicas, incluindo métodos diretos e indiretos. O quadro clínico pode auxiliar, especialmente em áreas endêmicas; no entanto, o diagnóstico baseado somente na apresentação clínica é propenso a erros devido à falta de sinais patognomônicos. Portanto, o diagnóstico ideal envolve a associação do histórico do indivíduo das condições

ambientais (presença do caramujo e acesso a pastagens alagadas) com exames laboratoriais para confirmação (Mas Coma *et al.*, 2014; Siles-Lucas *et al.*, 2021).

Os métodos diretos consistem na pesquisa e visualização de ovos nas fezes por microscopia, podendo ser realizados pela técnica de sedimentação ou pela técnica dos quatro tamises (Hoffman *et al.*, 1934; Girão; Ueno, 1985). Godinho *et al.*, 2024 demonstraram que a técnica dos quatro tamises apresenta maior sensibilidade e atribuíram a menor eficiência da sedimentação ao fato de que apenas uma pequena fração do sedimento é analisada.

Essa limitação também pode estar relacionada à eliminação irregular dos ovos nas fezes e da detecção restringir-se à fase crônica, quando o animal já se encontra parasitado por formas adultas produtoras de ovos (Siles-Lucas *et al.*, 2021; Valero *et al.*, 2009). Nesse contexto, estratégias para aprimorar a sensibilidade, inclui o uso do dobro do volume de fezes recomendado e a aplicação de azul de metileno 1% o que facilita a leitura ao evidenciar os ovos com coloração amarelada em contraste com o sedimento azul (Calvani *et al.*, 2018; Japa *et al.*, 2020)

As técnicas coproparasitológicas não permitem estabelecer correlação entre a carga parasitária e a contagem de ovos nas fezes (Kahl *et al.*, 2023). É importante ressaltar que, após o tratamento e morte das fascíolas adultas, os ovos podem ser encontrados nas fezes por algumas semanas, pois permanecem armazenados na vesícula biliar, fornecendo um falso-positivo (Fairweather *et al.*, 2011; Sargison *et al.*, 2012).

A morfometria constitui um critério clássico no diagnóstico direto, razão pela qual é fundamental atualizar as descrições morfológicas dos ovos e relatar a presença de novas estruturas. Nesse sentido, Loginova *et al.*, (2024), ao estudarem renas de zoológicos e populações selvagens, identificaram em ovos de *F. hepatica* um apêndice abopercular medindo entre 10 e 18 μm , facilmente perdida durante o processamento. Além da presença de uma protuberância e de um espessamento da casca no polo abopercular, que pode atingir até três vezes a espessura considerada normal.

Por sua vez, Valero *et al.*, (2009) demonstraram que o hospedeiro exerce influência sobre o tamanho dos ovos, sendo aqueles provenientes de infecções humanos em geral, maiores do que os observados em bovinos, ovinos e suínos. Os autores também relataram a ocorrência de rugosidades no polo abopercular,

entretanto não é patognomônica. Dessa forma, o diagnóstico coproparasitológico não deve basear-se na análise de poucos ovos ou em características isoladas, como o tamanho, sendo imprescindível considerar o contexto epidemiológico.

É importante destacar que os avanços dos métodos moleculares permitiram a identificação de espécies, híbridos e formas partenogenéticas, além do monitoramento da resistência (Ali *et al.*, 2025; Charlie *et al.*, 2013).

O diagnóstico *post mortem* é possível por meio dos achados durante a inspeção em abatedouros, momento em que todos os órgãos e tecidos são examinados imediatamente após o abate. Na inspeção do fígado, realizam-se cortes nos ductos biliares, permitindo observar parasitos adultos, o que leva ao descarte e condenação do órgão. Também é feita a avaliação macroscópica do fígado e, mesmo na ausência do parasito, órgãos que apresentam lesões compatíveis com fasciolose, como fibrose e calcificação dos ductos biliar, são condenados (Brasil, 2020).

Como diagnóstico indireto, podem ser utilizados testes sorológicos com o objetivo de detectar anticorpos circulantes (Espino; Finlay, 1994). Esses testes detectam a Imunoglobulina G (IgG) anti-*F. Hepatica*, permitindo o diagnóstico na fase pré-patente, podendo ser empregado soro ou o leite do animal (Charlie *et al.*, 2007; Graham-Brown *et al.*, 2019). Como os níveis de IgG podem persistir por 2 a 4 semanas e até 8 meses após o tratamento, essa técnica não diferencia infecção ativa de inativa (Graham-Brown *et al.*, 2019; Salimi-Bejestani *et al.*, 2008).

Os testes sorológicos são fundamentais para triagem e utilizados principalmente em estudos epidemiológicos, como o ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) (Charlier *et al.*, 2008; 2014). O ELISA indireto permite a detecção de anticorpos contra *F. hepatica* e existem kits comerciais disponíveis para uso em diagnóstico veterinário, conforme revisões bibliográficas recentes (Rufino-Moya *et al.*, 2024)

É importante destacar, o desenvolvimento de técnicas diretas baseada em ELISA para a identificação de coproantígenos. Embora utilizem metodologia imunológica, esses testes são considerados métodos diretos, uma vez que detectam produtos excretórios e secretórios liberados pelos helmintos adultos no hospedeiro. Esses antígenos são capazes de desencadear respostas imunológicas, permitindo a detecção de anticorpos nas fezes (Lalor *et al.*, 2021). Nos últimos anos,

diversos estudos têm avaliado a aplicação de técnicas de ELISA para identificação desses coproantígenos (Kelley *et al.*, 2021).

2.6 TRATAMENTO E CONTROLE

O tratamento consiste no uso de drogas anti-helmínticas com atividade terapêutica. Atualmente, existem compostos disponíveis comercialmente pertencentes ao grupo dos benzimidazóis, como albendazol (ABDZ) e o triclabendazol (TCBZ); dos fenois halogenados, como nitroxinil (NTXL); das salicilanilidas, como o closantel (CLS), a oxilozanida e a rafoxanida; e das sulfonamidas, o clorsulon (Castro-Hermida *et al.*, 2021)

Todas essas drogas são eficazes contra as formas adultas ou formas jovens da *F. hepatica*, somente o TCBZ é efetivo tanto contra as formas adultas quanto contra formas imaturas, com ação a partir de 2 dias após a infecção (Boray *et al.*, 1983). O TCBZ é o fármaco mais amplamente utilizado no tratamento de fasciolose animal (Caravedo; Cabada, 2020), além de ser a droga recomendada para o tratamento de fasciolose humana (WHO, 2007). Cabe destacar, ainda, que a associação de NTXL com clorsulon apresenta atividade adicional contra as formas imaturas (Kelley *et al.*, 2016).

O controle da fasciolose por meio do uso exclusivo de TCBZ favoreceu o surgimento de casos de resistência, tanto em animais (Fairweather *et al.*, 2020; Kelley *et al.*, 2016) quanto em humanos (Cabada *et al.*, 2016; Ramadan *et al.*, 2019). Informações adicionais sobre os relatos de resistência serão apresentados a seguir.

Diante desse cenário, surge a necessidade de adoção de outros métodos de controle. O controle da fasciolose em países endêmicos deve focar na mitigação dos fatores de risco associados à enfermidade (Caravedo; Cabada, 2020).

O manejo adequado do pastoreio pode contribuir para a redução da exposição dos animais ao helminto, por meio do isolamento de áreas de risco associada a presença de caramujos e à potencial contaminação, como riachos e locais alagados. O fornecimento de água tratada em bebedouros, também constitui uma medida importante para prevenir infecções e reinfecções (Mas-Coma, 2005; Knubben-Schweizer *et al.*, 2010). A drenagem de corpos d'água é indicada, embora de difícil implementação em áreas endêmicas (Caravedo; Cabada, 2020). No Brasil, a drenagem de áreas úmidas é considerada ilegal por resultar na degradação ou

destruição do ecossistema ou de suas funções hídras e ecológicas. Intervenções em áreas de preservação permanente ao redor de cursos d'água e nascentes são vedadas, e sendo admitidas apenas mediante autorização e licenciamento dos órgãos ambientais de acordo com o Código Florestal Brasileiro (Brasil, 2012).

Estratégias de controle de caramujos por meio de agentes químicos, os moluscicidas, geram graves impactos ambientais adversos (Howell; Williams, 2020). Como alternativa, pode-se utilizar a introdução de predadores, como aves anseriformes e peixes, que atuam como controles biológicos ingerindo os gastrópodes (Rai *et al.*, 1996).

É importante ressaltar que a ausência de fiscalização e vigilância por parte dos órgãos componentes no transporte de animais entre regiões endêmicas e livres, contribui para a disseminação da zoonose (Freitas *et al.*, 2014). Deve-se enfatizar, também que animais recém-adquiridos, destinados à introdução nas propriedades, devem ser submetidos a exames sorológicos ou coproparasitológicos para detecção da fasciolose, além de permanecerem em quarentena e/ou receberem tratamento adequado, a fim de, reduzir o risco de transmissão da doença (Howell; Williams, 2020; Kelley *et al.*, 2021). Portanto, a combinação dessas técnicas de controle com o uso de estratégico de anti-helmínticos durante a primavera, que apresenta condições ambientais adequadas para o desenvolvimento dos hospedeiros intermediários, prevenindo o ciclo; geralmente têm se mostrado eficazes no controle da enfermidade (Sargison, 2012).

2.7 RESISTÊNCIA ANTI-HELMÍNTICA

Nas últimas duas décadas, surgiram relatos crescentes de resistências aos anti-helmínticos, gerando um cenário atual de preocupação. Acredita-se que alguns fatores tenham favorecido o surgimento dessa resistência, como o uso excessivo e prolongado de TCBZ, devido à sua ação contra todas as fases do parasito; a alta pressão de infecção ambiental decorrente de manejo inadequado e estratégias de tratamentos não baseadas em diagnósticos (Fairweather *et al.*, 2020; Kelley *et al.*, 2016).

O primeiro relato de resistência do TCBZ, um fármaco que foi introduzido nos anos 1980, ocorreu na Austrália em 1995. Desde então, foram registrados casos em diversos países da Europa, África e América do Sul, tanto em ovinos quanto em

bovinos (Álvarez-Sánchez *et al.*, 2006; Brockwell *et al.*, 2014; Elliott *et al.*, 2015; Fairweather *et al.*, 2020; Gordon *et al.*, 2012; Kelley *et al.*, 2016, 2020; Larroza *et al.*, 2023; Mitchell *et al.*, 1998; Moll *et al.*, 2000; Olaechea *et al.*, 2011; Ortiz *et al.*, 2013; Overend; Bowen, 1995; Romero *et al.*, 2019). Casos de falha terapêutica do TCBZ em humanos são raros, mas preocupantes pois indicam que a resistência não se limita à pecuária (Cabada *et al.*, 2016; Gil *et al.*, 2014; Winkelhagen *et al.*, 2012; Ramadan *et al.*, 2019). Um estudo recente evidenciou que casos de fasciolose humana resistente ao TCBZ possuem origem zoonótica, estando associados à circulação de parasitos resistentes em reservatórios animais tratados repetidamente (Kumar *et al.*, 2025).

Relatos de resistência do ABDZ foram registrados na Argentina, Espanha e Suécia (Álvarez-Sánchez *et al.*, 2006; Martínez-Valladares *et al.*, 2014; Novobilský *et al.*, 2012, 2016; Robles-Pérez *et al.*, 2014; Sanabria *et al.*, 2013). Registros de resistência de CLS são raros, mas foram descritos em ovinos na região da Suécia (Novobilský; Höglund, 2015).

No Brasil, foi registrado no município de Almirante Tamandaré, estado do Paraná, em 2008, baixa eficácia do TCBZ em ovinos e caprinos, mesmo sem histórico prévio de uso do medicamento na fazenda (Oliveira *et al.*, 2008). Chrysafidis *et al.* (2023), na região do Planalto Serrano, em Santa Catarina, demonstraram isolados resistentes ao Triclabendazol com Fenbendazol, nas cidades de Capão Alto e Lages, além de resistência indeterminada ao ABDZ e ao NTXL.

O mecanismo de ação dos fenois halogenados, como o NTXL, e das salicilanilidas, como o CLS, a oxilozanida e a rafoxanida, consiste no desacoplamento da fosforilação oxidativa na membrana mitocondrial. Já as sulfonamidas, como o clorsulon, inibem enzimas envolvidas na glicólise (Fairweather; Boray, 1999; Mckellar; Kinabo, 1991). Os benzimidazóis, como o ABDZ e o TCBZ, atuam como inibidores da tubulina do trematódeo, inibindo a formação de microtúbulos, os quais se tornam incapazes de transportar grânulos secretores ou secretar enzimas no citoplasma celular, resultando em lise celular (Lacey, 1990).

Fairweather *et al.* (2020) descrevem que a resistência é multifatorial e citam três possíveis mecanismos de resistência ao TCBZ: alterações na ligação à tubulina, alterações na absorção do fármaco e modificação do metabolismo do fármaco. É importante diferenciar a falta de eficácia anti-helmíntica da resistência. A falta de

eficácia ocorre devido à subdosagem, falha na administração ou armazenamento inadequado (Sargison, 2012).

Diante desse cenário, o diagnóstico da resistência anti-helmíntica ou da redução da eficácia, torna-se essencial. Podem ser utilizados testes *in vivo* ou *in vitro* para esse diagnóstico. Como testes *in vivo*, destaca-se o teste de redução na contagem de ovos nas fezes (TRCOF) e como teste padrão ouro o teste de eficácia controlada (CET). Como teste *in vitro*, utiliza-se o teste de desenvolvimento e eclosão dos ovos (TDEO) (Burden *et al.*, 2024; Canevari *et al.*, 2013; Ceballos *et al.*, 2019; Coles *et al.*, 2006; Chryssafidis *et al.*, 2015; 2023; Fortes; Molento, 2013; Fairweather, 2011; 2020).

