



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

LARISSA AMÉRICO

**FASCIULOSE BOVINA EM SANTA CATARINA, BRASIL: ANÁLISE
EPIDEMIOLÓGICA E FILOGENÉTICA**

LAGES
2026

LARISSA AMÉRICO

**FASCIIOLOSE BOVINA EM SANTA CATARINA, BRASIL: ANÁLISE
EPIDEMIOLÓGICA E FILOGENÉTICA**

Tese apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de Doutora 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

Coorientador: Dr. Fabiano Borges
Figueiredo

LAGES

2026

FICHA CATALOGRÁFICA

Américo, Larissa

FASCIIOLOSE BOVINA EM SANTA CATARINA, BRASIL:
ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA E FILOGENÉTICA / Larissa
Américo. -- 2026.

113 p.

Orientador: Andreas Lazaros Chryssafidis

Coorientador: Fabiano Borges Figueiredo

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

1. Fasciola hepatica. 2. Zoonose. 3. Filogenia. 4.
Epidemiologia. I. Lazaros Chryssafidis, Andreas. II. Borges
Figueiredo, Fabiano. III. Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de
Pós-Graduação em Ciência Animal. IV. Título.

LARISSA AMÉRICO

**FASCIIOLOSE BOVINA EM SANTA CATARINA, BRASIL: ANÁLISE
EPIDEMIOLÓGICA E FILOGENÉTICA**

Tese apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de Doutora 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.

Coorientador: Dr. Fabiano Borges
Figueiredo.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Andreas Lazaros Chryssafidis
UDESC Lages-SC

Prof. Dra. Ana Paula Remor Sebolt
UDESC Lages-SC

Profa. Dra. Cíntia Aparecida de Jesus Pereira
UFMG Belo Horizonte-MG

Profa. Dra. Isabella Vilhena Freire Martins
UFES Alegre-ES

Prof. Dr. Fabiano Borges Figueiredo
ICC-Fiocruz Curitiba-PR

LAGES, 29 DE JUNHO DE 2026

“Quem ensina aprende ao ensinar e quem
aprende ensina ao aprender.”

Paulo Freire.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pela bolsa de estudos, e à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC – chamada pública nº 48/2022 (termo de outorga 2023TR000236) pelo apoio e incentivo à pesquisa.

Agradeço ao meu orientador Andreas Lazaros Chryssafidis e coorientador Fabiano Borges Figueiredo, por compartilharem seu conhecimento e experiência. Vocês são minha inspiração, e me auxiliam com maestria no desenvolvimento deste projeto.

Aos meus pais, meu marido e minha filha que sempre estiveram presentes em todas as etapas da minha vida. Esse caminho traçado não é só meu, mais sim, nosso. Como disse Marianna Moreno: “A minha família, devo tudo, tudo mesmo. Foram eles que me proporcionaram esse caminho que levou a tantas vitórias!”.

Por fim, deixo um agradecimento especial a todos os alunos de doutorado, mestrado e graduação do Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias (LAPAR) e do Laboratório de Biologia Celular (ICC/FIOCRUZ), pela amizade, compartilhamento de conhecimento, suporte e incentivo em todas as fases deste projeto.

RESUMO

Fasciola hepatica é um trematódeo digenético zoonótico de ampla distribuição, responsável por importantes impactos na produção animal e na saúde pública. O presente estudo teve como objetivo avaliar os fatores epidemiológicos relacionados à ocorrência da fasciolose bovina em Santa Catarina, utilizando o Planalto Serrano e a região Oeste do estado como modelos de estudo, bem como realizar a análise filogenética de helmintos adultos de *F. hepatica* coletados em frigoríficos distribuídos pelo estado. Foram avaliadas 108 propriedades do Planalto Serrano e 16 propriedades da região Oeste de Santa Catarina por meio de questionários epidemiológicos estruturados. Adicionalmente, foram coletadas amostras fecais de 326 bovinos da região Oeste, analisadas pela técnica de sedimentação espontânea para detecção de ovos de *F. hepatica*, para comparação com os dados previamente obtidos no Planalto Serrano. Para as análises morfométricas e moleculares, foram coletados 284 espécimes de *F. hepatica* provenientes de 45 bovinos abatidos em seis frigoríficos localizados em Lages, Jaraguá do Sul, Braço do Norte, São Joaquim, São João do Itaperiú e Pouso Redondo, no estado de Santa Catarina. Todos os espécimes foram submetidos à avaliação morfométrica no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias (LAPAR-CAV-UDESC), sendo 107 amostras analisadas molecularmente por PCR utilizando marcadores mitocondriais (COI e NADH) e nucleares (ITS1 e ITS2) no Instituto Carlos Chagas (ICC-Fiocruz). A análise filogenética foi realizada com 24 isolados utilizando sequenciamento de nova geração (NGS), seguido de alinhamento das sequências e análise filogenética pelo método de máxima verossimilhança. No Planalto Serrano, 28,7% (31/108) das propriedades apresentaram positividade para *F. hepatica*, sendo observada principalmente associação significativa entre a ocorrência da infecção, os fatores como: manejo extensivo e a presença de fontes naturais de água. Na região Oeste, não houve detecção propriedades positivas. A análise morfométrica evidenciou elevada variabilidade entre os parasitos, sem associação com a idade dos hospedeiros. Todas as amostras analisadas molecularmente apresentaram amplificação positiva para os marcadores avaliados, sem amplificação nos controles negativos ou formação de produtos inespecíficos. A análise filogenética revelou distribuição genética heterogênea, ausência de estruturação filogeográfica e presença de fluxo gênico contínuo entre as populações parasitárias. Adicionalmente, análises comparativas com isolados internacionais confirmaram o padrão previamente observado, evidenciando conectividade genética entre populações de *F. hepatica*. Os resultados sugerem que fatores ambientais e práticas de manejo desempenham papel central na manutenção da transmissão da fasciolose bovina em Santa Catarina, enquanto a elevada conectividade genética observada entre os isolados indica intensa circulação e dispersão do parasito. Conclui-se que a ocorrência da fasciolose bovina no estado está fortemente relacionada às condições ambientais e produtivas, especialmente disponibilidade hídrica e sistema de criação, enquanto a dinâmica populacional de *F. hepatica* apresenta conectividade gênica e ausência de estruturação geográfica evidente. Esses achados contribuem para a compreensão epidemiológica e molecular da fasciolose bovina, fornecendo subsídios para estratégias mais direcionadas de vigilância, controle e prevenção da enfermidade.

Palavras-chave: *Fasciola hepatica*. Zoonose. Filogenia. Epidemiologia.

ABSTRACT

Fasciola hepatica is a zoonotic digenetic trematode with a wide distribution, responsible for important impacts on animal production and public health. The present study aimed to evaluate the epidemiological factors related to the occurrence of bovine fasciolosis in Santa Catarina, using the Santa Catarina Plateau and the Western region of the state as study models, as well as to perform the phylogenetic analysis of adult *F. hepatica* helminths collected in slaughterhouses distributed throughout the state. A total of 108 farms from the Santa Catarina Plateau and 16 farms from the Western region of Santa Catarina were evaluated through structured epidemiological questionnaires. Additionally, fecal samples were collected from 326 cattle from the Western region and analyzed by the spontaneous sedimentation technique for the detection of *F. hepatica* eggs, for comparison with the data previously obtained in the Santa Catarina Plateau. For the morphometric and molecular analyses, 284 *F. hepatica* specimens were collected from 45 cattle slaughtered in six slaughterhouses located in Lages, Jaraguá do Sul, Braço do Norte, São Joaquim, São João do Itaperiú, and Pouso Redondo, in the state of Santa Catarina. All specimens were subjected to morphometric evaluation at the Laboratory of Parasitology and Parasitic Diseases (LAPAR-CAV-UDESC), and 107 samples were analyzed molecularly by PCR using mitochondrial markers (COI and NADH) and nuclear markers (ITS1 and ITS2) at the Carlos Chagas Institute (ICC-Fiocruz). The phylogenetic analysis was performed with 23 isolates using next-generation sequencing (NGS), followed by sequence alignment and phylogenetic analysis using the maximum likelihood method. In the Santa Catarina Plateau, 28.7% (31/108) of the farms presented positivity for *F. hepatica*, with a significant association observed primarily between the occurrence of infection and factors such as extensive management and the presence of natural water sources. In the Western region, no positive farms were detected. The morphometric analysis showed high variability among the parasites, with no association with the age of the hosts. All samples analyzed molecularly showed positive amplification for the evaluated markers, with no amplification in the negative controls or formation of nonspecific products. The phylogenetic analysis revealed a heterogeneous genetic distribution, absence of phylogeographic structuring, and presence of continuous gene flow among the parasitic populations. Additionally, comparative analyses with international isolates confirmed the previously observed pattern, demonstrating genetic connectivity among *F. hepatica* populations. The results suggest that environmental factors and management practices play a central role in maintaining the transmission of bovine fasciolosis in Santa Catarina, while the high genetic connectivity observed among the isolates indicates intense circulation and dispersion of the parasite, potentially influenced by animal movement. It is concluded that the occurrence of bovine fasciolosis in the state is strongly linked to environmental and production conditions, particularly water availability and the rearing system whereas the population dynamics of *F. hepatica* exhibit gene flow and a lack of evident geographic structuring. These findings contribute to the epidemiological and molecular understanding of bovine fasciolosis, providing a basis for more targeted strategies for the surveillance, control, and prevention of the disease.