2.8 FLUOPSINA C

Devido ao frequente aumento de relatos de resistência, novas alternativas ao tratamento da fasciolose têm sido investigadas como a FpC. Trata-se de um metabólito secundário descoberto por Egawa *et al.* (1970), extraído de culturas de *Pseudomonas* MCRL 10107. Inicialmente foi denominada como antibiótico YC 73, posteriormente antibiótico B1 (Del Rio *et al.*, 1972) ou composto antibiótico organocúprico (Oliveira *et al.*, 2016).

Atualmente, são descritas várias espécies do gênero *Pseudomonas* spp. e uma espécie de *Streptomyces* como produtoras desse metabólito na presença de cobre (Afonso *et al.*, 2022; Gionco *et al.*, 2017; Miyamura *et al.*, 1972; Otuska *et al.*, 1972; Pistori *et al.*, 2018). A cepa *Pseudomonas aeruginosa* LV, isolado de lesões de cancro cítrico no Paraná, Brasil, é uma das mais estudadas (Afonso *et al.*, 2022; Rampazo, 2004).

Essas bactérias, em ambientes com altos níveis de cobre, realizam biorremediação desse excesso intracelular produzindo FpC. Estudos demonstram que ocorre uma reação entre os íons de cobre e duas moléculas de sideróforo tioformina (ácido N-metiltioformo-hidroxâmico), envolvido no transporte de íons de ferro na membrana de algas, fungos e bactéria. A presença do cobre intracelular gera a hiperexpressão de nove genes relacionados ao sistema de transporte de íons metálicos, envolvidos no processo de lixiviação do cobre, para garantir a sobrevivência da célula bacteriana, sendo que a produção deste metabólito confere

vantagem competitiva frente a outros microrganismos (Afonso *et al.*, 2022; Patteson *et al.*, 2021; Gionco *et al.*, 2017).

O processo de obtenção da FpC consiste no cultivo bacteriano em presença de cobre no meio de cultura. Após o crescimento, o sobrenadante é separado por centrifugação e filtração, e em seguida, extraído com solvente orgânico, como acetato de etila, que retira os metabólitos secundário da fase aquosa. O solvente é extraído gerando um extrato bruto, o qual é posteriormente fracionado por cromatografia. A otimização do processo de purificação da FpC resultou na obtenção de diferentes frações semipurificadas contendo FpC associada a outros metabólitos: F3 (Cardozo *et al.*, 2013; Lopes *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2011; Vasconcellos *et al.*, 2014), F3d (Oliveira *et al.*, 2016; Kerbauy *et al.*, 2016) e F4A (Munhoz *et al.*, 2017; Navarro *et al.*, 2020; Pistori *et al.*, 2018).

A fração F3 contém FpC como composto ativo, embora ainda constitua uma mistura com outros metabólitos de ação promissora contra fitopatógenos, especialmente bactérias do gênero *Xanthomonas* (Lopes *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2011; Vasconcellos *et al.*, 2014). A subfração mais potente é a F3d, que apresenta em sua composição fenazina-1-carboxamida e 30% de FpC (Afonso *et al.*, 2022; Oliveira *et al.*, 2016). Kerbauy *et al.* (2016) demonstraram que a FpC é responsável pela atividade antimicrobiana da fração F3d, enquanto a fenazina não apresentou efeito. Já a fração F4A, obtida por cromatografia líquida a vácuo, contém aproximadamente 25% de FpC associada a fenazina, com efeitos semelhantes ao observados para o composto puro (Afonso *et al.*, 2022).

No geral os metabólitos produzidos pela *P. aeruginosa* LV apresentam atividades antimicrobiana (Afonso *et al.*, 2024; Cardozo *et al.*, 2013; Egawa *et al.*, 1970; Gois *et al.*, 2013; Kerbauy *et al.*, 2016; Navarro *et al.*, 2019; Navarro *et al.*, 2020; Oliveira *et al.*, 2016; Del Rio *et al.*, 1972), atividade antifúngica (Hedman *et al.*, 2004), atividade antineoplásica (Lima *et al.*, 2022; Ma *et al.*, 2013; Miyamura *et al.*, 1972) e atividade antifitopatogênica (Lopes *et al.*, 2012; Munhoz *et al.*, 2017; Oliveira *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2016; Pistori *et al.*, 2018; Vasconcellos *et al.*, 2014).

O mecanismo de ação da FpC ainda não está totalmente elucidado, mas estudos sugerem que atua sobre as membranas celulares, gerando alterações morfológicas e aumento na permeabilidade (Afonso *et al.*, 2022; Navarro *et al.*, 2020; Oliveira *et al.*, 2016; Ma *et al.*, 2013). Os efeitos citotóxicos da molécula são pouco

estudados, assim como sua farmacologia e farmacodinâmica, mas trabalhos apontam moderada hepatotoxicidade e baixa nefrotoxicidade (Sharma, 2020; Navarro *et al.*, 2019; Ma *et al.*, 2013).

2.9 TESTE DE DESENVOLVIMENTO E ECLOSÃO DE OVOS (TDEO)

A padronização do TDEO iniciou-se com Chryssafidis *et al.* (2015), que avaliaram a capacidade de desenvolvimento embrionário e eclosão dos ovos de *F. hepatica* em diferentes condições. As amostras de ovos foram obtidas diretamente de helmintos adultos, coletados de bovinos naturalmente infectados em abatedouros (Dalton *et al.*, 1996; Hanna *et al.*, 2006). Esses ovos coletados transferidos em recipientes totalmente cobertos evitando qualquer exposição a luminosidade, que pode interferir na eclosão (Dalton *et al.*, 1996; Hanna *et al.*, 2006). Foram incubados em diferentes temperaturas, 22°C e 27°C, a primeira representando condições amenas e a segunda condições ótimas (Hanna *et al.*, 2006). Período de incubação variou de 7 a 18 dias para identificar o intervalo ideal.

A estimulação da eclosão induzida por choque térmico por adição de água fria (6 a 8°C) e exposição contínua a luz branca por 24 h, em temperatura ambiente. (Dalton *et al.*, 1996; Robles-Pérez *et al.*, 2014). Como resultados, a incubação a 27°C com 15 dias de incubação resultou em desenvolvimento e eclosão superior. Estudo recente, corrobora esses resultados, que padronizou o TDEO para avaliação da atividade ovicida (AO) de fármacos comerciais, com incubação por 28 dias a 27°C (Chryssafidis *et al.*, 2023). Esse protocolo permite a avaliação simultânea de diferentes fármacos a partir de um único animal infectado.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a concentração mínima ovicida (CMO) da Fluopsina C, utilizando o teste de desenvolvimento e eclosão de ovos (TDEO) de *Fasciola hepatica*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Coletar amostras de bile de bovinos naturalmente infectados por *F. hepatica* no momento do abate.

Realizar o TDEO, com diferentes concentrações de FpC previamente estabelecidas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 COLETA DAS AMOSTRAS

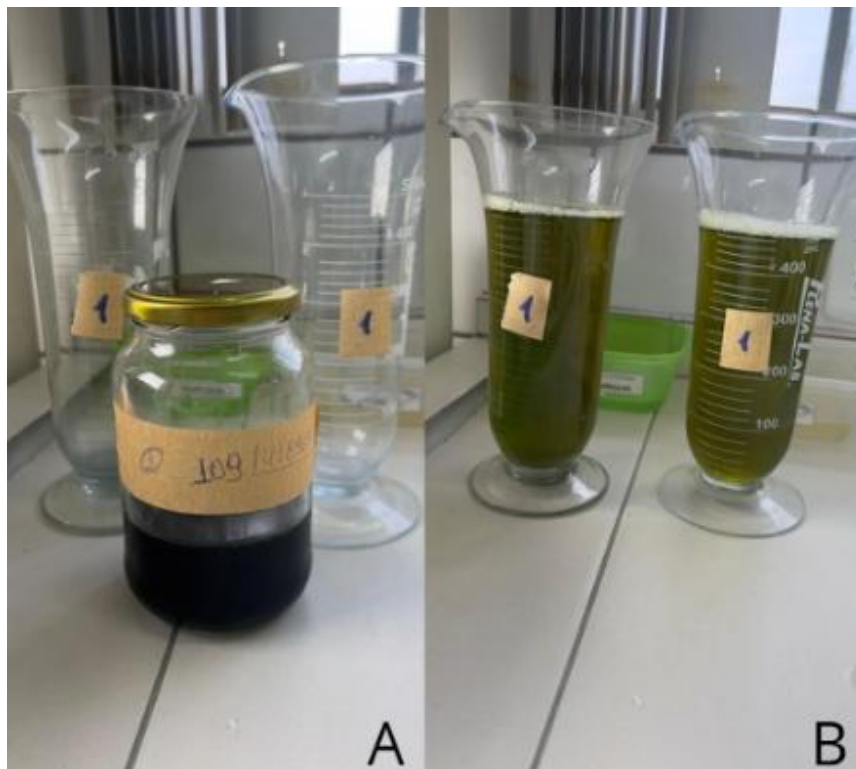
Foram coletadas 25 amostras de bile de bovinos naturalmente infectados por fasciolose, provenientes de um abatedouro localizado no município de Pouso Redondo, no estado de Santa Catarina, Brasil, entre março e julho de 2025. O estabelecimento encontra-se sob SIF, e a identificação dos animais positivos foi realizada por inspeção macroscópica dos fígados, conduzida pelo médico veterinário responsável pelo abate, e por meio da visualização dos vermes adultos após a incisão dos ductos biliares.

Após a confirmação da positividade, a bile era coletada em frascos de vidro, devidamente identificados com o número completo do brinco do respectivo animal. As amostras foram acondicionadas em caixas térmicas, e transportadas ao Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade Estadual de Santa Catarina (LAPAR-CAV-UDESC). No laboratório, as amostras foram armazenadas sob refrigeração a 4 °C até a realização das análises. Os dados referentes aos animais positivos, registrados no Sistema de Gestão da Defesa Agropecuária Catarinense (SIGEN), foram consultados para determinar a origem e movimentação dos animais por meio do Sistema de Identificação e Certificação de Bovinos e Bubalinos (SISBOV) possibilitando a caracterização do isolado por localização geográfica.

4.2 ISOLAMENTO DOS OVOS DE *F. HEPATICA*

Os ovos de *F. hepatica* foram isolados e quantificados por meio de uma modificação do método de sedimentação (Chryssafidis *et al.*, 2023). Para isso, a bile foi distribuída em frascos cônicos de vidro de 500 mL, na proporção de 1:5 (100 mL de bile para 400 mL de água) (Figura 4). O número de frascos variou de acordo com o volume bile disponível. O material foi mantido em repouso por 10 min, seguido do descarte do sobrenadante por eversão cuidadosa, preservando-se no mínimo 100 mL do pellet formado no fundo. Esse processo foi repetido duas vezes, podendo ser realizada uma terceira repetição para maior eficiência.

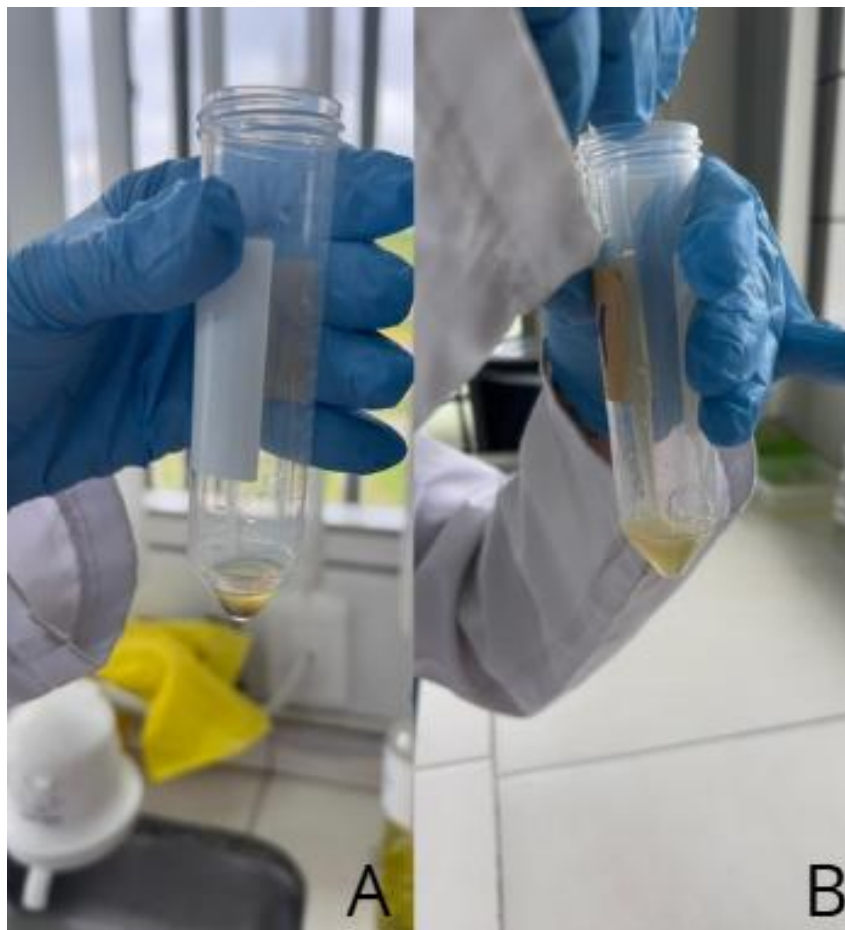
Figura 4. A) A bile de animais positivos coletada no momento da inspeção *post mortem* em frasco de vidro com tampa e devidamente identificado com o número do brinco do bovino; B) O conteúdo biliar distribuído em frascos cônicos de 500 mL diluído em água, na proporção 1:5 mantido em repouso por 10 min



Fonte: Própria autora (2025).

Na última etapa, preservou-se no mínimo 25 mL de pellet, os quais foram transferidos para tubos de centrifuga de polietileno de 50 mL. Os tubos eram pesados e balanceados com água destilada, e centrifugados por 10 min a $465 \times g$ (1500 rpm, centrífuga modelo KC8, Kindly). O sobrenadante foi descartado e os pellets resultantes foram reunidos em um único tubo com auxílio de pipeta de Pasteur. O procedimento foi realizado duas vezes. Uma nova centrifugação, nas mesmas condições, foi realizada e, em seguida, o sobrenadante foi todo descartado, sendo o volume final corrigido com água destilada até atingir 5 ou 10 ml, conforme a turbidez da amostra (Figura 5).

Figura 5. Isolamento dos ovos de *Fasciola hepatica*: (A) Sedimento final contendo os ovos, após as centrifugações e descarte do sobrenadante (B) Sedimento final sendo ressuspensionado com água destilada até 5 mL para a quantificação no microscópio das três alíquotas da amostra.



Fonte: Própria autora (2025).

Para a quantificação dos ovos, a amostra foi homogeneizada e três alíquotas de 100 μ L foram examinadas em lâminas de microscopia sob microscópio óptico em aumento de 40X (objetiva de 4X, Primostar 1, Zeiss, Alemanha (Figura 6). O número médio de ovos foi calculado pela quantificação de três alíquotas, considerando o volume total restante no tubo, sendo 5 ou 10 ml (Chryssafidis *et al.*, 2023).

Figura 6. Quantificação dos ovos das três alíquotas da amostra sob microscópio óptico com aumento 40x (objetiva de 4x), utilizando um contador de células para registro, calculando o número médio de ovos no volume final.



Fonte: Própria autora (2025).

4.3 TESTE DE DESENVOLVIMENTO E ECLOSÃO DE OVOS (TDEO) E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE OVICIDA (AO)

O TDEO foi conduzido de acordo com Chrysafidis *et al.* (2023). Cada amostra foi dividida em sete grupos: Controle (água destilada), FpC 0,25 µg/mL, 0,50 µg/mL, 1,00 µg/mL, 2,00 µg/mL, 4,00 µg/mL e 8,00 µg/mL. Os testes foram realizados em triplicata, em recipientes de polietileno de 80 mL com tampa, totalizando 21 recipientes por amostra.

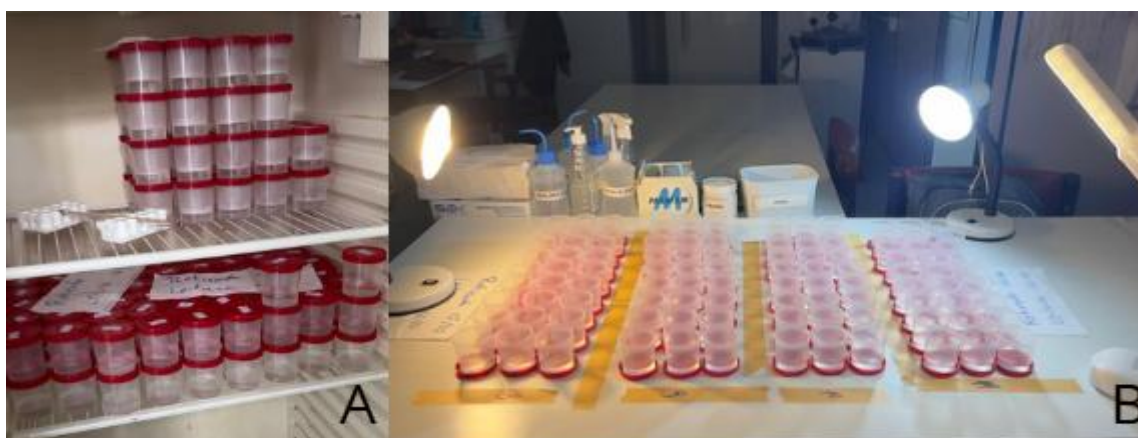
Essas concentrações foram estabelecidas com o objetivo de determinar a CMO. Em teste preliminar, observou-se efeito ovicida em concentrações elevadas de 5,00 e

20,00 µg/mL, indicando atividade biológica do composto (Chryssafidis, comunicação pessoal). A partir desse resultado, foi delineada uma faixa inferior de concentrações organizadas em diluição seriada binária, permitindo a avaliação da relação dose e efeito, com identificação da menor concentração capaz de promover efeito ovicida significativo.

A molécula de FpC, obtida de colônias da cepa LV de *P. aeruginosa* no Laboratório de Ecologia Microbiana da Universidade Estadual de Londrina, foi diluída em Dimetilsulfóxido 100% (DMSO) até as concentrações utilizadas. Em cada recipiente, foram adicionados 20 mL da solução correspondente ou água destilada (grupo controle), juntamente com 100 µL da amostra contendo aproximadamente 400 ovos de *F. hepatica*.

As amostras foram incubadas a 27° C por 28 dias, em ausência de luz. Após esse período os frascos foram expostos à luz artificial por 24 h, utilizando lâmpadas LED de 9W brancas posicionadas a cerca de 20 cm de distância para estimular a eclosão dos ovos (Chryssafidis *et al.*, 2023) (Figura 7).

Figura 7. A) Amostras de ovos de *Fasciola hepatica* acondicionados em coletores universais incubados em estufa por 28 dias, a 27°C, sem iluminação; B) Amostras de ovos de *Fasciola hepatica* acondicionados em coletores universais abertos sob luz, por 24 h para eclosão dos miracídios.

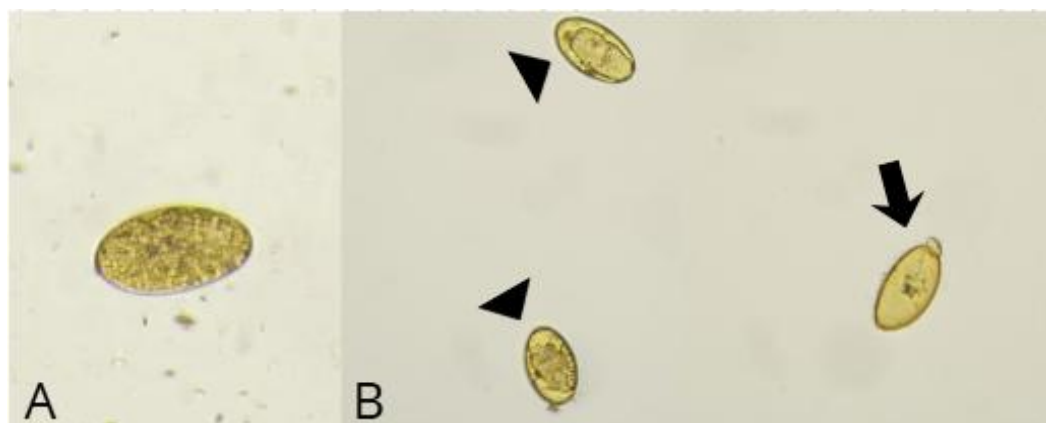


Fonte: Própria autora (2025).

Em seguida, parte do sobrenadante foi descartada por eversão, e os frascos foram examinados sob estereomicroscópio (Stemi 305, Zeiss, Alemanha). Os ovos foram examinados aleatoriamente e classificados em três categorias: “não desenvolvidos”, “embrionados” ou “eclodidos”, sendo contados até atingirem um mínimo de 100 por

amostra, utilizando-se um contador de células para registro (Chryssafidis *et al.*, 2015) (Figura 8).

Figura 8. Fases dos ovos de *Fasciola hepatica* observadas nos controles negativos com água destilada: (A) ovo não embrionado (B) ovo embrionado contendo o miracídio (ponta da seta) e ovo eclodido (seta).



Fonte: Própria autora (2025).

Para cada repetição, foi aferido o percentual de desenvolvimento, sendo calculada então a média entre as triplicatas. O grau de AO foi expresso em percentual pela somatória dos ovos embrionados e eclodidos utilizando a seguinte fórmula:

$$Atividade\ Ovicida = \frac{\% \text{ ovos controle} - \% \text{ ovos tratados}}{\% \text{ ovos controle}} \times 100$$

O percentual de desenvolvimento de cada grupo foi comparado ao respectivo controle, obtendo-se o valor de AO para cada concentração de FpC (Canevari *et al.*, 2014; Chryssafidis *et al.*, 2024).

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram organizados em planilhas no software Excel® 2019 e analisados no programa estatístico Jamovi (versão 2.6.26.0) e formulação de gráfico com Prism 5. A normalidade foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Em seguida, aplicou-se análise de variância (ANOVA) para comparar a AO entre os grupos de tratamento. Para identificar diferenças significativas entre os tratamentos e o grupo controle, utilizou-se o Teste de Tukey. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

Das 25 amostras coletadas, 20 foram utilizadas, seguindo o critério de inclusão de conter pelo menos 5.000 ovos por amostras. Os valores das AO das concentrações de FpC testadas estão na Tabela 1.

Tabela 1. Valores da Atividade Ovicida (%) das 20 amostras testadas com as concentrações de 0,25, 0,50, 1,00, 2,00, 4,00 e 8,00 ug/mL de Fluopsina C.

CONCENTRAÇÃO DE FLUOPSINA C						
AMOSTRA	0,25ug/mL	0,50ug/mL	1,00ug/mL	2,00ug/mL	4,00ug/mL	8,00ug/mL
1	12,59	15,38	95,73	98,69	100,00	100,00
2	27,92	69,30	92,08	97,36	99,63	100,00
3	11,70	3,40	64,15	100,00	97,74	99,25
4	24,40	69,07	83,85	95,53	97,94	100,00
5	10,18	32,00	78,91	99,27	99,27	100,00
6	17,86	7,14	87,50	86,79	97,50	100,00
7	9,82	9,12	23,86	81,05	25,26	100,00
8	42,11	48,50	49,25	62,41	97,74	98,12
9	-	42,48	92,11	44,74	96,24	99,62
10	32,88	0,00	25,76	68,14	100,00	100,00
11	3,73	18,64	96,61	100,00	97,97	98,98
12	1,99	56,18	88,84	97,21	95,62	99,6
13	43,7	56,3	87,4	97,64	98,82	99,21
14	-1,49	33,46	94,05	96,65	98,14	97,40
15	48,79	100,00	100,00	99,19	100,00	98,79
16	0,49	20,39	44,17	89,81	98,06	99,03
17	-3,11	63,81	92,61	100,00	100,00	100,00
18	43,02	50,00	89,92	97,29	74,42	100,00
19	9,13	48,41	25,79	78,97	98,81	100,00
20	-3,59	8,37	74,90	99,60	98,80	99,60

Fonte: Própria autora (2025).

A concentração 0,25 ug/mL contém uma amostra a menos, pois ocorreu uma falha na homogeneização no momento do preparo do TDEO, sem ovos o suficiente no momento da quantificação e classificação dos ovos.

O percentual médio de desenvolvimento embrionário e eclosão, bem como os valores da AO da FpC em diferentes concentrações estão expressas na Tabela 2. Observou-se que a AO foi dose-dependente, com redução progressiva de ovos embrionados e eclodidos, à medida que a concentração de FpC aumentava

Tabela 2. Percentual médio de ovos desenvolvidos e da Atividade Ovicida (AO) da Fluopsina C em diferentes concentrações.

Grupos (n/total) *	TDEO (média ± DP)	AO (média ± DP)
Controle (20/20)	88,88 ± 7,35 ^a	-
FpC 0,25 µg/mL (19/20)	72,82 ± 15,69 ^b	17,91 ± 17,46 ^b
FpC 0,50 µg/mL (20/20)	55,65 ± 25,59 ^c	38,91 ± 26,91 ^c
FpC 1,00 µg/mL (20/20)	22,62 ± 23,38 ^d	74,37 ± 25,94 ^d
FpC 2,00 µg/mL (20/20)	9,40 ± 13,79 ^e	89,52 ± 15,26 ^e
FpC 4,00 µg/mL (20/20)	5,87 ± 16,04 ^e	93,60 ± 17,00 ^e
FpC 8,00 µg/mL (20/20)	0,45 ± 0,64 ^e	99,48 ± 0,72 ^e

Fonte: Própria autora (2025).

Em cada grupo, valores com letras diferentes são estatisticamente diferentes ($p > 0,05$).

TDEO, teste de desenvolvimento e eclosão dos ovos; AO, atividade ovicida, DP, desvio padrão.

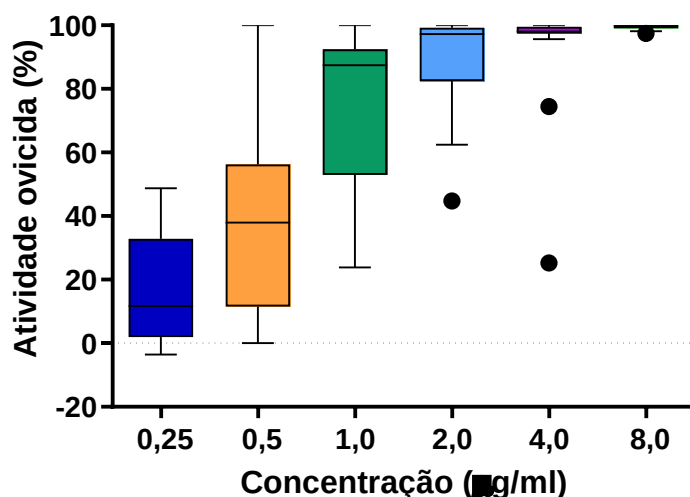
* O valor indica o número de amostras em cada categoria sobre o total de amostras avaliadas.