Keywords: *Fasciola hepatica*. Zoonosis. Phylogeny. Epidemiology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Representação esquemática do ciclo biológico de *Fasciola hepatica*..... 19
- Figure 2 - Distribution of properties visited in seven municipalities (Anita Garibaldi, Bocaina do Sul, Capão Alto, Lages, Paineira, São Joaquim and Urupema), in the Santa Catarina Plateau and four municipalities in the west region of Santa Catarina (Cunhataí, Formosa do Sul, Marema and Nova Erechim).
.....40
- Figure 3 - Heatmap representing the spatial distribution and concentration of rural properties positive and negative for *Fasciola hepatica* in the evaluated municipalities of the Santa Catarina Plateau, Brazil, including positive properties in the municipalities of Lages, Capão Alto, Urupema, Paineira, and Bocaina do Sul, and negative properties in Anita Garibaldi and São Joaquim45
- Figure 4 - Study workflow illustrating the methodological steps for the analysis of *Fasciola hepatica* collected from cattle in Santa Catarina, Brazil.....71
- Figure 5 - Movement map of cattle positive for *Fasciola hepatica* in the state of Santa Catarina, based on data from SIGEN+ (Santa Catarina Agricultural Defense Management System).74
- Figure 6 - *Fasciola hepatica* specimen obtained from a bovine that moved through the municipalities of Capão Alto and Lages, Santa Catarina, Brazil, as an example of the morphometric analyses carried out in this study. Length (1): 3.45 cm. Width (2): 1.39 cm. (3) Distance between suction cups (3):0.37 cm.76
- Figure 7 - Agarose gel electrophoresis (2%). Negative control (CN) and positive control (CP). A - ITA NADH 10/2 primers (535 bp), samples 55–57, with 100 bp molecular weight marker. B - ITA COI 8/9 primers (438 bp), samples 57–59, with 1 kb molecular weight marker. C - ITS1 F/R primers (600 bp), samples 66-68, with a 1 kb molecular weight marker. D - ITS2 F/R primers (505-506pb), samples 97 – 99, with a 1 kb molecular weight marker.77
- Figure 8 - Phylogenetic tree of *Fasciola hepatica* isolates obtained from cattle slaughtered in Santa Catarina State, Brazil. The tree includes isolates generated in the present study and representative international sequences

from Argentina (Arg), Uruguay (Uru), Iran (Ira), and Egypt (Egt). Bootstrap values (>60%) are shown at the nodes based on 1,000 replicates.....79

LISTA DE TABELAS

Table 1 - Factors associated with the occurrence of bovine fasciolosis based on the epidemiological comparison between farms from the Santa Catarina Plateau, characterized by confirmed occurrence of <i>Fasciola hepatica</i> , and farms from the West region of Santa Catarina, where no positive properties were detected, including odds ratio (OR) estimates, 95% confidence intervals (95% CI), and p-values obtained by the two-tailed Fisher's exact test.....	46
Table 2 - Results of the epidemiological questionnaire applied in 108 cattle properties, from the municipalities of Anita Garibaldi, Bocaina do Sul, Capão Alto, Paineira, Lages, São Joaquim and Urupema, located in Santa Catarina Plateau, Brazil.....	48
Table 3 - Analysis of the epidemiological questionnaire applied in 16 cattle properties, from the municipalities of Cunhataí, Formosa do Sul, Marema and Nova Erechim, located in the western region of Santa Catarina State, Brazil. .	50
Table 4 - Thermal cycler programming (Thermo Fisher Scientific, ProFlex PCR System), with annealing temperature adjustments according to the target primer.....	68
Table 5 - Geographic origin, movement history, and slaughter location of cattle used for phylogenetic analysis of <i>Fasciola hepatica</i> in Santa Catarina, Brazil.	69
Table 6 - Organization of <i>Fasciola hepatica</i> specimens according to the collection site, animal transit municipalities recorded in the SIGEN+ (Santa Catarina Agricultural Defense Management System), and the number of parasites recovered from the liver per bovine	72
Table 7 - Comparative morphometric analysis of <i>Fasciola hepatica</i> specimens obtained from naturally infected cattle.	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABDZ	Albendazol
CAV	Centro de Ciências Agroveterinárias
C	Comprimento
Cfa	Clima Subtropical Úmido Mesotérmico
Cfb	Clima Oceânico Temperado
Cidasc	Companhia Integrada de Desenvolvimento Agropecuário de Santa Catarina
CLST	Closantel
CN	Controle Negativo
COI	Citocromo C Oxidase I
CP	Controle Positivo
CRLS	Clorsulon
DV	Distância entre Ventosas Oral e Ventral
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
FTCB	Fosfatriclabeno
GTA	Guia de Transporte Animal
Há	Hectare
ICC	Instituto Carlos Chagas
IVER	Ivermectina
L	Largura
LAPAR	Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias
LAMP	Amplificação Isotérmica Mediada por Loop
NADH	NADH desidrogenase
NTX	Nitroxinil
OMS	Organização Mundial da Saúde
OR	Odds ratio
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)
RAFX	Rafoxanida
SIE	Sistema de Inspeção Estadual
SIF	Sistema de Inspeção Federal

Sigen	Sistema de Gestão de Negócios
SISBOV	Sistema de Identificação e Certificação de Bovinos e Bubalinos
TAE	Tampão Tris-Acetato-EDTA
TEO	Teste de Eclosão de Ovos
TCBZ	Triclabendazol
Tm	Temperatura de Melting
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcento
°C	Graus Celsius
®	Marca registrada
G	Gramas
Min	Minutos
Seg	Segundos
M	Metros
mL	Mililitros
mm	Milímetro
±	Mais ou menos
>	Maior que
<	Menor que
≥	Maior ou igual
≤	Menor ou igual
ng/μL	Nanograma por microlitro
μL	Microlitro
mM	Milimolar
μM	Micromolar
MΩ-cm	Megaohms.cm
Pb	Pares de base
Pm	Peso molecular
V	Volts
W	Watts

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	PARASITO	18
2.2	CICLO BIOLÓGICO <i>Fasciola hepatica</i>	18
2.3	DISTRIBUIÇÃO DE <i>Fasciola hepatica</i> EM BOVINOS	21
2.4	DISTRIBUIÇÃO DE <i>Fasciola hepatica</i> NO BRASIL	22
2.5	DISTRIBUIÇÃO DE <i>Fasciola hepatica</i> EM SANTA CATARINA.....	24
2.6	ANÁLISE FILOGENÉTICA MUNDIAL DE <i>Fasciola hepatica</i>	25
2.7	MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE <i>Fasciola hepatica</i>	28
2.8	TRATAMENTO E RESISTÊNCIA DE <i>Fasciola hepatica</i> AOS ANTI- HELMÍNTICOS.....	30
2.9	CONTROLE E PROFILAXIA DE <i>Fasciola hepatica</i>	32
3	OBJETIVOS	35
3.1	OBJETIVO GERAL	35
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
4	ARTIGO 1 – AVALIAÇÃO DOS FATORES EPIDEMIOLÓGICOS ASSOCIADOS À OCORRÊNCIA DE FASCILOSE BOVINA EM SANTA CATARINA, BRASIL	36
4.1	INTRODUCTION.....	37
4.2	MATERIAL AND METHODS	39
4.2.1	Research Ethics.....	39
4.2.2	Santa Catarina Plateau.....	39
4.2.3	West Santa Catarina Region.....	41
4.2.4	Application of the Epidemiological Questionnaire.....	42
4.2.5	Geoenvironmental characterization.....	42
4.2.6	Statistical analysis	43
4.3	RESULTS AND DISCUSSION	43
4.4	CONCLUSION	59
5	ARTIGO 2 - ANÁLISE FILOGENÉTICA DE ISOLADOS DE <i>Fasciola hepatica</i> OBTIDOS DE BOVINOS EM SANTA CATARINA, BRASIL....	61
5.1	INTRODUCTION.....	62
5.2	MATERIALS AND METHODS.....	64

5.2.1	Description of study area	64
5.2.2	Collection of <i>Fasciola hepatica</i> from Slaughterhouses under State and Federal Inspection Systems	65
5.2.3	Morphometric Analysis of <i>Fasciola hepatica</i>	66
5.2.4	DNA Extraction Protocol.....	66
5.2.5	Polymerase Chain Reaction (PCR)	67
5.2.6	Sequencing and Phylogenetic Analysis	69
5.2.7	Statistical Analysis.....	71
5.3	RESULTS.....	72
5.3.1	Collection of <i>Fasciola hepatica</i> from Slaughterhouses	72
5.3.2	Morphometric Evaluation of <i>Fasciola hepatica</i>	74
5.3.3	Molecular analysis.....	76
5.3.4	Phylogenetic Analysis	77
5.4	DISCUSSION	80
5.5	CONCLUSION	82
	REFERÊNCIAS – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	84
	REFERÊNCIAS – ARTIGO 1	96
	REFERÊNCIAS – ARTIGO 2	101
	DECLARAÇÃO ÉTICA	105
	ANEXO A - QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO.....	106
	ANEXO B - PANFLETO EDUCATIVO PARA PREVENÇÃO DA FASCILOSE BOVINA NO PLANALTO DE SANTA CATARINA.....	107
	ANEXO C - MATERIAL DE APOIO PARA DIVULGAÇÃO DO PROJETO EM FRIGORÍFICOS E PROCEDIMENTOS PARA A COLETA.....	108
	ANEXO D - NÚMEROS DE ACESSO DAS SEQUÊNCIAS DE <i>Fasciola hepatica</i> OBTIDAS NESTE ESTUDO E DEPOSITADAS NO GENBANK	111

1 INTRODUÇÃO

A fasciolose é uma enfermidade conhecida há séculos. O primeiro relato da infecção foi descrito em 1379 por Jean de Brie, em um tratado sobre o manejo de ovinos, no qual mencionou a presença de organismos que parasitavam o fígado dos animais e causavam sua destruição. Posteriormente, novas descrições foram realizadas por Anthony Fitzherbert, em 1523, e por Conrad Gesner, em 1551, em sua obra *Historia Animalium*. As primeiras ilustrações de *Fasciola* spp. foram publicadas por Francesco Redi, em 1668, a partir da observação de helmintos recuperados do fígado de carneiros e da vesícula biliar de lebres, contribuindo para a descrição morfológica do parasito. Atualmente, a família Fasciolidae (Railliet, 1895) compreende trematódeos de grande porte que parasitam os ductos biliares de animais domésticos e silvestres (Rojo-Vázquez et al., 2012).