A análise estatística por ANOVA seguida do teste post-hoc de Tukey revelou que todas as concentrações de FpC (0,25 a 8,00 µg/mL) difeririam significativamente do grupo controle com $p < 0,001$. Isso confirma que a molécula exerceu efeito ovicida relevante em todas as doses testadas. A partir da concentração 2 µg/mL, não há mais diferenças significativas entre os grupos (2,00, 4,00 e 8,00 ug/mL), demonstrando uma estabilização do efeito.

O gráfico 1 evidencia a presença de outliers principalmente nas concentrações intermediários de FpC (2,00 4,00 e 8,00 µg/mL), refletindo a variabilidade na AO, possivelmente por características próprias do isolado. Valores extremos inferiores, incluindo resultados negativos ou próximo de zero, foram observados em baixas concentrações (0,25 e 1,00 µg/mL), indicando ausência ou inconsistência do efeito

ovicida nessas doses. Os valores negativos na concentração de 0,25 µg/mL demonstram que os isolados tratados apresentaram desenvolvimento e eclosão dos ovos, superior ao encontrado no controle negativo.

Gráfico 1. Variação da Atividade Ovicida (%) de ovos de *Fasciola hepatica* expostos a diferentes concentrações de Fluopsina C



Fonte: Própria autora (2025).

Por meio dos brincos referentes aos animais positivos coletados, foi possível determinar a origem e movimentação dos animais possibilitando a caracterização do isolado por localização geográfica, como demonstrado no Quadro 1. Alguns animais são associados a mais de uma região geográfica.

Quadro 1. Caracterização da origem geográfica dos animais segundo município e região.

Animal	Cidade	Região
1	Monte Carlo	Planalto Sul Oeste* Mesorregião Serrana*
2	Coronel Freitas	Oeste
3	Iomerê	Meio Oeste
4	Erval Velho	Meio Oeste
5	Lages	Mesorregião Serrana
6	São João do Itaperiú	Norte
7	Xavantina	Oeste
8	São João do Itaperiú	Norte Mesorregião Serrana*
9	Alfredo Wagner	Alto vale do Itajaí Mesorregião Serrana *
10	Caçapava do Sul	Centro Sul (RS)
11	Caçapava do Sul	Centro Sul (RS)
12	Lages	Mesorregião Serrana
13	Irati	Oeste
14	Lages	Mesorregião Serrana
15	Trombudo Central	Alto Vale do Itajaí
16	Pouso Redondo	Alto Vale do Itajaí Litoral Norte*
17	Taió	Alto Vale do Itajaí Meio Oeste*
18	Braço do Trombudo	Alto Vale do Itajaí Mesorregião Serrana*
19	Trombudo Central	Alto Vale do Itajaí
20	Braço do Trombudo	Alto Vale do Itajaí Mesorregião Serrana *

Fonte: própria autora (2025) *Regiões diferentes que o animal frequentou.

6 DISCUSSÃO

No presente estudo, foi demonstrado AO da FpC em diferentes concentrações sobre isolados de *F. hepatica* obtidos de bovinos naturalmente infectados. Destaca-se como diferencial metodológico a utilização de 20 isolados de campo independentes de *F. hepatica*, com maior representatividade biológica. Os resultados indicaram que a FpC promoveu redução na taxa de desenvolvimento embrionário e na eclosão dos ovos. A técnica *in vitro* empregada, o TDEO, possibilitou a avaliação da viabilidade, do desenvolvimento embrionário e da eclosão dos ovos do helminto (Chryssafidis *et al.*, 2023).

Os testes *in vitro* como o TDEO, apresentam como vantagens serem mais rápidos, econômicos e permitem avaliação simultânea de diferentes princípios a partir de um único animal. Anulam os efeitos causados pela interferência do hospedeiro no estabelecimento da infecção parasitária e são capazes de detectar alterações de suscetibilidade mais precocemente (Demeler *et al.*, 2012; Fortes; Molento, 2013). Estudos compararam o teste *in vitro* de eclosão dos ovos, com testes *in vivo*, TRCOF e CET, e demonstraram que existe uma concordância entre os resultados desses testes para determinar a resistência de fármacos, , indicando sua confiabilidade na determinação de princípios ativos fasciolicidas e de resistência (Ceballos *et al.*, 2019; Novobilsky *et al.*, 2016).

No presente experimento, os ovos foram obtidos a partir da bile dos animais infectados (Chryssafidis *et al.*, 2023). Alternativamente, os ovos de *F. hepatica* podem ser recuperados diretamente de helmintos adultos coletados de bovinos infectados em abatedouros, técnica amplamente utilizada em estudos anteriores (Dalton *et al.*, 1996; Hanna *et al.*, 2006; Chryssafidis *et al.*, 2015) ou por meio da recuperação dos ovos das fezes (Robles-Péres *et al.*, 2014). Os resultados do TDEO podem ser influenciados pelo método de recuperação dos ovos, já que a presença de impurezas pode diminuir as taxas de eclosão (Robles-Perez *et al.*, 2014)

Nas 20 amostras analisadas, foram coletados entre 6.166 e 327.400 ovos. Por sua vez, a coleta realizada diretamente a partir dos helmintos resultou na obtenção de 40.000 a 70.000 ovos, provenientes de 14 a 34 *F. hepatica* (Chryssafidis *et al.*, 2023). A recuperação de ovos por meio da técnica de sedimentação da bile, apresentou maior variabilidade, o que pode ser explicado pela eliminação irregular dos da vesícula

biliar para o trato digestório, bem como pela dependência da presença do helminto adulto em atividade reprodutiva.

Ortegas-Vargas *et al.* (2025) avaliaram a viabilidade de ovos do helminto obtidos de fezes e da vesícula biliar de ovinos experimentalmente infectados, determinando a viabilidade por meio do ensaio de eclosão e considerando como viáveis os ovos embrionados ou eclodidos. Os autores demonstraram que ovos recuperados das fezes apresentaram viabilidade superior a 90%, enquanto aqueles obtidos da vesícula biliar apresentaram valores inferiores a 40%. Em contraste, no presente estudo, o grupo controle, apresentou um percentual médio de ovos desenvolvidos de 88,88%, indicando uma viabilidade próxima a 90%. Os ovos recuperados do material fecal apresentaram valores baixos, próximos a 300, possivelmente em razão da liberação inconstante pelas fezes, o que indica sua baixa aplicabilidade, embora essa técnica permita a utilização do TDEO em animais vivos.

Os resultados do presente estudo demonstram que a FpC apresenta uma ação fasciolicida significativa sobre os ovos de *F. hepatica*, evidenciada pela redução dose-dependente do percentual de desenvolvimento, bem como pelo aumento progressivo da AO. No grupo controle, o elevado percentual médio de ovos (Tabela 2) confirma a viabilidade do TDEO. Já na menor concentração avaliada (0,25 µg/mL) a FpC promoveu redução significativa do percentual de desenvolvimento, sugerindo alta sensibilidade dos ovos à molécula.

Ocorreu aumento gradual da AO com a elevação de FpC, com valores de AO superiores a 70% a partir da concentração de 1 µg/mL. E por sua vez, a partir da concentração 2,00 µg/mL, observou-se uma estabilização do efeito ovicida, uma vez que não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos expostos a 2,00 4,00 e 8,00 µg/mL.

O valor CMO de 2 µg/mL encontrada no estudo é similar ao encontrado por Navarro *et al* (2019), que determinou como concentração inibitória mínima (MIC) e concentração bactericida mínima (MBC) valores próximos a 2,00 µg/mL de FpC testada contra cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus faecium* (VRE) e *Klebsiella pneumoniae* (KPC). Ação antineoplásica também foi descrita com concentrações de 0,25 – 8,00 µmol/L diminuindo a viabilidade de células tumorais humanas, enquanto a concentração de 2,00 µmol/L FpC induziu oncosis (Ma *et al.*, 2013).

Estudos *in vivo* em camundongo infectados por cepa KPC demonstraram resultados terapêuticos em dose única intravenosa de 2,00 mg/kg ou com duas doses de 1 mg/kg com 8h de intervalo, já doses de 4,00 mg/kg gerou mortalidade. Em estudos conduzidos com modelos de invertebrados com larvas de *Tenebrio molitor*, a mortalidade de 20 a 42% das larvas foi observada em doses 0,25 – 0,50 µg/larva, já doses de 1,00 – 2,00 µg/larva mortalidade de todas as larvas. Doses baixas, de 0,06 - 0,12 µg/larva não apresentou efeito na mortalidade (Navarro *et al.*, 2019).

É importante relatar o potencial das demais frações produzidas por *Pseudomonas* no controle de diferentes patógenos. Oliveira *et al.* (2011) demonstraram que a fração F3, que contém FpC misturado a outros metabólitos teve uma capacidade de redução em até 93,5% das lesões de cancro cítrico em laranjeiras, com destruição do biofilme e à lise bacteriana.

Outra fração estudada, a F4A, mistura de FpC com outros metabólitos fenólicos e indólicos, além de reduzir a população bacteriana de *Candidatus Liberibacter asiaticus*, foi capaz de induzir resposta sistêmica adquirida (SAR) em laranjeiras, aumentando significativamente a expressão de genes relacionados à defesa da planta (Oliveira *et al.*, 2016). Pistori *et al.*, 2018 chegou a apresentando MIC de 0,12 µg/mL contra *Xanthomonas citri*, reduzindo em até 97% as lesões em plantas.

Estudos demonstram que o mecanismo de ação primário da FpC consiste em alterações na membrana celular, causando permeabilização da membrana, com um efeito secundário na interferência na divisão celular (Navarro *et al.*, 2019, 2020; Oliveira *et al.*, 2010). Como ação secundária em células MCF-7 foi descrito a falha na divisão celular e indução de estresse oxidativo com lise e morte celular por oncosis (Lima *et al.*, 2022; Ma *et al.* 2013). Oliveira *et al* (2016) e Afonso *et al* (2024) demonstraram que a FpC é capaz de destruir o biofilme, por meio da degradação da matriz celular polissacarídica, seguida de lise bacteriana. Além disso, tanto em bactérias quanto em células tumorais, o composto mostrou baixa propensão ao desenvolvimento de resistência, reforçando seu potencial como candidato terapêutico. (Ma *et al.*, 2013; Navarro *et al.*, 2019).

No entanto, é relatado toxicidade em células normais de mamíferos (Ma *et al.*, 2013). Navarro *et al* (2019) observou ausência de nefrotoxicidade, porém presença de hepatotoxicidade moderada, com vacuolização citoplasmática, infiltrado inflamatório e congestão nos fígados em camundongos tratados, já em testes *in vitro*

citotoxicidade em concentrações iguais ou superiores de 20,00 µg/mL, sem toxicidade abaixo de 2,00 µg/mL, sugerindo uma janela terapêutica estreita.

Possivelmente, a ação da FpC nos ovos de *F. hepatica* esteja relacionada à indução de danos estruturais na parede das células embrionárias ou ao comprometimento de vias metabólicas fundamentais ao embrião. No entanto, são necessários estudos adicionais para confirmar essas hipóteses e para o desenvolvimento de estratégias que minimizem a hepatotoxicidade, considerando que *F. hepatica* permanece nos ductos biliares dos hospedeiros. Nesse contexto, abordagens como a associação com outros fármacos ou utilização de sistemas de liberação controlada, como lipossomas (Gomes *et al.*, 2025).

Em relação a distribuição geográfica dos animais naturalmente positivos para fasciolose, observou-se predominância de registros no estado de Santa Catarina, além de dois casos provenientes da região Centro Sul do estado de Rio Grande do Sul. Esse achado corrobora com a literatura, a qual indica a região Sul do Brasil como a área de maior ocorrência da parasitose, em função de condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento do helminto e de seu hospedeiro intermediário, tais como temperaturas amenas (entre 10-30°C), elevada umidade e altos índices pluviométricos (Alba *et al.*, 2020; Almeida *et al.*, 2024; Malone *et al.*, 1984; Medeiros *et al.*, 2014).

Os animais positivos eram oriundos de diferentes regiões catarinenses, com maior representatividade na Mesorregião Serrana, Oeste, Meio Oeste e Alto Vale do Itajaí. Destaca-se a elevada frequência de animais provenientes do município de Lages, localizado na Mesorregião Serrana, bem como a intensa movimentação de bovinos nessa região, fatores relacionados a prevalência de 9,2% (178/1.927) de casos autóctones juntamente com a presença do gastrópode vetor da fasciolose, *P. columella* (Américo *et al.*, 2022; Arruda *et al.*, 2021).