Entre as espécies pertencentes a essa família, *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) destaca-se por sua ampla distribuição mundial, com registros em 81 países (Fürst et al., 2012), bem como por sua importância veterinária e potencial zoonótico. Seu ciclo de vida é indireto, com hospedeiros intermediários e hospedeiros definitivos vertebrados (Caravedo; Cabada, 2020; Mas-Coma, 2005; Mas-Coma; Valero; Bargues, 2023). O parasitismo por *F. hepatica* está mais frequentemente associado aos ruminantes; no entanto, o parasito também pode infectar outros hospedeiros vertebrados, como equídeos, suídeos, diferentes espécies de animais silvestres e humanos, entre outros (Bowman, 2021). A manifestação clínica da infecção pode variar de acordo com o estágio de desenvolvimento do parasito, a intensidade da infecção e a espécie do hospedeiro definitivo (Mas-Coma, 2005).

As formas juvenis de *F. hepatica* estão associadas à fase aguda da infecção, durante a qual a migração dos parasitos pelo parênquima hepático provoca lesões hepáticas que podem resultar em dor abdominal, especialmente em infecções com elevada carga parasitária. A evolução clínica da fasciolose varia de acordo com a carga parasitária, a resposta imunológica do hospedeiro, a fase da infecção e a espécie acometida (Boray, 1967). Na fase crônica, caracterizada pela permanência das formas adultas nos ductos biliares, observam-se principalmente redução do ganho de peso, diminuição da produção

leiteira, infertilidade, anemia, edema, condenação de fígados em frigoríficos e perdas econômicas na produção animal. Em infecções severas, principalmente quando associadas a elevadas cargas parasitárias e dependendo da espécie do hospedeiro, a doença pode evoluir para o óbito (Aleixo *et al.*, 2015; Calvani; Šlapeta, 2020; Siles-Lucas *et al.*, 2020).

No Brasil, estimou-se que, entre 2002 e 2011, as perdas econômicas anuais associadas à condenação de fígados em frigoríficos e redução no peso da carcaça do Sistema de Inspeção Federal (SIF) atingiram aproximadamente US\$ 210 milhões, dos quais cerca de US\$ 147 milhões corresponderam ao estado do Rio Grande do Sul (Molento *et al.*, 2018). A alta prevalência da *F. hepatica* está relacionada a fatores ambientais e climáticos que proporcionam condições adequadas para o desenvolvimento do parasito e de seu hospedeiro intermediário. Dentre esses fatores, destacam-se temperaturas entre 10 a 25°C e a presença de áreas alagadas e úmidas (Aleixo *et al.*, 2015; Dutra *et al.*, 2010). Em países menos desenvolvidos, caracterizados por propriedades menores, tecnologia menos avançada, o parasitismo por *F. hepatica* tende a ocorrer com maior frequência (Mas-Coma; Valero; Bargues, 2023; Webb; Cabada, 2018).

O número de casos humanos é subestimado, devido à dificuldade do diagnóstico preciso e do desconhecimento sobre a doença entre os profissionais de saúde (Mas-Coma, *et al.*, 2019; Webb; Cabada, 2018). Sendo assim, a fasciolose é considerada uma doença tropical negligenciada em vários países, com destaque para a América do Sul, principalmente na região Andina, onde é considerada uma doença hiperendêmica (Calvani; Šlapeta, 2020; Mas-Coma, 2005; WHO, 2015).

A região Sul do Brasil teve o maior número de casos notificados de fasciolose humana nos últimos 60 anos, com 43,7% (21/48) dos casos (Pritsch, Cristine Izanar; Molento, 2018). No litoral Norte de Santa Catarina, foi diagnosticado em 2019 o primeiro caso de exposição humana por meio de ultrassonografia e teste imunoenzimático (Pritsch *et al.*, 2019). Além do mais, tem sido observado um aumento no número de casos de *F. hepatica* em regiões que anteriormente eram consideradas livres do parasito, como é o caso da Planalto de Santa Catarina. Nessa região, foi comprovada a presença do hospedeiro intermediário do parasito, *Pseudosuccinea columella* (Américo *et al.*,

2022), assim como a prevalência de 9,2% (178/1.927) em bovinos a campo e confirmação de casos autóctones de fasciolose bovina (Américo *et al.*, 2022).

Considerando a importância econômica e sanitária de *F. hepatica* para a saúde animal e humana, é de grande relevância o desenvolvimento de pesquisas epidemiológicas com o intuito de antecipar a propagação da doença, visando o fornecimento de recursos e informações para a elaboração de estratégias de controle efetivas, de acordo com as particularidades de cada região. O presente estudo teve como objetivo analisar os fatores epidemiológicos associados à ocorrência da fasciolose bovina no Planalto de Santa Catarina, em comparação com propriedades localizadas em municípios da região Oeste, bem como caracterizar os diferentes genótipos de *F. hepatica* circulantes no estado de Santa Catarina, por meio de análises filogenéticas, a fim de verificar padrões de diversidade genética e possíveis relações entre isolados provenientes de distintas localidades do estado.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PARASITO

Fasciola hepatica pertence ao Reino Animalia, Filo Platyhelminthes, Classe Trematoda (Rudolphi, 1808), Subclasse Digenea (Van Beneden, 1858), Família Fasciolidae (Railliet, 1895), Gênero *Fasciola* (Linnaeus, 1758) e espécie *F. hepatica* (Linnaeus, 1758).

Trata-se de um trematódeo de aspecto foliáceo e coloração acinzentada, com comprimento variando entre 20 e 40 mm e largura entre 6 e 13 mm (Fairweather et al., 1999). Na extremidade anterior localiza-se a ventosa oral, estrutura que envolve a boca e se comunica com uma curta faringe, seguida pelo esôfago e por dois cecos intestinais que se estendem ao longo do corpo e terminam em fundo cego. Logo abaixo da ventosa oral encontra-se a ventosa ventral (acetábulo), importante para a fixação do parasito aos ductos biliares do hospedeiro definitivo. Nas proximidades da ventosa ventral situa-se o poro genital, abertura comum aos sistemas reprodutores masculino e feminino (Fairweather et al., 1999).

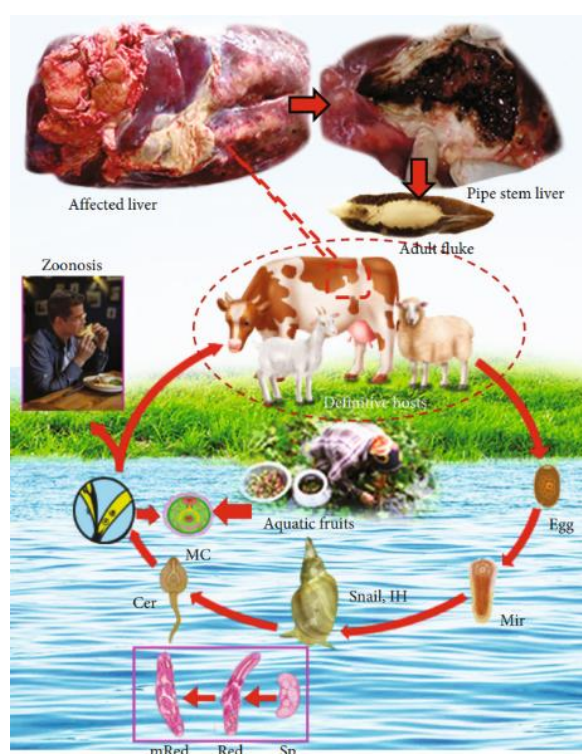
A espécie é hermafrodita e apresenta aparelhos reprodutores masculino e feminino completamente desenvolvidos, adaptados à reprodução. Externamente, o tegumento é revestido por espinhos, que auxiliam na fixação do helminto aos ductos biliares. O sistema excretor é constituído por células-flama interligadas por túbulos que convergem para um poro excretor localizado na extremidade posterior do parasito (Fairweather et al., 1999).

Os ovos de *F. hepatica* são de coloração amarelada, operculados e eliminados nas fezes ainda não embrionados, medindo entre 130 e 150 µm de comprimento e 60 a 90 µm de largura. Em seu interior, apresentam uma massa granulada constituída por células vitelínicas, característica morfológica essencial para o diagnóstico parasitológico direto em amostras fecais de hospedeiros parasitados (Guimarães, 2016; Taylor; Coop; Wall, 2016).

2.2 CICLO BIOLÓGICO *Fasciola hepatica*

O ciclo biológico de *F. hepatica*, apresenta duração aproximada de 23 semanas (Figura 1). De modo geral, no interior de seus hospedeiros definitivos, os parasitos adultos de *F. hepatica* alojam-se nos ductos biliares onde se alimenta de tecido hepático e sangue e inicia a produção de ovos são conduzidos juntamente com a bile até o intestino, sendo posteriormente eliminados no ambiente juntamente ao bolo fecal (Mas-Coma, S., 2005; Mas-Coma, S; Bargues, 1997; Mas-Coma, S; Bargues; Valero, 2005; Mas-Coma, S; Valero; Bargues, 2019; Mas-Coma, Santiago; Valero; Bargues, 2023).

Figura 1 - Representação esquemática do ciclo biológico de *Fasciola hepatica*.



Fonte: Ali *et al.*, 2025.

No ambiente, os ovos se desenvolvem em água doce e em condições climáticas favoráveis e umidade elevada (>70–80%). O ovo leva cerca de 9 a 21 dias para completar o seu desenvolvimento larval, marcado pela formação do miracídio (larva piriforme e ciliada). Sob estímulo luminoso e temperatura adequada, o miracídio eclode e nada rapidamente em busca do hospedeiro intermediário, onde penetra através das partes moles, os moluscos da família Lymnaeidae (Caravedo; Cabada, 2020; Mas-Coma, Santiago; Valero; Bargues, 2023; Robinson; Dalton, 2009). No Brasil, há relatos de diversas espécies de

hospedeiros intermediários em diferentes regiões, como *P. columella*, *Galba viatrix*, *Galba cubensis*, *Galba truncatula* e *Lymnaea rupestris* (Américo *et al.*, 2022; Medeiros *et al.*, 2014; Paraense, 1983, 1986, 1982).

O miracídio, após penetrar nos tecidos moles do molusco, sofre diferenciação e origina o esporocisto, estrutura que abriga células germinativas responsáveis pelo desenvolvimento das rédias. Essas formas larvais apresentam abertura bucal, sistema digestório primitivo e poro de nascimento, além de células germinativas capazes de originar rédias de segunda geração ampliando a multiplicação do parasito. Posteriormente, desenvolvem-se as cercárias, que representam a fase larval seguinte do ciclo evolutivo. Ao serem liberadas das rédias, as cercárias deslocam-se ativamente no ambiente aquático por meio de uma cauda simples, não bifurcada. Após um curto período de natação, perdem a cauda, secretam o material produzido pelas glândulas cistogênicas compostas principalmente por proteínas, glicoproteínas e mucopolissacarídeos. Essas substâncias participam da formação da parede do cisto, permitindo que as larvas se encistem sobre a vegetação aquática, formando as metacercárias, que constituem a forma infectante para os hospedeiros definitivos (Ueta, 1980; Andrews 1999; Ribeiro *et al.*, 2017).

O intervalo compreendido entre a penetração do miracídio no hospedeiro intermediário e a formação das metacercárias varia de 50 a 60 dias, quando mantidas as condições ideais de temperatura e umidade (Beck, 1993; Beesley *et al.*, 2017; Bennema *et al.*, 2014; Caravedo; Cabada, 2020; Mas-Coma; Bargues, 1997; Mas-Coma; Valero; Bargues, 2023; Silva *et al.*, 1980). Os hospedeiros definitivos se infectam pela ingestão das metacercárias que contaminam a vegetação. Após a ingestão, as metacercárias desencistam-se no trato gastrointestinal e os parasitos jovens atravessam as paredes do intestino delgado, atinge a cavidade abdominal e migra em direção ao fígado. No fígado, as formas jovens de *F. hepatica* migram pelo parênquima hepático durante cinco a seis semanas causando lesões e se alimentando de sangue e tecidos do hospedeiro, até finalmente penetrarem nos ductos biliares, onde atingem a fase sexualmente madura (Beck, 1993; Beesley *et al.*, 2017; Mas-Coma; Bargues, 1997; Mas-Coma; Valero; Bargues, 2023; Silva *et al.*, 1980; WHO, 2015).

O período pré-patente possui duração média de 12 semanas, porém esse período pode variar de acordo com o hospedeiro e o número de helmintos

adultos presentes no fígado. A produção diária de ovos pelos parasitos adultos pode variar de três a sete mil, permanecendo os parasitos adultos nos ductos biliares por períodos que variam de um a dois anos dependendo da espécie do hospedeiro definitivo (Mas-Coma; Bargues, 1997; Mas-Coma; Valero; Bargues, 2023; Silva et al., 1980).

2.3 DISTRIBUIÇÃO DE *Fasciola hepatica* EM BOVINOS

Em relação à infecção em animais, investigações ao redor do mundo têm demonstrado a ampla distribuição de *F. hepatica* em diferentes espécies e sistemas produtivos. Um estudo transversal em abatedouro localizado na região Noroeste da Etiópia foi conduzido entre janeiro e setembro de 2023 detectou 50% (50/100) de bovinos parasitados por *F. hepatica* (Temesgen et al., 2025). No Iraque, foram coletadas amostras de 56 fígados de ruminantes (ovinos, bovinos e caprinos) em abatedouro e revelaram positividade em 50% (28/56, ovelhas, n=14; cabras, n=3; e bovinos, n=11) dos casos para *F. hepatica* (Othman et al., 2023).

Na África do Sul, um levantamento realizado em 13 abatedouros bovinos distribuídos em seis províncias avaliou 673 animais abatidos entre 2021 e 2022, dos quais 57 (8,5%) apresentaram positividade para *Fasciola* spp. Adicionalmente, foram coletados 960 espécimes, sendo *F. hepatica* a espécie predominante, correspondendo a 74% (710/960) e *F. gigantica* em apenas 26% (250/960) dos trematódeos identificados (Nukeri et al., 2025).

No Peru, uma pesquisa realizada com 385 bovinos, identificou 19,48% (75/385) de positividade para ovos de *F. hepatica*, detectados pelo exame coproparasitológico de sedimentação, sendo mais prevalente em fêmeas com mais de quatro anos de idade (Rojas-Moncada; Torrel; Vargas-Rocha, 2025). Outro estudo significativo foi realizado na Costa Oeste da Ilha Sul da Nova Zelândia, onde 485 vacas leiteiras foram testadas quanto à presença de anticorpos contra *F. hepatica*, e indicaram que 63% (305/485) dos animais estavam soropositivos (Dowling et al., 2025). Uma meta-análise conduzida na China constatou uma prevalência geral de 16,69% (63.702/381.543) de *F. hepatica* em bovinos, com maior prevalência em regiões de altitude elevada e criados soltos a pasto, apresentando maior risco de infecção, reforçando a

importância dos fatores ambientais (umidade e temperatura) e zootécnicos (criação extensiva) (Lan *et al.*, 2025).

Na Colômbia, uma pesquisa conduzida em 61 propriedades rurais, analisou 290 bovinos, 185 ovinos e 114 humanos, detectando 32,5% (94/290) dos bovinos positivos para *F. hepatica*, 46,5% (86/185) dos ovinos e nenhum humano foi positivo (Delgado *et al.*, 2023). No sudeste do México, a prevalência de *F. hepatica* em bovinos foi de 18,6% (134/719), com base na análise de amostras fecais coletadas em 2019 (Hernández-Hernández *et al.*, 2023). Segundo Mehmood e colaboradores, (2017), a fasciolose é amplamente distribuída em ruminantes na África, Ásia e América, com maior prevalência em países em desenvolvimento, onde práticas de manejo inadequadas e a falta de informação contribuem para perdas econômicas significativas, além de representar um risco potencial de disseminação global da doença e reforça a importância das ações conjuntas de controle em saúde pública e veterinária no âmbito mundial.

2.4 DISTRIBUIÇÃO DE *Fasciola hepatica* NO BRASIL

De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o rebanho bovino nacional alcançou 238.626.442 cabeças em 2023, distribuídas por aproximadamente 2.554.415 estabelecimentos agropecuários, sendo o estado do Mato Grosso o principal produtor, com 33.994.004 bovinos (IBGE, 2023). A disseminação da fasciolose bovina no país tem sido atribuída, principalmente, às alterações no uso da terra, com a expansão de áreas de pastagem e a supressão de vegetação nativa, bem como à intensa movimentação de animais, fatores que implicam em riscos significativos à saúde animal, à biodiversidade e às populações humanas em situação de vulnerabilidade (Almeida *et al.*, 2024). Embora a fasciolose humana ainda seja considerada uma enfermidade negligenciada no Brasil, uma revisão sistemática identificou apenas 48 casos notificados entre 1950 e 2016, dos quais 43,7% (21/48) ocorreram na região Sul do país (Pritsch; Molento, 2018).

Na região Norte do Brasil no município de Canutama, estado do Amazonas, achados confirmaram a transmissão de fasciolose humana no município (Maciel *et al.*, 2018). A ocorrência de infecção humana por *F. hepatica*

foi inicialmente identificada por exame coproparasitológico, com ovos detectados em 11 indivíduos, posteriormente, uma pesquisa foi realizada com 434 participantes, 8,3% (36) apresentaram sorologia reativa por ELISA e 1,8% (8) por Western Blot e apenas um caso se confirmou pelo exame coproparasitológico (Maciel *et al.*, 2018).