Dutra *et al.* (2010) avaliaram a prevalência de fasciolose bovina na região do Sul do Brasil, e demonstraram que, no estado de Santa Catarina, as maiores taxas concentram-se no Alto Vale do Itajaí. Nessa região, diversos municípios são classificados como área de risco moderado a alto, em decorrência de características ambientais como baixa altitude relativa nos vales entre 300 e 700 metros acima do mar e elevada pluviosidade anual (IBGE, 2020). Em contraste, as regiões do Oeste

catarinense apresentam risco baixo a moderado, embora não estejam isentas de infecções (Dutra *et al.*, 2010)

A identificação de duas amostras positivas para *F. hepatica* em bovinos no município de Caçapava do Sul, localizado na região Centro-Sul do Rio Grande do Sul, é consistente com o padrão epidemiológico descrito por Molento *et al.* (2020), que relataram uma prevalência média de 16,3% na região, superior à média estadual encontrada de 16,2%. Essa elevada prevalência pode ser atribuída ao caráter endêmico e crônico da fasciolose, frequentemente subdiagnosticada, relacionados a fatores ambientais e práticas de manejo que favorecem a manutenção do ciclo do helminto (Dutra *et al.*, 2020).

Portanto, com base na origem dos animais avaliados, possivelmente foram obtidos sete isolados distintos, provenientes de sete regiões diferentes: Planalto Sul. Oeste, Meio-Oeste, Mesorregião Serrana, Norte e Alto Vale do Itajaí, no estado de Santa Catarina, além da região Centro-Sul do estado do Rio Grande do Sul. Esses dados reforçam a ampla circulação do parasito em diferentes áreas geográficas, evidenciando a necessidade das ações de vigilância epidemiológico e da implementação de medidas efetivas de controles.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo demonstrou que a FpC apresenta atividade ovicida relevante contra ovos de *F. hepatica*, sendo estabelecida a concentração de 2,00 µg/mL como a concentração mínima ovicida. Esse achado reforça o potencial do composto como candidato terapêutico no controle da fasciolose, especialmente diante do crescente cenário de resistência aos fármacos fasciolícidias atualmente disponíveis. No entanto, sua aplicação prática requer estudos adicionais sobre a toxicidade, farmacocinética e formulações seguras como possíveis sinergismo, permitindo avançar de forma segura e eficiente para o uso farmacológico deste composto. Mais estudos comparando sua eficácia frente a outros compostos com ação ovicida, como os benzimidazóis, são necessários.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, L.; ANDREATA, M. F. de L.; A. L.; ALARCON, S.F.; NEVES, A.P.; SILVA, J. V.F.R.; GONÇALVES, G.S.; ABUSSAFI, L. D. de S.; SIMIONATO, A. S.; CELY, M. V. T. Fluopsin C: a review of the antimicrobial activity against phytopathogens. **Agronomy**, [S.L.], v. 12, n. 12, p. 2997, 29 nov. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy12122997>.
- AFONSO, L.; GRZEGORCZYK, K.G.; SALOMÃO, J.M.; BASSO, K.R.; ALVES, L.C.; SILVA, M.C.D.; CHRYSSAFIDIS, A.L.; GIONCO-CANO, B; YAMADA-OGATTA, S. F.; ANDRADE, G. Fluopsin C Promotes Biofilm Removal of XDR *Acinetobacter baumannii* and Presents an Additive Effect with Polymyxin B on Planktonic Cells. **Antibiotics**, [S.L.], v. 13, n. 9, p. 875, 12 set. 2024. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics13090875>
- AGUDO-PADRÓN, A.I.; VEADO, R.W. ad-V.; SAALFELD K. Moluscos e Saúde Pública em Santa Catarina: subsídios para a formulação estadual de políticas preventivas sanitárias, 1st ed. Dutra Duque de Caxias, RJ: **Espaço Científico Livre Projetos Editoriais**. (2013). [3390/antibiotics13090875](http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics13090875).
- ALBA, A; VAZQUEZ, A. A.; HURTREZ-BOUSSÈS, S. Towards the comprehension of fasciolosis (re-)emergence: an integrative overview. **Parasitology**, [S.L.], v. 148, n. 4, p. 385-407, 2 dez. 2020. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0031182020002255>
- ALBUQUERQUE, R.B.F.; PEREIRA, S.A.; MELO, S.N.; BELO, V.S; ARRUDA, M.M; DRESCHER, G.; FIGUEIREDO, F.B. Razão de prevalência e distribuição espacial de fasciolose bovina em propriedades de Orleans, Santa Catarina. **Pubvet**, [S.L.], v. 16, n. 6, p. 1-9, jun. 2022. Editora MV Valero. <http://dx.doi.org/10.31533/pubvet.v16n06a1147.1-9>.
- ALBUQUERQUE, R.B.F.; PEREIRA, S.A.; MELO, S.N. de; BELO, V.N.; ARRUDA, M.M.; MAZETTO, D.; FIGUEIREDO, F. B.; WEIBLEN, R. Spatial distribution analysis of bovine fascioliasis cases recorded in an abattoir in the state of Santa Catarina, Brazil. **Ciência Rural**, [S.L.], v. 52, n. 3, 2022. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20210030>.
- ALEIXO, M.A.; FREITAS, D.F, DUTRA, L.H.; MALONE, J; MARTINS, I.V. F.; MOLENTO, M.B. Fasciola hepatica: epidemiology, perspectives in the diagnostic and the use of geoprocessing systems for prevalence studies. **Semina: Ciências Agrárias**, [S.L.], v. 36, n. 3, p. 1451, 10 jun. 2015. Universidade Estadual de Londrina. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n3p1451>.
- ALI, M. H.; HOSSAIN, Md. S.; LABONY, S.; S DEY, A. R.; PAUL, J.; KHAN, M. A. H. N. A.; ALIM, Md. A. Conventional and Advanced Methods Used for the Diagnosis of Fasciolosis, a Food-Borne Zoonotic Disease. **Journal Of Parasitology Research**, [S.L.], v. 2025, n. 1, jan. 2025. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1155/japr/1353367>.

ALMEIDA, T. M. de; ROMERO NETO, I.; BRANDÃO, Y. O.; MOLENTO, M. B. Geographic expansion of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) due to changes in land use and cover in Brazil. **International Journal for Parasitology**, [S.L.], v. 54, n. 5, p. 201-212, abr. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2023.12.003>.

ALVAREZ, L. I.; VALLADARES, M. M.; CANTON, C.; LANUSSE, C. E.; CEBALLOS, L. Testing Albendazole Resistance in *Fasciola hepatica*. **Methods In Molecular Biology**, [S.L.], p. 213-220, 2020. Springer US. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-0716-0475-5_16.

ÁLVAREZ-SÁNCHEZ, M. A.; MAINAR-JAIME.; PÉREZ-GÁRICA, J.; ROJO-VÁSQUEZ, F. Resistance of *Fasciola hepatica* to triclabendazole and albendazole in sheep in Spain. **Veterinary Record**, v. 159, p. 424-425, 2006.

AMARANTE, A. F. T. **Os parasitas de ovinos** [online], São Paulo: Editora UNESP, 2014. ISBN 978-85-68334-42-3. Available from SciELO Books.

AMÉRICO, L.; PADILHA, M. A. C.; ARRUDA, P. M.I; DRESCHER, G.; MOURA, A. B. de; CHRYSSAFIDIS, A. L. Epidemiological Survey and Confirmation of Autochthonous Cases of Bovine Fasciolosis in the Serrana Mesoregion of Santa Catarina, Brazil. **Frontiers In Veterinary Science**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-1, 22 jul. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fvets.2022.933462>.

ANDREWS, S. J.; CWIKLINSKI, K.; DALTON, J. P. The Discovery of *Fasciola hepatica* and its Life Cycle. In: DALTON, J. P. (ed.). **Fasciolosis**. 2. ed. Boston: Cab International, 2022. Cap. 1. p. 1-15.

ARRUDA, P. M.; AMÉRICO, L.; PIKART, T.G.; CHRYSSAFIDIS, A.L. Primeiro registro de *Pseudosuccinea columella*, principal gastrópode vetor de *Fasciola hepatica*, no município de Lages, Santa Catarina. **VI Simpósio Internacional Ciência, Saúde e Território e VI Encontro de Sistema Integrados de Produção Agropecuária no Sul do Brasil – SIPA SUL**, Lages, 2021.

ASHRAFI, K; MASSOUD, J; HOLAKOUEI, K; MAHMOODI, M; JOAFSHANI, M.A; VALERO, M.A, FUENTES, M.C; KHOUBBANE, M; ARTIGAS, P; BARGUES, M.D; MAS-COMA, S. Evidence Suggesting that *Fasciola gigantica* Might be the Most Prevalent Causal Agent of Fascioliasis in Northern Iran. **Iran Journal Public Health**. v. 33, n. 4, p.31-37, 2004.

BARGUES, M. D.; ANGLES, R.; COELLO, J.; ARTIGAS, P.; FUNATSU, I. R.; CUERVO, P. F.; BUCHON, P.; MAS-COMA, S. One Health initiative in the Bolivian Altiplano human fascioliasis hyperendemic area: lymnaeid biology, population dynamics, microecology and climatic factor influences. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [S.L.], v. 30, n. 2, 2021. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1984-29612021014>

BEESELEY, N. J.; CAMINADE, C.; CHARLIER, J.; FLYNN, R. J.; HODGKINSON, J. E.; MARTINEZ-MORENO, A.; MARTINEZ-VALLADARES, M.; PEREZ, J.; RINALDI, L.; WILLIAMS, D. J. L. Fasciola and fasciolosis in ruminants in Europe: identifying research needs. **Transboundary And Emerging Diseases**, [S.L.], v. 65, p. 199-216, 6 out. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/tbed.12682>.

BENNEMA, S. C.; SCHOLTE, R. G. C.; MOLENTO, M. B.; MEDEIROS, C.; CARVALHO, O dos S. *Fasciola hepatica* in bovines in Brazil: data availability and spatial distribution. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, [S.L.], v. 56, n. 1, p. 35-41, jan. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0036-46652014000100005>.

BORAY, J.; CROWFOOT, P.; STRONG, M.; ALLISON, J.; SCHELLENBAUM, M.; VON ORELLI, M.; SARASIN, G. Treatment of immature and mature *Fasciola hepatica* infections in sheep with triclabendazole. **Veterinary Record**, [S.L.], v. 113, n. 14, p. 315-317, 1 out. 1983. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1136/vr.113.14.315>

BRASIL, Lei nº 12.651, de 25 de maio de 2012. Institui o novo código florestal brasileiro.

BROCKWELL, Y. M.; ELLIOTT, T.P.; ANDERSON, G.R.; STANTON, R.; SPITHILL, T.W.; SANGSTER, N.C. Confirmation of *Fasciola hepatica* resistant to triclabendazole in naturally infected Australian beef and dairy cattle. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, [S.L.], v. 4, n. 1, p. 48-54, abr. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpddr.2013.11.005>.

BURDEN, D.J.; BARTLEY, D.J.; BESIER, R.B.; CLAEREBOU, E.; ELLIOTT, T.P.; HÖGLUND, J.; REHBEIN, S.; TORRES-ACOSTA, J.F.J.; VAN WYK, J.A.; YAZWINSKI, T. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.): third edition of the guideline for evaluating efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 329, p. 110187, jul. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2024.110187>

CABADA, M. M.; LOPEZ, M.; CRUZ, M; DELGADO, J.R.; HILL, V.; WHITE, A. C. Treatment Failure after Multiple Courses of Triclabendazole among Patients with Fascioliasis in Cusco, Peru: a case series. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [S.L.], v. 10, n. 1, 25 jan. 2016. Public Library of Science (PLOS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0004361>.

CALVANI, N. E. D.; SLAPETA, J. *Fasciola* Species Introgression: just a fluke or something more? **Trends In Parasitology**, [S.L.], v. 37, n. 1, p. 25-34, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2020.09.008>

CALVANI, N. E. D.; GEORGE, S. D.; WINDSOR, P. A.; BUSH, R. D.; SLAPETA, J. Comparison of early detection of *Fasciola hepatica* in experimentally infected Merino sheep by real-time PCR, coproantigen ELISA and sedimentation. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 251, p. 85-89, fev. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.01.004>.

CANEVARI, J.; CEBALLOS, L.; SANABRIA, R.; ROMERO, J.; OLAECHEA, F.; ORTIZ, P.; CABRERA, M.; GAYO, V.; FAIRWEATHER, I.; LANUSSE, C. Testing albendazole resistance in *Fasciola hepatica*: validation of an egg hatch test with isolates from south America and the United Kingdom. **Journal Of Helminthology**, [S.L.], v. 88, n. 3, p. 286-292, 19 mar. 2013. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0022149x13000163>

CARAVEDO, M. A.; CABADA, M. Human Fascioliasis: current epidemiological status and strategies for diagnosis, treatment, and control. **Research And Reports in Tropical Medicine**, [S.L.], v. 11, p. 149-158, nov. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/rrtm.s237461>.

CARDOZO, V. F.; OLIVEIRA, A. G.; NISHIO, E. K.; PERUGINI, M. R.; ANDRADE, C. G.; SILVEIRA, W. D.; DURÁN, N.; ANDRADE, G.; KOBAYASHI, R.Kt; NAKAZATO, G. Antibacterial activity of extracellular compounds produced by a *Pseudomonas* strain against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains. **Annals Of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 1-1, jan. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/1476-0711-12-12>.

CASTRO-HERMIDA, J. A.; GONZÁLEZ-WARLETA, M.; MARTÍNEZ-SERNÁNDEZ, V.; UBEIRA, F. M.; MEZO, M. Current Challenges for Fasciolicide Treatment in Ruminant Livestock. **Trends In Parasitology**, [S.L.], v. 37, n. 5, p. 430-444, maio 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2020.12.003>.

CEBALLOS, L.; CANTON, C.; PRUZZO, C.; SANABRIA, R.; MORENO, L.; SANCHIS, J.; SUAREZ, G.; ORTIZ, P.; FAIRWEATHER, I.; LANUSSE, C. The egg hatch test: a useful tool for albendazole resistance diagnosis in *Fasciola hepatica*. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 271, p. 7-13, jul. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.06.001>.

CHARLIER, J.; DUCHATEAU, L.; CLAEREBOU, E.; WILLIAMS, D.; VERCRUYSE, J. Associations between anti-*Fasciola hepatica* antibody levels in bulk-tank milk samples and production parameters in dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, [S.L.], v. 78, n. 1, p. 57-66, jan. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2006.09.010>.

CHARLIER, J.; VERCRUYSE, J.; MORGAN, E.; VAN DIJK, J.; WILLIAMS, D. J. L. Recent advances in the diagnosis, impact on production and prediction of *Fasciola hepatica* in cattle. **Parasitology**, [S.L.], v. 141, n. 3, p. 326-335, 7 nov. 2013. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0031182013001662>.

CHARLIER, J.; MEULEMEESTER, L.; CLAEREBOU, E.; WILLIAMS, D.; VERCRUYSE, J. Qualitative and quantitative evaluation of coprological and serological techniques for the diagnosis of fasciolosis in cattle. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 153, n. 1-2, p. 44-51, maio 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.01.035>

CHRYSSAFIDIS, A. L.; FU, Y.; WAAL, T.; MULCAHY, G. Standardisation of egg-viability assays for *Fasciola hepatica* and *Calicophoron daubneyi*: a tool for evaluating new technologies of parasite control. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 210, n. 1-2, p. 25-31, maio 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.03.005>.

CHRYSSAFIDIS, A.L; ARRUDA, P. M.; AMÉRICO, L.; MACHADO, S. G. R.; LIMA, F. R. de; MATOS, J.; MOURA, A.B. de. The *Fasciola hepatica* egg development and hatching test (EDHT) using commercial drugs: a simple protocol for tackling anthelmintic resistance and promoting cattle productivity. **Parasitology Research**,

[S.L.], v. 123, n. 1, 23 dez. 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-023-08074-0>.

COLES, G.C.; JACKSON, F.; POMROY, W.e.; PRICHARD, R.K.; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; SILVESTRE, A.; TAYLOR, M.A.; VERCROYSSSE, J. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, [S.L.], v. 136, n. 3-4, p. 167-185, mar. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.11.019>.

COSTA, R. A. da; CORBELLINI, L. G.; CASTRO-JANER, E.; RIET-CORREA, F. Evaluation of losses in carcasses of cattle naturally infected with *Fasciola hepatica*: effects on weight by age range and on carcass quality parameters. **International Journal For Parasitology**, [S.L.], v. 49, n. 11, p. 867-872, out. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2019.06.005>.

DALTON, J.P.; ROBINSON, M.W.; MULCAHY, G.; O'NEILL, S. M.; DONNELLY, S. Immunomodulatory molecules of *Fasciola hepatica*: candidates for both vaccine and immunotherapeutic development. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 195, n. 3-4, p. 272-285, ago. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.04.008>

DALTON, J.P.; MCGONIGLE, S.; ROLPH, T.P.; ANDREWS, S.J. Induction of protective immunity in cattle against infection with *Fasciola hepatica* by vaccination with cathepsin L proteinases and with hemoglobin. **Infect. Immun**, v. 64, p. 5066–5074, 1996.

DAR, Y.; RONDELAUD, D.; VIGNOLES, P.; DREYFUSS, G. *Fasciola hepatica*: development of redial generations in experimental infections of pseudosuccinea columella. **Parasitology Research**, [S.L.], v. 113, n. 7, p. 2467-2473, 16 maio 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-014-3893-x>.

DEL RIO, L.A.; GORGE, J.L.; OLIVARES, J.; MAYOR, F. Antibiotics from *Pseudomonas reptilivora* II. Isolation, Purification, and Properties. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 2, n. 3, p.189-194 set 1972.

DEMELE, J.; KLEINSCHMIDT, N.; KÜTTLER, U.; KOOPMANN, R.; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. Evaluation of the Egg Hatch Assay and the Larval Migration Inhibition Assay to detect anthelmintic resistance in cattle parasitic nematodes on farms. **Parasitology International**, [S.L.], v. 61, n. 4, p. 614-618, dez. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.parint.2012.06.003>

DIAZ-QUEVEDO, C.; FRIAS, H.; CAHUANA, G.M.; TAPIA-LIMONCHI, R.; CHENET, S. M.; TEJEDO, J. R. High prevalence and risk factors of fascioliasis in cattle in Amazonas, Peru. *Parasitology International*, [S.L.], v. 85, p. 102428, dez. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.parint.2021.102428>

DREYFUSS, G.; SINDOU, P.; HOURDIN, P.; VIGNOLES, P.; RONDELAUD, D. *Fasciola hepatica* Larval Development Within the Intermediate Host. In: DALTON, J. P. (ed.). *Fasciolosis*. 2. ed. Boston: Cab International, 2022. Cap. 2. p. 23-52

DUTRA, L.H.; MOLENTO, M.B.; NAUMANN, C.R.C.; BIONDO, A.W.; FORTES, F.s.; SAVIO, D.; MALONE, J.B. Mapping risk of bovine fasciolosis in the south of Brazil using Geographic Information Systems. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 169, n. 1-2, p. 76-81, abr. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.12.015>.

EGAWA, Y. UMINO, K.; ITO, Y.; OKUDA, T. et al. Antibiotic YC 73 of *Pseudomonas* origin. II. Structure and Synthesis of Thioformin and its Cupric Complex (YC 73). J. **Antibiot** (Tokyo), v. XXIII, n. 6 p. 267–270, 27 abr 1970.

ELLIOTT, T.P.; KELLEY, J.M.; RAWLIN, G.; SPITHILL, T.W. High prevalence of fasciolosis and evaluation of drug efficacy against *Fasciola hepatica* in dairy cattle in the Maffra and Bairnsdale districts of Gippsland, Victoria, Australia. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 209, n. 1-2, p. 117-124, abr. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.02.014>

ESPINO, A M; FINLAY, C M. Sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for detection of excretory secretory antigens in humans with fascioliasis. **Journal of Clinical Microbiology**, [S.L.], v. 32, n. 1, p. 190-193, jan. 1994. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.32.1.190-193.1994>.

FAIRWEATHER, I.; BORAY, J.C. Fasciolicides: efficacy, actions, resistance and its management. **The Veterinary Journal**, [S.L.], v. 158, n. 2, p. 81-112, set. 1999. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1053/tvj.1999.0377>.

FAIRWEATHER, I. Reducing the future threat from (liver) fluke: realistic prospect or quixotic fantasy? **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 180, n. 1-2, p. 133-143, ago. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.034>.

FAIRWEATHER, I.; BRENNAN, G.P.; HANNA, R.e.B.; ROBINSON, M.W.; SKUCE, P.J. Drug resistance in liver flukes. **International Journal For Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, [S.L.], v. 12, p. 39-59, abr. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpddr.2019.11.003>

FISS, L.; ADRIEN, M. de L.; MARCOLONGO-PEREIRA, C.; ASSIS-BRASIL, N. D.; SALLIS, E. S. V.; RIET-CORREA, F.; RUAS, J. L.; SCHILD, A. L. Subacute and acute fasciolosis in sheep in southern Brazil. **Parasitology Research**, [S.L.], v. 112, n. 2, p. 883-887, 2 set. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-012-3096-2>.

FORTES, F. S.; MOLENTO, M. B. Resistência anti-helmíntica em nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes: avanços e limitações para seu diagnóstico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s. l.], v. 12, n. 33, p. 1391-1402, dez. 2013.

FRANÇA, F.; SOLAR, R.; LEES, A.C.; MARTINS, L.P.; BERENGUER, E.; BARLOW, J. Reassessing the role of cattle and pasture in Brazil's deforestation: a response to fire, deforestation, and livestock. **Land Use Policy**, [S.L.], v. 108, p. 1-1, set. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.landusepol.2020.105195>

FREITAS, D. F.; MARTINS, I.V.F.; SANTOS, G.M.; GOMES, D.S. Bioclimatic Distribution and Prevalence Maps for *Fasciola Hepatica* in Espírito Santo State,

Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 20, n. 32, p. 1–11, 2014

FURTADO, F. H. S.; CAVALCANTE, R.C.; OLIVEIRA, M.F.F.; NASCIMENTO, F.C.; TORRES, A.C.; ALENCAR, C.H.M; GOMES, V.S. Expansão de *Lymnaea Columella* (SAY, 1817), molusco transmissor da fasciolose, no maciço de Baturité, estado do Ceará. **Caderno ESP, Ceará** [S.L.], v. 9, n.2, p. 62-66, dez. 2015.

GIONCO, B.; TAVARES, E.R.; OLIVEIRA, A. G. de; YAMADA-OGATTA, S. F.; CARMO, A. O. do; PEREIRA, U.de P.; CHIDEROLI, R. T.; SIMIONATO, A.S.; NAVARRO, M. O. P.; CHRYSSAFIDIS, A. L. New Insights about Antibiotic Production by *Pseudomonas aeruginosa*: a gene expression analysis. **Frontiers In Chemistry**, [S.L.], v. 5, 15 set. 2017. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fchem.2017.00066>.

GIL, L.C.; DÍAZ, A.; RUEDA, C.; MARTÍNEZ, C.; CASTILLO, D.; APT, W. Fascioliasis hepática humana: resistencia al tratamiento con triclabendazol. **Revista Médica de Chile**, [S.L.], v. 142, n. 10, p. 1330-1333, out. 2014. SciELO Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID). <http://dx.doi.org/10.4067/s0034-98872014001000014>.

GIRÃO, E. S., & UENO, H. A four-layer sieve technique for quantitative fecal examination of Fascioliasis of ruminants. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 20, n. 8, p. 905–912, 2014. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab1985.v20.15935>.

GODINHO, N. M.; SPÍNDOLA, C. Z.; LAVINA, M. S.; CHRYSSAFIDIS, A. L.; MOURA, A. B. Contribution to an efficient diagnosis of *Fasciola hepatica* infection in naturally infected cattle. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, [S.L.], v. 63, p. 101301, ago. 2025. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vprsr.2025.101301>.

GÓIS, C. G. M. *et al.* The Control of *Lactobacillus* sp. by Extracellular Compound Produced by *Pseudomonas aeruginosa* in the Fermentation Process of Fuel Ethanol Industry in Brazil. **Journal Of Sustainable Bioenergy Systems**, [S.L.], v. 03, n. 03, p. 194-201, 2013. doi:10.4236/jsbs.2013.33027.

GOMES, M. L. D.; AFONSO, L.; BASSO, K. R.; ALVES, L.C.; MACÍAS, E.J.N.; YAMADA-OGATTA, S.F.; GUIDI, A.C.; MELLO, J.C.P.de; ANDRADE, F.G.; CABEÇA, L.F.; CELY, M.V.T.; ANDRADE, G. Liposomal Fluopsin C: physicochemical properties, cytotoxicity, and antibacterial activity *in vitro* and over *in vivo* mdr klebsiella pneumoniae bacteremia model. **Antibiotics**, [S.L.], v. 14, n. 9, p. 948, 19 set. 2025. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics14090948>.

GORDON, D.; ZADOKS, R.; SKUCE, P.; SARGISON, N. Confirmation of triclabendazole resistance in liver fluke in the UK. **Veterinary Record**, [S.L.], v. 171, n. 6, p. 159-160, ago. 2012. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1136/vr.e5381>.

GRAHAM-BROWN, J.; WILLIAMS, D. J L; SKUCE, P.; ZADOKS, R. N; DAWES, S.; SWALES, H.; VAN DIJK, J. Composite *Fasciola hepatica* faecal egg sedimentation test for cattle. **Veterinary Record**, [S.L.], v. 184, n. 19, p. 589-589, maio 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1136/vr.105128>

HANNA, R.e.B.; CROMIE, L.; TAYLOR, S.M.; COUPER, A. The effect of a parenteral ivermectin/closantel injection on the growth and reproductive development of early immature *Fasciola hepatica* in cattle. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 142, n. 1-2, p. 78-90, nov. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.06.025>

HARRINGTON, D.; LAMBERTON, P.H L; MCGREGOR, A. Human liver flukes. The Lancet Gastroenterology & Hepatology, [S.L.], v. 2, n. 9, p. 680-689, set. 2017. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s2468-1253\(17\)30111-5](http://dx.doi.org/10.1016/s2468-1253(17)30111-5)

HEDMAN, R. LEVENFORS, J.; STANISLAW, P.; WELCH, C.F.; DAUGHERTY, S; LARSSON, R.K.; GULLBO, J.; GERHARDSON, B. Use of a Known Substance for the Treatment of Cancer and Bacterial and Fungal Infections. WO 2004050095 A1. 2004. Available online: <https://patents.google.com/patent/WO2004050095A1/en> (acessado outubro de 2025).

HOWELL, Al. K.; WILLIAMS, D. J.L. The Epidemiology and Control of Liver Flukes in Cattle and Sheep. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, [S.L.], v. 36, n. 1, p. 109-123, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.12.002>.

HUGHES, G.; GREEN, C. A.; STREET, D.; MAURICE, Y.; HENDERSON, J.; WOODHOUSE, A.; NICHOLL, D.; SCRIVEN, J.E. Case Report: subarachnoid hemorrhage and eosinophilic meningitis due to disseminated fascioliasis. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S.L.], v. 102, n. 3, p. 574-577, 5 mar. 2020. American Society of Tropical Medicine and Hygiene. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.19-0360>

JAPA, O.; SIRIWECHVIRIYA, P.; PRAKHAMMIN, K. Occurrence of fluke infection in beef cattle around Phayao Lake, Phayao, Thailand. **Veterinary World**, [S.L.], v. 13, n. 2, p. 334-337, 2020. Veterinary World. <http://dx.doi.org/10.14202/vetworld.2020.334-337>.