Os principais hospedeiros definitivos de *F. hepatica* no Brasil são os bovinos, com registros consistentes de infecção nas regiões Centro-Oeste, Sul e Sudeste (Martins; Sperandio, 2024). As perdas econômicas associadas à doença são expressivas, estimando-se um prejuízo anual de aproximadamente 210 milhões de dólares, atribuídos à redução do peso da carcaça e à condenação dos fígados em frigoríficos (Molento *et al.*, 2018). Os estados mais impactados são o Rio Grande do Sul, com perdas estimadas em US\$ 147 milhões, seguido pelo Espírito Santo (US\$ 32 milhões) e Santa Catarina (US\$ 24 milhões) (Molento *et al.*, 2018). A análise retrospectiva realizada por Almeida *et al.*, (2024) com base em dados de abate de mais de 414 milhões de bovinos entre 2002 e 2020, demonstrou um aumento expressivo na frequência de municípios com registros da doença, passando de 3,48% (194/5.568) em 2002 para 13,41% (747/5.568) em 2020, o que evidencia a expansão geográfica de fasciolose bovina no país.

No estado do Espírito Santo, uma análise espaço-temporal da fasciolose bovina realizada entre 2018 e 2023 identificou elevada frequência da enfermidade, especialmente na região Sul do estado, além de demonstrar associação positiva entre a ocorrência da doença e a pluviosidade (Pinheiro *et al.*, 2026). Em Minas Gerais, o primeiro relato de infecção natural por *Fasciola hepatica* em búfalos evidenciou positividade de 18,75% (33/176) em bovinos e 28,37% (21/74) em búfalos, além da presença do parasito em moluscos do gênero *Lymnaea*, demonstrando a expansão da enfermidade para áreas anteriormente consideradas não endêmicas (Dracz; Lima, 2014).

Além disso, Almeida e colaboradores., (2025) utilizaram modelagem matemática de nicho ecológico para prever áreas ambientalmente propícias à ocorrência de moluscos vetores de *F. hepatica* na América do Sul. No Brasil, *P. columella* apresentou elevada adequabilidade nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, com destaque para o estado do Paraná, que teve 62% de seu território registrado como altamente adequado, o gastrópode *G. cubensis*

demonstrou maior distribuição potencial nas regiões Sudeste e Nordeste, especialmente em Minas Gerais (49%) e Sergipe (45%) (Almeida *et al.*, 2025). Diante disso, a fasciolose apresenta ampla distribuição no Brasil e gera impactos econômicos significativos na bovinocultura. Ademais, a sobreposição de áreas ambientalmente favoráveis à presença dessas espécies vetores reforça o alto risco de manutenção e disseminação do parasito no território nacional.

2.5 DISTRIBUIÇÃO DE *Fasciola hepatica* EM SANTA CATARINA

O estado de Santa Catarina está localizado na região Sul do Brasil, contando com mais de 4.540.794 cabeças de ruminantes. O município de Lages é o maior produtor de bovinos do estado, segundo o IBGE (IBGE, 2023). Em relação aos municípios de baixa altitude localizados mais próximos ao litoral, Santa Catarina é considerado um estado endêmico para fasciolose (Fiss *et al.*, 2012; Serra-Freire; Nuernberg, 1992; Silva *et al.*, 2020). Estudo de Serra-Freire; Nuernberg, (1992), relatou que, ao analisarem 13.762 amostras de fezes de ruminantes provenientes de 129 municípios catarinenses durante 12 anos, utilizando o exame coproparasitológico de quatro tamises, foi confirmada a ocorrência de *F. hepatica* em 64,82% (129/199) dos municípios do estado e em 27,71% (3.814/13.762) das amostras analisadas. Nos bovinos, a infecção foi confirmada em 86 municípios, com 27,86% (1.994/7.156) de animais positivos no exame coproparasitológico.

No período de 2003 a 2008, foram inspecionados 699.147 fígados de bovinos provenientes do estado de Santa Catarina em frigoríficos sob Serviço de Inspeção Federal (SIF), dos quais 10,1% (70.928) apresentaram condenação devido à infecção por *F. hepatica* (Dutra *et al.*, 2010). Os animais oriundos da região central litorânea de SC apresentaram prevalências superiores a 40%, indicando áreas de maior risco para a ocorrência de fasciolose bovina no estado (Dutra *et al.*, 2010).

Segundo Silva e colaboradores., (2020), entre 2004 e 2008 e no ano de 2010, foi conduzido um estudo utilizando dados de frigoríficos SIF para avaliar a distribuição espacial de fasciolose bovina no estado, com isso, foram analisados dados de 518.635 animais provenientes de 198 dos 293 municípios catarinenses, observando-se que 8,8% (24.455) dos fígados foram condenados

em razão da infecção por *F. hepatica*. A análise espacial identificou maior prevalência do parasito nos municípios situados entre 500 e 600 metros de altitude, não sendo observada correlação significativa entre a ocorrência de fígados parasitados e a pluviosidade (Silva *et al.*, 2020).

No período de 2015 e 2017, foi realizada uma investigação em frigorífico sob o Serviço de Inspeção Estadual (SIE) no município de Orleans, SC, envolvendo animais provenientes de 58 municípios do estado. Durante a pesquisa, constatou-se que 10,81% (2.699/24.961) dos bovinos abatidos apresentavam infecção por *F. hepatica* com associação entre áreas de menor altitude, temperaturas elevadas e baixa pluviosidade com a maior prevalência de fasciolose no estado (Albuquerque *et al.*, 2022).

Segundo Américo e colaboradores., (2022), no Planalto de Santa Catarina, foi registrada a ocorrência autóctone de *F. hepatica* de bovinos abatidos entre 2018 e 2021 em três frigoríficos SIE, os quais receberam animais de 28 municípios, dos quais 23 apresentaram animais positivos com índice de positividade de 15,1% (1.744/11.556) de fígados condenados pelo parasito. O estudo também realizou exames coproparasitológicos de sedimentação em 1.927 bovinos provenientes de 106 propriedades distribuídas em oito municípios da região, identificando positividade em 9,2% (178/1.927) dos animais, confirmando a transmissão autóctone na região. Com base nos resultados, foi estimada perda econômica anual associada à *F. hepatica* de aproximadamente US\$ 4 milhões somente na região estudada (Américo *et al.*, 2022). Os estudos evidenciam que Santa Catarina apresenta áreas endêmicas para fasciolose, com infecções principalmente em ruminantes, ressaltando a importância da vigilância epidemiológica e de estratégias de controle para o controle dessa parasitose zoonótica no estado.

2.6 ANÁLISE FILOGENÉTICA MUNDIAL DE *Fasciola hepatica*

No gênero *Fasciola*, duas espécies são conhecidas como principais agentes causadores de fasciolose em humanos e animais domésticos: *F. hepatica* e *Fasciola gigantica* (Itagaki *et al.*, 2005). *F. gigantica* ocorre predominantemente na África e Ásia, enquanto *F. hepatica* está distribuída principalmente nas Américas, Oceania e Europa (Torgerson; Claxton, 1999). A

compreensão da origem, dispersão geográfica e dinâmica evolutiva desse gênero requer abordagens integradas de análises moleculares dos helmintos (Gilleard; Beech, 2007).

Tais estudos são fundamentais para identificar padrões evolutivos, estimar variabilidade genética e prever rotas potenciais de disseminação do parasito (Beesley *et al.* 2017). Pesquisas relacionadas à análise filogenética de *Fasciola* spp. têm sido conduzidas em escala global, abrangendo diferentes espécies de hospedeiros definitivos incluindo animais domésticos e seres humanos (Ahmad *et al.*, 2022; Carnevale *et al.*, 2017; Jeong; Park; Yu, 2022; Schwantes *et al.*, 2020).

Na Turquia a análise filogenética de *F. hepatica* revelou 24 haplótipos mitocondriais (nad1), sendo TR-nad1Fh1 o mais prevalente, com identidade genética a isolados de diversos países, como Egito, China, Afeganistão, Espanha e Peru, indicando ampla distribuição geográfica do parasito, os sequenciamentos de regiões nucleares também evidenciaram compatibilidade genômica com cepas da Espanha e do Afeganistão (Celik *et al.*, 2025). Entre junho de 2021 e janeiro de 2023, foram analisadas 774 amostras de *F. hepatica* provenientes de 73 vacas leiteiras da Alemanha, utilizando genes mitocondriais, uma região nuclear e oito microssatélites, a análise filogenética mitocondrial revelou dois agrupamentos genéticos distintos, com alta diversidade haplotípica (Hecker *et al.*, 2025).

No Chile, foi realizada a primeira caracterização genética de *F. hepatica*, utilizando o gene mitocondrial, a análise revelou que 70% dos haplótipos estavam associados tanto à espécie hospedeira (bovinos ou equinos) quanto à origem geográfica (Cabrera *et al.*, 2024). Entre setembro de 2021 e agosto de 2022, foram coletados 500 exemplares adultos de *Fasciola* spp. em abatedouros de quatro províncias do noroeste do Irã, a partir de diferentes hospedeiros definitivos (bovinos, ovinos, caprinos e búfalos), destes, 49 amostras foram analisadas com base na região ITS1, e 23 sequências foram submetidas à análise do gene mitocondrial, a análise genética revelou oito haplótipos para *F. hepatica* e cinco para *F. gigantica*, indicando estruturas genéticas distintas entre as espécies na região (Galavani *et al.*, 2024).