KAHL, A.; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; HELM, C. S.; HODGKINSON, J.; WILLIAMS, D.; WEIHER, W.; TERHALLE, W.; STEUBER, S.; KRÜCKEN, J. Coproscopical diagnosis of patent *Fasciola hepatica* infections in sheep – A comparison between standard sedimentation, FLUKEFINDER® and a combination of both. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 319, p. 109956, jul. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2023.109956>.

KELLEY, J.M.; ELLIOTT, T. P.; BEDDOE, T.; ANDERSON, G.; SKUCE, P.; SPITHILL, T. W. Current Threat of Triclabendazole Resistance in *Fasciola hepatica*. **Trends In Parasitology**, [S.L.], v. 32, n. 6, p. 458-469, jun. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2016.03.002>.

KELLEY, J. M; RATHINASAMY, V.; ELLIOTT, T. P; RAWLIN, G.; BEDDOE, T.; STEVENSON, M.; SPITHILL, T.W. Determination of the prevalence and intensity of *Fasciola hepatica* infection in dairy cattle from six irrigation regions of Victoria, South-eastern Australia, further identifying significant triclabendazole resistance on three properties. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 277, p. 109019, jan. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.109019>.

KELLEY, J. M.; RAWLIN, G.; BEDDOE, T.; STEVENSON, M.; SPITHILL, T. W.. *Fasciola hepatica* Control Practices on a Sample of Dairy Farms in Victoria, Australia. **Frontiers In Veterinary Science**, [S.L.], v. 8, 4 jun. 2021. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fvets.2021.669117>.

KELLEY, J. M.; STEVENSON, M. A.; RATHINASAMY, V.; RAWLIN, G.; BEDDOE, T.; SPITHILL, T. W. Analysis of daily variation in the release of faecal eggs and coproantigen of *Fasciola hepatica* in naturally infected dairy cattle and the impact on diagnostic test sensitivity, *Veterinary Parasitology*, vol. 298, Article ID 109504, 2021.

KERBAUY, G.; VIVAN, A. C.P.; SIMÕES, G.C.; SIMIONATO, A.S.; PELISSON, M.; VESPERO, E. C.; COSTA, S.F.; ANDRADE, C. G.T. de J.; BARBIERI, D. M.; MELLO, J.C.P. Effect of a Metalloantibiotic Produced by *Pseudomonas aeruginosa* on *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC)-producing *K. pneumoniae*. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, [S.L.], v. 17, n. 4, p. 389-397, 15 fev. 2016. Bentham Science Publishers Ltd. <http://dx.doi.org/10.2174/138920101704160215171649>.

KNUBBEN-SCHWEIZER, G.; RÜEGG, S.; TORGERSON, P.R.; RAPSCH, C.; GRIMM, F.; HÄSSIG, M.; DEPLAZES, P.; BRAUN, U. Control of bovine fasciolosis in dairy cattle in Switzerland with emphasis on pasture management. **The Veterinary Journal**, [S.L.], v. 186, n. 2, p. 188-191, nov. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.08.003>.

KUMAR, P.; CHOI, Y.-J.; FERNANDEZ-BACA, M. V.; ORE, R. A.; MORALES, M.L.; ORTIZ, P.; HOBAN, C.; CABADA, M. M.; MITREVA, M. Mitochondrial genome analysis supports zoonotic transmission of triclabendazole-resistant human fascioliasis in Peru. *One Health*, [S.L.], v. 21, p. 101268, dez. 2025. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.onehlt.2025.101268>.

LACEY, E. Mode of action of benzimidazoles. **Parasitology Today**, [S.L.], v. 6, n. 4, p. 112-115, abr. 1990. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0169-4758\(90\)90227-u](http://dx.doi.org/10.1016/0169-4758(90)90227-u).

LALOR, R.; CWIKLINSKI, K.; CALVANI, N. E. D.; DOREY, A.; HAMON, S.; CORRALES, J.L.; DALTON, J.P.; VERISSIMO, C. de M. Pathogenicity and virulence of the liver flukes *Fasciola hepatica* and *Fasciola Gigantica* that cause the zoonosis Fasciolosis. *Virulence*, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 2839-2867, 22 nov. 2021. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/21505594.2021.1996520>.

LARROZA, M.; AGUILAR, M.; SOLER, P.; MORA, J.; ROA, M.; CABRERA, R.; STANZIOLA, J.P. Martinez; CEBALLOS, L.; ALVAREZ, L. I. Triclabendazole resistance in *Fasciola hepatica*: first report in sheep from the santa cruz province, argentinian patagonia. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, [S.L.], v. 45, p. 100927, out. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vprsr.2023.100927>

LEFRYEKH, R.; BENSAD, A.; BENSARDI, F.; ELHATTABI, K.; BOUALI, M.; DAIF, B.; FADIL, A.; JAOUHARI, Z.; HICHAM T.; HAMDANI A.; Hepatic fascioliasis presenting with bile duct obstruction: A case report. **Pan African Medical Journal**, v. 28, n.44.2017.

LIMA, L.V. A.; SILVA, M.F.; CONCATO, V.M.; RONDINA, D.BL.; ZANETTI, T.A.; FELICIDADE, I.; MARQUES, L.A.; LEPRI, S.R.; SIMIONATO, A. S.; ANDRADE FILHO, G. DNA damage and reticular stress in cytotoxicity and oncotic cell death of MCF-7 cells treated with fluopsin C. **Journal Of Toxicology And Environmental Health, Part A**, [S.L.], v. 85, n. 21, p. 896-911, 11 ago. 2022. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/15287394.2022.2108950>.

LOGINOVA, O.; EFEYKIN, B.; KRUTIKOVA, A.; MIZIN, I.; SPIRIDONOV, S. *Fasciola hepatica*: updates on egg morphology, host range, and distribution. *Food And Waterborne Parasitology*, [S.L.], v. 36, set. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fawpar.2024.e00237>.

LOPES, L.P.*et al.* Activity of Extracellular Compounds of *Pseudomonas* sp. against *Xanthomonas axonopodis* *in vitro* and Bacterial Leaf Blight in Eucalyptus. **Tropical Plant Pathology**, v.37, n. 4, p. 233–238, 2012.

MA, L-S.; JIANG, C.-Y.; CUI, M.; LU, R.; LIU, S.-S.; ZHENG, B.-B; LI, L.; LI, X. Fluopsin C induces oncosis of human breast adenocarcinoma cells. *Acta Pharmacologica Sinica*, [S.L.], v. 34, n. 8, p. 1093-1100, 27 maio 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/aps.2013.44>.

MALONE, J.B.; LOYACANO, A.F.; HUGH-JONES, M.e.; CORKUM, K.C.. A three-year study on seasonal transmission and control of *Fasciola hepatica* of cattle in Louisiana. **Preventive Veterinary Medicine**, [S.L.], v. 3, n. 2, p. 131-141, nov. 1984. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0167-5877\(84\)90003-5](http://dx.doi.org/10.1016/0167-5877(84)90003-5).MARTÍNEZ-

VALLADARES, M.; CORDERO-PÉREZ, C.; ROJO-VÁZQUEZ, F.A.. Efficacy of an anthelmintic combination in sheep infected with *Fasciola hepatica* resistant to albendazole and clorsulon. **Experimental Parasitology**, [S.L.], v. 136, p. 59-62, jan. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2013.10.010>.

MARTINS, I. V. F., SPERANDIO, N. C. Fasciolosis in ruminants in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 46, 2024 <https://doi.org/10.29374/2527-2179.bjvm002924>.

MAS-COMA, S.; BARGUES, M. D. Human liver flukes: a review. **Research and Reviews in Parasitology**, [S.L.], v. 57 (3-4) p. 145-218, 1997.

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

MAS-COMA, S.; VALERO, M. A.; BARGUES, M. B. Fascioliasis. In: **Digenetic Trematodes, Advances in Experimental**. Valencia, Spain: Springer Nature 56 Switzerland, p. 71–103, 2019

MAS-COMA, S.; VALERO, M.A.; BARGUES, M. D. Fascioliasis. *Advances In Experimental Medicine and Biology*, [S.L.], p. 71-103, 2019. **Springer International Publishing**. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-030-18616-6_4.

MAY, K.; BRÜGEMANN, K.; KÖNIG, S.; STRUBE, C. Patent infections with *Fasciola hepatica* and paramphistomes (*Calicophoron daubneyi*) in dairy cows and association of fasciolosis with individual milk production and fertility parameters. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 267, p. 32-41, mar. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.01.012>.

MCKELLAR, Q. A.; KINABO, L.D.B. The pharmacology of flukicidal drugs. **British Veterinary Journal**, [S.L.], v. 147, n. 4, p. 306-321, jul. 1991. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0007-1935\(91\)90003-6](http://dx.doi.org/10.1016/0007-1935(91)90003-6).

MEDEIROS, C.; SCHOLTE, R.G.C; D'ÁVILA, S.; CALDEIRA, R. L.; CARVALHO, O.dos S. Spatial distribution of Lymnaeidae (mollusca, basommatophora), intermediate host of *Fasciola hepatica* linnaeus, 1758 (trematoda, digenea) in brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, [S.L.], v. 56, n. 3, p. 235-252, jun. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0036-46652014000300010>

MEHMOOD, K.; ZHANG, H.; SABIR, A.J.; ABBAS, R. Z.; IJAZ, M.; DURRANI, A. Z.; SALEEM, M. H.; REHMAN, M. U.; IQBAL, M.K.; WANG, Y. A review on epidemiology, global prevalence and economical losses of fasciolosis in ruminants. **Microbial Pathogenesis**, [S.L.], v. 109, p. 253-262, ago. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2017.06.006>.

MITCHELL, G.B.; MARIS, L.; BONNIWELL, M.A. Triclabendazole-resistant liver fluke in Scottish sheep. **Vet Rec.** v. 143, 1998.

MIYAMURA, S.; OGASAWARA, N.; OTSUKA, H.; NIWAYAMA, S.; TANAKA, H.; TAKE, T.; UCHIYAMA, T.; NAKAZAWA, H.; ABE, K.; KOIZUMI, K. An Antitumor Antibiotic, no. 4601 from *Streptomyces*, Identical with YC 73 of *Pseudomonas* origin. **J. Antibiot**, v. 25, p. 369–370, 1972.

MOLENTO, M.B.; BENNEMA, S.; BERTOT, J.; PRITSCH, I.C.; ARENAL, A. Bovine fascioliasis in Brazil: economic impact and forecasting. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, [S.L.], v. 12, p. 1-3, maio 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vprsr.2017.12.004>.

MOLENTO, M.B.; DUTRA, L.H.; PRITSCH, I.C.; GARBIN, V.P.; PEREIRA, A.M.; GAVIÃO, A.; GABRIEL, A.L.; SOUSA, R.s. de; VIANA, J.G.A. *Fasciola hepatica* infection in cattle and the use of simulation models for endemic areas. **Journal Of Helminthology**, [S.L.], v. 94, 2020. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0022149x2000067x>.

MOLL, L.; GAASENBEEK, C.P.H; VELLEMA, P.; BORGSTEEDE, F.H.M. Resistance of *Fasciola hepatica* against triclabendazole in cattle and sheep in The Netherlands. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 91, n. 1-2, p. 153-158, jul. 2000. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0304-4017\(00\)00267-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0304-4017(00)00267-3).

MUNHOZ, L.D.; FONTEQUE, J.P.; SANTOS, I.M.O.; NAVARRO, M.O.P.; SIMIONATO, A. S.; GOYA, E.T.; REZENDE, M.I.; BALBI-PEÑA, M.I.; OLIVEIRA, A.G.de; ANDRADE, G. Control of bacterial stem rot on tomato by extracellular bioactive compounds produced by *Pseudomonas aeruginosa* LV strain. **Cogent**

Food & Agriculture, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 1282592, 1 jan. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/23311932.2017.1282592>

NAVARRO, M.O.P.; DILARRI, G.; SIMIONATO, A.S.; GRZEGORCZYK, K.; DEALIS, M.L.; CANO, B.G.; BARAZETTI, A.R.; AFONSO, L.; CHRYSSAFIDIS, A.L.; FERREIRA, H. Determining the Targets of Fluopsin C Action on Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 11, jun. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2020.01076>.

NAVARRO, M.O.P.; DILARRI, G.; SIMIONATO, A.S.; PÉREZ, J. C.B.; BARAZETTI, A.R.; EMILIANO, J.; NIEKAWA, E.T.G.; ANDREATA, M.F.de L.; MODOLON, F.; DEALIS, M.L.; ARAËJO, E.J.de A. Fluopsin C for Treating Multidrug-Resistant Infections: in vitro activity against clinically important strains and in vivo efficacy against carbapenemase-producing klebsiella pneumoniae. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 1-1, 25 out. 2019. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2019.02431.02431>.

NGCAMPHALALA, P.I.; MALATJI, M.P.; MUKARATIRWA, S. Geography and ecology of invasive *Pseudosuccinea columella* (Gastropoda: lymnaeidae) and implications in the transmission of fasciola species (digenea. **Journal Of Helminthology**, [S.L.], v. 96, 2022. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0022149x21000717>.

NOVOBILSKÝ, A.; AVERPIL, H. B.; HÖGLUND, J. The field evaluation of albendazole and triclabendazole efficacy against *Fasciola hepatica* by coproantigen ELISA in naturally infected sheep. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 190, n. 1-2, p. 272-276, nov. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.06.022>.