Na Tunísia por meio de análises morfométricas e moleculares foi caracterização de *Fasciola* spp. com parasitos coletados a partir de fígados de

ovinos abatidos em matadouros no noroeste da Tunísia entre janeiro e março de 2021, as sequências obtidas apresentaram elevada similaridade genética (99,58–100%) com isolados de *F. hepatica* (Hammami *et al.*, 2023). Entre 2021 e 2022, ovinos foram abatidos em Jeddah, na Arábia Saudita e foram examinados para detecção de *Fasciola* spp., os parasitos adultos foram submetidos à amplificação e sequenciamento da região ITS1, resultando em 12 variantes genéticas de *F. hepatica*, as sequências apresentaram mais de 99,3% de similaridade com isolados de *F. hepatica* oriundos da Espanha e dos Estados Unidos (Alsulami *et al.*, 2023).

Um estudo realizado no Egito (2021-2022), investigou geneticamente *Fasciola* spp. em humanos, bovinos e moluscos Lymnaeídeos, em uma área recentemente identificada como endêmica, revelando *F. hepatica* como a espécie dominante (Ahmad *et al.*, 2022). No norte da Argélia (março de 2016 e fevereiro de 2017) foram analisadas geneticamente 24 espécimes de *F. hepatica* isolados de 12 bovinos, foram analisados por meio de marcadores mitocondriais e nucleares, revelando apenas dois haplótipos para o gene COI, indicando baixa variabilidade genética local (Chaouadi *et al.*, 2022). Na África do Sul, 71 exemplares de *Fasciola* spp. foram analisados utilizando marcadores mitocondriais e nucleares e a análise filogenética confirmou a ocorrência de *F. gigantica* no Zimbábue, *F. hepatica* em KwaZulu-Natal e coexistência de ambas as espécies em Mpumalanga (Haridwal; Malatji; Mukaratirwa, 2021).

No Brasil, dois estudos foram conduzidos, um envolvendo parasitos coletados em abatedouros dos estados do Rio Grande do Sul e Paraná e outro apenas no estado do Paraná. A primeira análise indicou que *F. hepatica* apresentava diversidade genética composta por sequências ancestrais com origem na Europa, Ásia e África, além de variantes derivadas da América do Sul (Schwantes *et al.*, 2020). E o segundo estudo analisou 16 amostras de *F. hepatica* provenientes de bovinos naturalmente infectados oriundos de 14 municípios, os resultados demonstraram alta homogeneidade genética entre os isolados (Pontarolo *et al.*, 2025). Dessa forma, a análise dos estudos filogenéticos demonstra que *F. hepatica* apresenta distribuição em diferentes continentes refletindo sua capacidade de adaptação e dispersão global.

2.7 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE *Fasciola hepatica*

O diagnóstico da infecção por *F. hepatica* pode ser realizado por meio da detecção de ovos do trematódeo em amostras fecais, *post mortem* ou ainda pela identificação de anticorpos ou DNA específicos do parasito (Charlier *et al.*, 2008; Graham-Brown *et al.*, 2019; Mas-Coma; Bargues; Valero, 2014, 2018). A análise coproparasitológica por sedimentação constitui o método mais empregado no diagnóstico de *F. hepatica*, em razão de sua rapidez e simplicidade (Mas-Coma; Valero; Bargues, 2023), embora diferentes técnicas e variações, como Kato-Katz e Flukefinder®, também tenham sido desenvolvidas (Zárate-Rendón *et al.*, 2023).

A possibilidade de realização do exame de sedimentação fecal em campo, sem que haja necessidade de infraestrutura laboratorial onerosa, configura um importante diferencial diagnóstico. Segundo Graham-Brown e colaboradores., (2019), essa simplicidade representa uma vantagem significativa, sobretudo em contextos de baixa tecnologia, nos quais o método é amplamente empregado devido à sua praticidade e baixo custo.

Embora o exame de sedimentação seja útil para detectar ovos de *F. hepatica*, seu período pré-patente de 8 a 12 semanas limita a detecção apenas a partir de aproximadamente 8 semanas pós-infecção (Sabatini *et al.*, 2023). Além disso, falsos positivos ou negativos podem ocorrer devido à retenção de ovos na vesícula biliar por até duas semanas após o tratamento (Flanagan *et al.*, 2011).

Na inspeção *post mortem*, o diagnóstico da fasciolose é realizado por meio da avaliação macroscópica do fígado e dos ductos biliares, permitindo a identificação de parasitos adultos e de lesões características da infecção. As principais alterações observadas incluem espessamento, fibrose e calcificação dos ductos biliares e lesões cicatriciais no parênquima hepático, devido ao processo de migração das formas jovens (Smithers, 1982).

Técnicas moleculares, como PCR e LAMP, apresentam vantagens diagnósticas; no entanto sua acurácia pode variar em função da pureza e da quantidade de DNA extraído. Estudos demonstram que, devido à disponibilidade limitada de DNA amplificável de *F. hepatica*, a sensibilidade da PCR e do LAMP

é inferior à obtida pela contagem de ovos fecais e pelo ELISA de coproantígenos (Arifin; Höglund; Novobilský, 2016).

Atualmente, entre os exames sorológicos mais utilizados e mais sensíveis no período pré-patente, destaca-se o ELISA. A técnica consiste na detecção anticorpos específicos no soro sanguíneo do hospedeiro ou mesmo no leite a granel para o diagnóstico do rebanho (Caravedo; Cabada, 2020; Drescher *et al.*, 2023; Sekiya; Zintl; Doherty, 2013). Entretanto, os exames sorológicos não fornecem resultados precisos sobre o estágio de infecção atual, uma vez que leva cerca de cinco a seis meses para a negatificação do teste, mesmo após o tratamento (Mas-Coma; Bargues; Valero, 2014). Além disso, a disponibilidade dessas técnicas para grandes populações ainda se mostra limitada, principalmente devido ao alto custo e à relação custo-benefício em países de baixa renda (Mas-Coma; Bargues; Valero, 2014, 2018).

Diversos kits ELISA foram desenvolvidos para detectar infecção por *F. hepatica* em tanque de leite, permitindo também avaliar a resposta ao tratamento em rebanhos (Sabatini *et al.*, 2023). Na Irlanda, estudos conduzidos em rebanhos leiteiros utilizando amostras de leite de tanque de refrigeração e testes ELISA para detecção de anticorpos contra *F. hepatica* demonstraram um padrão sazonal da infecção, com aumento gradual dos níveis de anticorpos ao longo da estação de pastejo no mês de janeiro (Bloemhoff *et al.*, 2015).

Na Noruega, um questionário online aplicado a 240 veterinários de animais de produção revelou que a utilização de anti-helmínticos era baseada principalmente no histórico clínico e manejo das pastagens, enquanto ferramentas diagnósticas, como a contagem de ovos fecais, foram pouco utilizadas (Nedrelid *et al.*, 2026). Segundo Reigate *et al.*, (2021), na ausência de um método diagnóstico único considerado totalmente eficaz para infecções por trematódeos, a avaliação geralmente envolve uma combinação de indicadores, incluindo sinais clínicos, histórico de pastoreio, dados de inspeção de matadouros, sorologia, detecção de antígenos fecais e contagem de ovos nas fezes, os quais são selecionados de acordo com as condições específicas do estudo ou da população analisada.

2.8 TRATAMENTO E RESISTÊNCIA DE *Fasciola hepatica* AOS ANTI-HELMÍNTICOS

Para o tratamento da fasciolose, é necessário utilizar drogas fasciolicidas de forma controlada e em conformidade com as condições sanitárias específicas de cada propriedade. Atualmente, existem compostos comercialmente disponíveis de diferentes classes farmacológicas, incluindo o albendazol, triclabendazol, nitroxinil, closantel, oxiclozanida, raxofanida e clorsulon (Castro-Hermida *et al.*, 2021).

Dentre esses princípios ativos, o triclabendazol é o principal medicamento utilizado em escala global, devido à sua eficácia tanto contra formas imaturas quanto adultas de *F. hepatica* (Kelley *et al.*, 2016). Além do uso isolado, o triclabendazol também pode ser administrado em associações comerciais para ampliar o espectro de ação antiparasitária, como: triclabendazol + ivermectina, triclabendazol + abamectina e triclabendazol + ivermectina + fembendazol. Contudo, outros princípios ativos, como closantel, albendazol e nitroxinil (Siles-Lucas *et al.*, 2020), apresentam atividade limitada a estágios específicos do parasito, atuando predominantemente sobre formas imaturas (closantel) ou adultas (albendazol e nitroxinil) (Kelley *et al.*, 2016). Dessa forma, a eficácia terapêutica pode variar de acordo com o estágio de infecção do hospedeiro e o período de desenvolvimento do parasito no organismo animal (Kelley *et al.*, 2016).

No Vale do Mantaro, Peru, dois testes de redução na contagem de ovos fecais em bovinos leiteiros naturalmente infectados por *F. hepatica* revelaram eficácia terapêutica reduzida do triclabendazol, embora alternativas, como nitroxinil, closantel, raxofanida + albendazol e clorsulon + Ivermectina, tenham se mostrado viáveis (Zárate-Rendón *et al.*, 2023). De forma complementar, diferenças na suscetibilidade *in vitro* de *F. hepatica* ao triclabendazol foram detectadas em isolados de bovinos abatidos no Peru, indicando maior resistência em Cusco do que Cajamarca, associada a fatores geográficos, sazonais e morfométricos (Fernandez-Baca *et al.*, 2022).

No Brasil, o Teste de Eclosão e Desenvolvimento de Ovos (*in vitro*, EDTH), realizado com amostras provenientes do Planalto Serrano Catarinense, avaliou pela primeira vez drogas comerciais em 121 amostras de bile bovina.

Como resultado, identificou-se resistência ao triclabendazol em duas amostras, bem como resistência/suscetibilidade indeterminada em dois isolados tratados com albendazol, um tratado com nitroxinil e seis tratados com triclabendazol (Chryssafidis *et al.*, 2023). Adicionalmente, relatos de resistência distribuídos globalmente confirmam a redução progressiva da eficácia do triclabendazol (Álvarez-Sánchez *et al.*, 2006; Belgin *et al.*, 2015; Cabada *et al.*, 2016; Gil *et al.*, 2014; Gordon *et al.*, 2012; Hanna *et al.*, 2015; Hassell; Chapman, 2012; Kelley *et al.*, 2016; Olaechea, F. *et al.*, 2011; Overend; Bowen, 1995; Winkelhagen *et al.*, 2012). Como alternativa, o pró-fármaco de triclabendazol, denominado Fosfatriclabeno (FTCB), foi desenvolvido por Flores-Ramos *et al.*, (2017) como uma formulação solúvel, possibilitando a administração intramuscular em ovinos com metade da dose do composto original (6 mg/kg), posteriormente, sua elevada eficácia fasciolicida foi confirmada em ovinos naturalmente e experimentalmente infectados.

Considerando a importância da fasciolose bovina em diversos países, Flores-Ramos *et al.* (2024) determinaram que a dose eficaz do FTCB para bovinos foi de 6 mg/kg por via intramuscular, equivalente à metade da dose clínica recomendada para a combinação comercial de triclabendazol + ivermectina. A eficácia fasciolicida do FTCB foi comparável à de outros três fármacos (closantel, triclabendazol + ivermectina e triclabendazol + albendazol) na redução de ovos e parasitos adultos de *F. hepatica*, entretanto, o closantel isolado não foi suficientemente efetivo contra vermes adultos (Flores-Ramos *et al.*, 2024).

Na busca por compostos mais potentes, (Valderas-García *et al.*, 2024) testaram 70 derivados de Benzimidazol em ovos de *F. hepatica*, posteriormente, os compostos mais promissores foram testados em vermes adultos, confirmando sua atividade fasciolicida. Entre eles, destacaram-se BZD31 e BZD59, que também se mostraram eficazes contra isolados resistentes, configurando-se como candidatos promissores para novas terapias anti-helmínticas.

Além disso, Chiappetta *et al.*, (2025) comprovaram que a administração combinada de albendazol + closantel em ovinos resultou na eficácia de 100% contra *F. hepatica*, superando o uso isolado de albendazol (85%) e closantel (92%), o que reforça a relevância da terapia combinada como alternativa para o controle da fasciolose. Em síntese, a crescente ocorrência de resistência ao

triclabendazol e a outros fármacos comerciais reforça a urgência em validar novas terapias alternativas, as quais representam estratégias promissoras para assegurar a eficácia no controle da fasciolose.

2.9 CONTROLE E PROFILAXIA DE *Fasciola hepatica*

Em termos de controle, as estratégias baseadas em medidas preventivas, práticas de higiene e o saneamento ambiental, que, quando combinados, mostram-se altamente eficazes na redução da prevalência de trematódeos (Yihunie *et al.*, 2024). Recomenda-se primeiramente testar todo o rebanho por meio de exames coproparasitológicos ou sorológicos (Mas-Coma; Valero; Bargues, 2019). Os testes de diagnóstico devem orientar o momento adequado para a aplicação dos fármacos, além de serem empregados no controle parasitário dos animais de reposição antes de sua entrada no rebanho, utilizando o medicamento apropriado e a dosagem correta para evitar subdosagem, e essas ações devem ser associadas a estratégias de manejo que impeçam a reinfecção em áreas contaminadas (Kelley *et al.*, 2021).

Sistemas de monitoramento climático podem auxiliar os agricultores a determinar a melhor época para o tratamento (Howell; Williams, 2020). A identificação de uma janela sazonal de transmissão evidencia um período crucial para a implementação de medidas de controle direcionadas, como tratamento anti-helmínticos adequados, vigilância intensificada e monitoramento diagnóstico ampliado, reduzindo o risco de infecção e atenuando o impacto econômico sobre os produtores pecuários (Cuervo *et al.*, 2025).

No sul do Brasil, recomenda-se a administração estratégica de fasciolicidas no outono e na primavera para reduzir a eliminação de ovos nas pastagens e controlar as infecções adquiridas nos períodos de maior disponibilidade de metacercárias. Em áreas de alto risco, um terceiro tratamento no início do verão pode ser adotado para reduzir a carga parasitária e minimizar os prejuízos produtivos (Echevarria *et al.*, 1992).

De acordo com Mas-Coma, e colaboradores., (2020), é fundamental identificar o principal hospedeiro intermediário considerando as particularidades de cada região, bem como os reservatórios mais relevantes para a transmissão local do parasito. Conhecer a sazonalidade regional é igualmente importante,

pois fatores como altas precipitações e temperaturas entre 10 °C e 30 °C favorecem a sobrevivência do gastrópode, contribuindo para o surgimento de novas áreas de infestação (Malone *et al.*, 1984).

Em algumas propriedades, torna-se necessário drenar ou cercar áreas de maior risco; entretanto, isso pode ser desafiador, pois os hábitos dos moluscos podem ser pontuais, temporários, difíceis de identificar ou amplamente distribuídos nas pastagens (Howell; Williams, 2020). Como alternativa, pode-se evitar o pastoreio nessas áreas durante os períodos de maior risco (Knubben-Schweizer *et al.*, 2010). Estratégias como pastoreio rotativo e a instalação de bebedouros com água potável também são fundamentais para reduzir as chances de infecção (Lan *et al.*, 2025).

Em áreas extensas, sem piqueateamento, pode ser necessária a introdução de predadores naturais dos gastrópodes como aves anseriformes e peixes (Mas-Coma, S; Bargues; Valero, 2005; Mas-Coma, S; Valero; Bargues, 2019; Olaechea, 2004). Essas ações reduzem o contato entre possíveis hospedeiros definitivos e as metacercárias, interrompendo o ciclo do parasito.

Por ser uma infecção zoonótica, os seres humanos estão entre os grupos de risco para a infecção, na qual o hábito alimentar desempenha papel central no risco de infecção; morar em regiões endêmicas também aumenta significativamente a probabilidade de infecção (Caravedo; Cabada, 2020; Mas-Coma, S; Bargues; Valero, 2005; Mas-Coma, S; Valero; Bargues, 2019; Mas-Coma, Santiago; Valero; Bargues, 2023). Hortas domésticas adubadas com fezes, especialmente de bovinos, devem passar por processo de compostagem antes da aplicação, garantindo a inativação dos ovos de *Fasciola* spp. (Quang *et al.*, 2025). Além disso, consumir verduras cultivadas em áreas com presença de gastrópodes e com circulação de infecção entre animais é um fator determinante para a fasciolose humana (Rosas-Hostos Infantes *et al.*, 2023).

A implementação de programas educacionais voltados à conscientização comunitária sobre a doença e à promoção de práticas seguras tanto no manejo dos animais quanto no consumo de vegetais por seres humanos são essenciais (Quang *et al.*, 2025). Outra estratégia de controle envolvendo campanhas anuais de tratamento em massa, como propostas pela OMS no Altiplano Norte da Bolívia entre 2007 e 2008, região de alta umidade onde o programa vem sendo

aplicado desde então, acompanhado de estudos experimentais ao longo prazo, monitoramento de campo e ações de controle (Villegas *et al.*, 2012).

Segundo Leinmueller e colaboradores., (2024), características comportamentais e traços de personalidade dos produtores podem influenciar a percepção e o manejo de enfermidades parasitárias, destacando também a importância de estratégias de comunicação e orientação veterinária mais individualizadas para promover maior adesão às medidas de controle e prevenção. Com isso, conforme destacado por Endalamew e colaboradores., (2025) e Nedrelid e colaboradores., (2026), programas e palestras sobre a sanidade animal conduzidos por veterinários para produtores desempenham um papel importante no controle do parasito. As recomendações devem priorizar estratégias baseadas em evidências de regiões que apresentam alta incidência. Isso inclui a vermifugação sazonal, rotação de pastagens para interromper a ecologia dos moluscos, avaliação das variações climáticas locais e ampliação do acesso a testes diagnósticos, como estudos regionais específicos e ajustados à realidade de cada localidade, além do treinamento e divulgação de material com estratégias de controle e prevenção (Cuervo *et al.*, 2025; Mas-Coma, S; Valero; Bargues, 2019).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os fatores epidemiológicos relacionados à ocorrência da fasciolose bovina em Santa Catarina, utilizando o Planalto de Santa Catarina e região Oeste do estado como modelos de estudo, bem como realizar a análise filogenética de helmintos adultos de *F. hepatica* coletados em frigoríficos distribuídos pelo estado.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a ocorrência da fasciolose bovina em propriedades de diferentes regiões de Santa Catarina;

Aplicar um questionário epidemiológico a produtores rurais da Planalto de Santa Catarina e região Oeste Catarinense;

Delinear o perfil epidemiológico relacionados à presença ou ausência da fasciolose bovina nas propriedades;

Coletar parasitos adultos de *F. hepatica* de bovinos abatidos em diferentes frigoríficos de SC;

Realizar a análise filogenética dos helmintos adultos coletados no estado, comparando-os com sequências depositadas no banco de dados GenBank.