NOVOBILSKÝ, A.; SOLIS, N. A.; SKARIN, M.; HÖGLUND, J. Assessment of flukicide efficacy against *Fasciola hepatica* in sheep in Sweden in the absence of a standardised test. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, [S.L.], v. 6, n. 3, p. 141-147, dez. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpddr.2016.06.004>.

NOVOBILSKÝ, A.; HÖGLUND, J. First report of closantel treatment failure against *Fasciola hepatica* in cattle. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, [S.L.], v. 5, n. 3, p. 172-177, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpddr.2015.07.003>.

LAECHEA, F.; LOVERA, V.; LARROZA, M.; RAFFO, F.; CABRERA, R. Resistance of *Fasciola hepatica* against triclabendazole in cattle in Patagonia (Argentina). **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 178, n. 3-4, p. 364-366, jun. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.12.047>.

OLIVEIRA, Catarina Filipa da Silva. **Prevalência e fatores de risco associados à infecção por *Fasciola hepatica* em ovinos das raças Merina Branca e Merina Preta**. 2022. 99 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade de Évora, Évora, 2022.

OLIVEIRA, A.G.de; MURATE, L.S.; SPAGO, F.R.; LOPES, L.de P.; BERANGER, J.P.de O.; MARTIN, J.A.B.S.; NOGUEIRA, M.A.; MELLO, J.C.P.; ANDRADE,

C.G.T.de J.; ANDRADE, G. Evaluation of the antibiotic activity of extracellular compounds produced by the *Pseudomonas* strain against the *Xanthomonas citri* pv. citri 306 strain. **Biological Control**, [S.L.], v. 56, n. 2, p. 125-131, fev. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.10.008>.

OLIVEIRA, A. G. de; SPAGO, F. R.; SIMIONATO, A. S.; NAVARRO, M. O. P.; SILVA, C. S. da; BARAZETTI, A. R.; CELY, M. V. T.; TISCHER, C.A.; MARTIN, J.A. B. S; ANDRADE, C. G. T. de J. Bioactive Organocopper Compound from *Pseudomonas aeruginosa* Inhibits the Growth of *Xanthomonas citri* subsp. citri. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 1-1, 9 fev. 2016. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.00113>.

OLIVEIRA, D.R.; FERREIRA, D.M.; STIVAL, C.C.; ROMERO, F.; CAVAGNOLLI, F.; KLOSS, A.; ARAÚJO, F.B.; MOLENTO, M.B. Triclabendazole resistance involving *Fasciola hepatica* in sheep and goats during an outbreak in Almirante Tamandare, Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia**, v. 17, n. 1, p. 149-153, 2008.

ORTEGA-VARGAS, S.; CRUZ-MENDOZA, I.; FIGUEROA-CASTILLO, J.A.; BALDERAS-LOAEZA, A.V.; VILLA-MANCERA, A.; UTRERA-QUINTANA, F.; QUIROZ-ROMERO, H. Comparative analysis of the viability of *Fasciola hepatica* eggs collected from fecal and gallbladder samples in experimentally infected sheep. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 340, p. 110631, dez. 2025. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2025.110631>.

ORTIZ, P.; SCARCELLA, S.; CERNA, C.; ROSALES, C.; CABRERA, M.; GUZMÁN, M.; LAMENZA, P.; SOLANA, H. Resistance of *Fasciola hepatica* against Triclabendazole in cattle in Cajamarca (Peru): a clinical trial and an *in vivo* efficacy test in sheep. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 195, n. 1-2, p. 118-121, jul. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.01.001>

OTSUKA, H.; NIWAYAMA, S.; TANAKA, H.; TAKE, T.; UCHIYAMA, T. An antitumor antibiotic, n. 4601 from Streptomyces, identical with YC 73 of Pseudomonas origin. **The Journal of Antibiotics**, v.XXV, n. 6, p. 369-370, jun 1972.

OVEREND, Dj; BOWEN, F.I. Resistance of *Fasciola hepatica* to triclabendazole. **Australian Veterinary Journal**, [S.L.], v. 72, n. 7, p. 275-276, jul. 1995. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-0813.1995.tb03546.x>.

PATTESON, J. B.; PUTZ, A.T.; TAO, L.; SIMKE, W.C.; BRYANT, L. H.; BRITT, R. D.; LI, B. Biosynthesis of fluopsin C, a copper-containing antibiotic from *Pseudomonas aeruginosa*. **Science**, [S.L.], v. 374, n. 6570, p. 1005-1009, 19 nov. 2021. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.abj6749>.

PISTORI, J. F.; SIMIONATO, A.S.; NAVARRO, M.O. P.; ANDREATA, M. F. L.; SANTOS, I. M. O.; MENEGUIM, L.; LEITE JUNIOR, R.P.; OLIVEIRA, A.G.; ANDRADE, G. Low-molecular-weight metabolites produced by *Pseudomonas aeruginosa* as an alternative to control Huanglongbing in Citrus sinensis cv. Valencia. **Tropical Plant Pathology**, [S.L.], v. 43, n. 4, p. 289-296, 10 jul. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s40858-018-0231-3>.

PRITSCH, I. C.; MOLENTO, M. B. Recount of reported cases of human fascioliasis in Brazil over the last 60 years. **Revista de Patologia Tropical / Journal Of Tropical Pathology**, [S.L.], v. 47, n. 2, p. 75, 25 jun. 2018. Universidade Federal de Goiás. <http://dx.doi.org/10.5216/rpt.v47i2.53636>.

PRITSCH, I. C.; GARCIA, R.L.; DOUAT, D.; SCHWENDLER, R.R.; BUTTENDORF, M.R.B.; MOLENTO, M.B. First reported case of clinical fascioliasis in Santa Catarina, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.L.], v. 52, 2019. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0070-2019>.

RAI R.B; SENAI, S.; AHLAWAT, S.P.S; KUMAR, B.V. Studies on the control of fascioliasis in Andaman and Nicobar Islands. **The Indian Veterinary Journal**, v. 73, pg. 822-825, 1996

RAMADAN, H.K.-A.; HASSAN, W.A.; ELOSSILY, N.A.; AHMAD, A.A.; MOHAMED, A.A.; ELKADER, A.S.Abd-; ABDELSALAM, E. M. N.; KHOJAH, H.M. J. Evaluation of nitazoxanide treatment following triclabendazole failure in an outbreak of human fascioliasis in Upper Egypt. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [S.L.], v. 13, n. 9, p. 1-1, 25 set. 2019. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0007779>.

RAMPAZO L.G.L. **Evaluation of Biological Agents and their Products on the Incidence of Citrus Canker Foliar Lesions**. Master's Thesis, State University of Londrina, Londrina, Brazil, 2004.

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**, [S.L.], v. 364, n. 1530, p. 2763-2776, 27 set. 2009. The Royal Society. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2009.0089>.

ROBINSON, M. W.; HANNA, E.B.; FAIRWEATHER, I. Development of *Fasciola hepatica* in the Mammalian Host. In: DALTON, J. P. (ed.). **Fasciolosis**. 2. ed. Boston: Cab International, 2022. Cap. 3. p. 65-111.

ROBLES-PÉREZ, D.; MARTÍNEZ-PÉREZ, J.M.; ROJO-VÁZQUEZ, F.A.; MARTÍNEZ-VALLADARES, M. Development of an egg hatch assay for the detection of anthelmintic resistance to albendazole in *Fasciola hepatica* isolated from sheep. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 203, n. 1-2, p. 217-221, jun. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.11.020>.

ROMERO, J.; VILLAGUALA, C.; QUIROZ, F.; LANDAETA-AQUEVEQUE, C.; ALFARO, G.; PÉREZ, R. Flukicide efficacy against *Fasciola hepatica* of Triclabendazole and Nitroxynil in cattle of the central valley of Chile. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 164-167, mar. 2019. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1984-296120180089>

RUFINO-MOYA, P. J.; LEVA, R. Z.; MARTÍNEZ-MORENO, Á.; BUFFONI, L.; GARCÍA, E. V.; ARÉVALO, J. P.; MOLINA-HERNÁNDEZ, V.; RUIZ-CAMPILLO, M. T.; HERRERA-TORRES, G.; MARTÍNEZ-MORENO, F.J. Advancement in Diagnosis, Treatment, and Vaccines against *Fasciola hepatica*: a comprehensive review.

Pathogens, [S.L.], v. 13, n. 8, p. 669, 7 ago. 2024. MDPI AG.
<http://dx.doi.org/10.3390/pathogens13080669>.

SALIMI-BEJESTANI, M. R.; CRIPPS, P.; WILLIAMS, D. J. L. Evaluation of an elisa to assess the intensity of *Fasciola hepatica* infection in cattle. **Veterinary Record**, [S.L.], v. 162, n. 4, p. 109-111, jan. 2008. Wiley.
<http://dx.doi.org/10.1136/vr.162.4.109>.

SANABRIA, R.; CEBALLOS, L.; MORENO, L.; ROMERO, J.; LANUSSE, C.; ALVAREZ, L. Identification of a field isolate of *Fasciola hepatica* resistant to albendazole and susceptible to triclabendazole. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 193, n. 1-3, p. 105-110, mar. 2013. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.11.03>.

SANGSTER, N.C.; MARTÍNEZ-MORENO, A.; PÉREZ, J. Pathology, Pathophysiology and Clinical Aspects. In: DALTON, J. P. (ed.). **Fasciolosis**. 2. ed. Boston: Cab International, 2022. Cap. 3. p.145-179.

SARGISON, N. Diagnosis of triclabendazole resistance in *Fasciola hepatica*. **Veterinary Record**, [S.L.], v. 171, p. 151–152, 11 ago 2012.

SHARMA, D. Fluopsin C: A potential candidate against the deadly drug-resistant microbial infections in humans. **Future Microbiology**, [S.L.], v. 15, n. 6, p. 381-384, abr. 2020. Doi:10.2217/fmb-2019-0307.

SILES-LUCAS, M.; RECIO, D.B.; SERRAT, J.J.G.UEL, J.G. Fascioliasis and fasciolopsiasis: current knowledge and future trends. **Research In Veterinary Science**, [S.L.], v. 134, p. 27-35, jan. 2021. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.10.011>.

SILVA, A. E. P.; FREITAS, C. C.; DUTRA, L. V.; MOLENTO, M. B. Correlation between climate data and land altitude for *Fasciola hepatica* infection in cattle in Santa Catarina, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [S.L.], v. 29, n. 3, 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1984-29612020065>.

SKIDMORE, M.E.; MOFFETTE, F.; RAUSCH, L.; CHRISTIE, M.; MUNGER, J.; GIBBS, H.K. Cattle ranchers and deforestation in the Brazilian Amazon: production, location, and policies. **Global Environmental Change**, [S.L.], v. 68, p. 102280, maio 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2021.102280>.

TAYLOR, M.A.; COOP, R.L.; WALL, R.L. **Parasitologia Veterinária**. 4 edição. Rio de Janeiro. Editora Guanabara Koogan, pg. 76-78, 470, 2022.

VALERO, M. A.; PEREZ-CRESPO, I.; PERIAGO, M. V.; KHOUBBANE, M.; MAS-COMA, S. Fluke egg characteristics for the diagnosis of human and animal fascioliasis by *Fasciola hepatica* and *F. gigantica*. **Acta Tropica**, [S.L.], v. 111, n. 2, p. 150-159, ago. 2009. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.04.005>

VASCONCELLOS, F. C. S.; OLIVEIRA, A. G.; LOPES-SANTOS, L.; BERANGER, A. P. O.; CELY, M. V. T.; SIMIONATO, A. S.; PISTORI, J. F.; SPAGO, F. R.; MELLO, J. C. P.; MARTIN, J. A. B. S. Evaluation of antibiotic activity produced by *Pseudomonas aeruginosa* LV strain against *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. **Agricultural Sciences**, [S.L.], v. 05, n. 01, p. 71-76, 2014. Scientific Research Publishing, Inc. <http://dx.doi.org/10.4236/as.2014.51008>

VIGNOLES, P; DREYFUSS, G; RONDELAUD, D. *Fasciola hepatica*: comparative metacercarial productions in experimentally-infected *Galba truncatula* and *Pseudosuccinea columella*. **Parasite**, [S.L.], v. 22, p. 15, 2015. EDP Sciences. <http://dx.doi.org/10.1051/parasite/2015015>.

WALKER, S. M.; MAKUNDI, A. E.; NAMUBA, F. V.; KASSUKU, A. A.; KEYYU, J.; HOEY, E. M.; PRÖDOHL, P.; STOTHARD, J. R.; TRUDGETT, A. The distribution of *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* within southern Tanzania – constraints associated with the intermediate host. **Parasitology**, [S.L.], v. 135, n. 4, p. 495-503, 21 jan. 2008. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0031182007004076>.

WHO. Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals: a road map for neglected tropical diseases 2021–2030. Geneva: **World Health Organization**; 2020. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

WHO. Report of the WHO Informal Meeting on use of triclabendazole in fascioliasis control. 2007. **World Health Organization**; Available from: https://www.who.int/neglected_diseases/preventive_chemotherapy/ Acessado 30 de novembro, 2025.

WINKELHAGEN, A. J.S.; MANK, Theo; VRIES, P. J; SOETEKOUW, R. Apparent Triclabendazole-Resistant Human *Fasciola hepatica* Infection, the Netherlands. **Emerging Infectious Diseases**, [S.L.], v. 18, n. 6, p. 1028-1029, jun. 2012. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). <http://dx.doi.org/10.3201/eid1806.120302>.