4 ARTIGO 1 – AVALIAÇÃO DOS FATORES EPIDEMIOLÓGICOS ASSOCIADOS À OCORRÊNCIA DE FASCIIOSE BOVINA EM SANTA CATARINA, BRASIL

EVALUATION OF EPIDEMIOLOGICAL FACTORS ASSOCIATED WITH THE OCCURRENCE OF BOVINE FASCIOLIASIS IN THE SANTA CATARINA, BRAZIL.

Larissa Américo^{1,2}, Rafaela Gil Bossle^{1,2}, Thayná Fiorentin Moreira^{1,2}, Faiane Reila Sousa Centenaro Duarte^{1,2}, Amanda Martins Ungri³, Felipe Rieth de Lima^{1,2}, Ana Paula Remor Sebolt^{1,2}, Anderson Barbosa de Moura¹, Andreas Lazaros Chryssafidis^{1,2}.

¹Laboratory of Parasitology and Parasitic Diseases (LAPAR), Department of Veterinary Medicine, Agroveterinary Sciences Center, Santa Catarina State University, Lages, Santa Catarina, Brazil.

²Laboratory for the Development of Health Technologies (LADETES), Department of Veterinary Medicine, Agroveterinary Sciences Center, Santa Catarina State University, Lages, Santa Catarina, Brazil.

³Virology Laboratory, Department of Veterinary Medicine, Agroveterinary Sciences Center, Santa Catarina State University, Lages, Santa Catarina, Brazil.

Resumo: *Fasciola hepatica* é um trematódeo digenético de importância veterinária e zoonótico que parasita o fígado de diversas espécies de mamíferos, principalmente ruminantes. O presente estudo teve como objetivo caracterizar o perfil epidemiológico da fasciolose bovina no Planalto de Santa Catarina, identificar fatores associados à ocorrência da infecção e comparar essas características com propriedades da região Oeste do estado. Foram avaliadas 108 propriedades distribuídas em municípios do Planalto de Santa Catarina por meio de questionário epidemiológico estruturado. Adicionalmente, 16 propriedades da região Oeste foram incluídas para fins de comparação epidemiológica. Inicialmente, realizou-se análise descritiva das variáveis, com resultados expressos em frequências absolutas e relativas. Posteriormente, foi realizada análise comparativa entre o município de Capão Alto, representativo do perfil epidemiológico do Planalto, e a região Oeste, utilizando o teste exato de Fisher, com estimativa das razões de chances (*odds ratio* – OR) e respectivos intervalos de confiança de 95% (IC95%). A prevalência da infecção no Planalto de Santa Catarina foi de 28,7% (31/108), sem diferenças significativas entre os municípios avaliados, indicando um perfil epidemiológico regional homogêneo, caracterizado predominantemente por sistemas extensivos de criação, propriedades de maior extensão territorial e acesso direto dos animais a fontes naturais de água. Em contraste, nenhuma propriedade positiva foi identificada na região Oeste, caracterizada predominantemente por sistemas de criação intensivo e semi-intensivo, nos quais os animais não possuem acesso direto a fontes naturais de água. A ocorrência da infecção esteve significativamente associada ao manejo extensivo e à presença de fontes naturais de água. Conclui-se que fatores relacionados ao sistema de criação e às características ambientais desempenham papel fundamental na ocorrência da fasciolose bovina, reforçando a importância da adoção de medidas de controle adaptadas ao perfil epidemiológico de cada região.

Palavras-chave: *Fasciola hepatica*; zoonose; epidemiologia; controle; estratégias de manejo.

Abstract: *Fasciola hepatica* is a digenetic trematode of veterinary and zoonotic importance that parasitizes the liver of several mammalian species, particularly ruminants. This study aimed to characterize the epidemiological profile of bovine fasciolosis in the Santa Catarina Plateau, southern Brazil, identify factors associated with the occurrence of infection, and compare these characteristics with cattle farms located in the western region of the state. A total of 108 cattle farms from municipalities in the Santa Catarina Plateau were evaluated using a structured epidemiological questionnaire. Additionally, 16 farms from western Santa Catarina were included for comparative epidemiological characterization. Initially, a descriptive analysis of the variables was performed, with results expressed as absolute and relative frequencies. Subsequently, a comparative analysis was conducted between the municipality of Capão Alto, considered representative of the epidemiological profile of the Plateau region, and the western region using Fisher's exact test, with estimation of odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (95% CI). The prevalence of *F. hepatica* infection in the Santa Catarina Plateau was 28.7% (31/108), with no significant differences among the evaluated municipalities, indicating a homogeneous regional epidemiological profile characterized predominantly by extensive production systems, large farm areas, and direct access of cattle to natural water sources. In contrast, no positive farms were identified in the western region, where intensive and semi-intensive production systems predominated and cattle had no direct access to natural water sources. The occurrence of infection was significantly associated with extensive grazing systems and the presence of natural water sources. It is concluded that production systems and environmental characteristics play a fundamental role in the occurrence of bovine fasciolosis, highlighting the importance of implementing control strategies tailored to the epidemiological profile of each region.

Keywords: *Fasciola hepatica*; zoonosis; epidemiology; control; management strategies.

4.1 INTRODUCTION

Fasciola hepatica is a liver fluke with worldwide distribution and has been reported in 81 countries (Fürst *et al.*, 2012). Although infection is most frequently observed in ruminants, *F. hepatica* can also infect horses, pigs, wild animals and humans (Bowman, 2020). Owing to its high incidence, fascioliasis exerts a substantial impact on the global economy, particularly within the livestock production sector (Aleixo *et al.*, 2015; Mas-Coma, 2005). Beyond reductions in productivity, the disease leads to a significant number of liver condemnations in

slaughterhouses, resulting in estimated economic losses of approximately US\$ 3 billion/year (Charlier *et al.*, 2014).

Its life cycle is indirect, with an invertebrate intermediate host, and a vertebrate definitive host (Acha; Szyfres, 2003; Caravedo; Cabada, 2020b). The prevalence of fascioliasis is related to environmental and climatic factors, which provide adequate conditions for the development of the parasite and its intermediate host. Among these factors, temperatures between 10 and 25 °C and the presence of freshwater areas and high relative humidity (Aleixo *et al.*, 2015; Dutra *et al.*, 2010).

Fascioliasis is considered a neglected tropical disease in several countries, especially in South America, where is considered a hyperendemic disease (Calvani; Šlapeta, 2020; Mas-Coma, 2005; WHO, 2015). In Brazil, the national cattle herd reached 238,626,442 bovines in 2023, distributed across approximately 2,554,415 agricultural establishments (IBGE, 2023). The spread of bovine fascioliasis in Brazil has been mainly attributed to changes in land use, particularly the expansion of pasture areas and the suppression of native vegetation, as well as to the intense movement of animals, these factors pose significant risks to animal health, biodiversity, and vulnerable human populations (Almeida *et al.*, 2024). In the country, an annual economic loss is of around US\$210 million was estimated, with the major impact at the South Region, being US\$147 million in the State of Rio Grande do Sul and US\$ 24 million in the State of Santa Catarina (Molento *et al.*, 2018b).

The State of Santa Catarina is located in southern Brazil and has a livestock population exceeding 4,540,794 ruminant animals (IBGE, 2023). In Santa Catarina, the high incidence of fascioliasis in low-altitude municipalities, particularly those located between 500 and 600 meters(m) above sea level and closer to the coastal area, contributed to the characterization of the state as endemic for the disease (Fiss *et al.*, 2012; Serra-Freire; Nuernberg, 1992; Silva *et al.*, 2020).

The Santa Catarina Plateau is located in the central portion of the state and presents distinct characteristics, such as milder climate, an altitude that can exceed 1,800 meters above sea level, and characteristic vegetation, which differentiate it from other regions of state (Córdova *et al.*, 2013). However, Américo *et al.*, (2022), through field surveys and the analysis of inspection data

from slaughterhouses, confirmed the occurrence of autochthonous cases in the region. Additionally, the lymnaeid snail *Pseudosuccinea columella*, an important intermediate host of *F. hepatica*, has been morphologically identified in this area (Américo *et al.*, 2022).

Considering the economic importance of fascioliasis for animal and human health, epidemiological studies in regions with different climatic conditions and livestock management systems are essential to identify factors associated with infection. In this context, the present study was conducted in municipalities of the Santa Catarina Plateau and the West region of the state of Santa Catarina, southern Brazil, which are characterized by distinct production systems; the Santa Catarina Plateau is predominantly dedicated to beef cattle raised under extensive livestock systems, whereas the West region is mainly focused on dairy cattle farming. Thus, this study aimed to evaluate and compare the risk factors associated with *F. hepatica* infection in cattle from these two regions, in order to identify epidemiological differences related to the distinct production systems and regional characteristics.

4.2 MATERIAL AND METHODS

4.2.1 Research Ethics

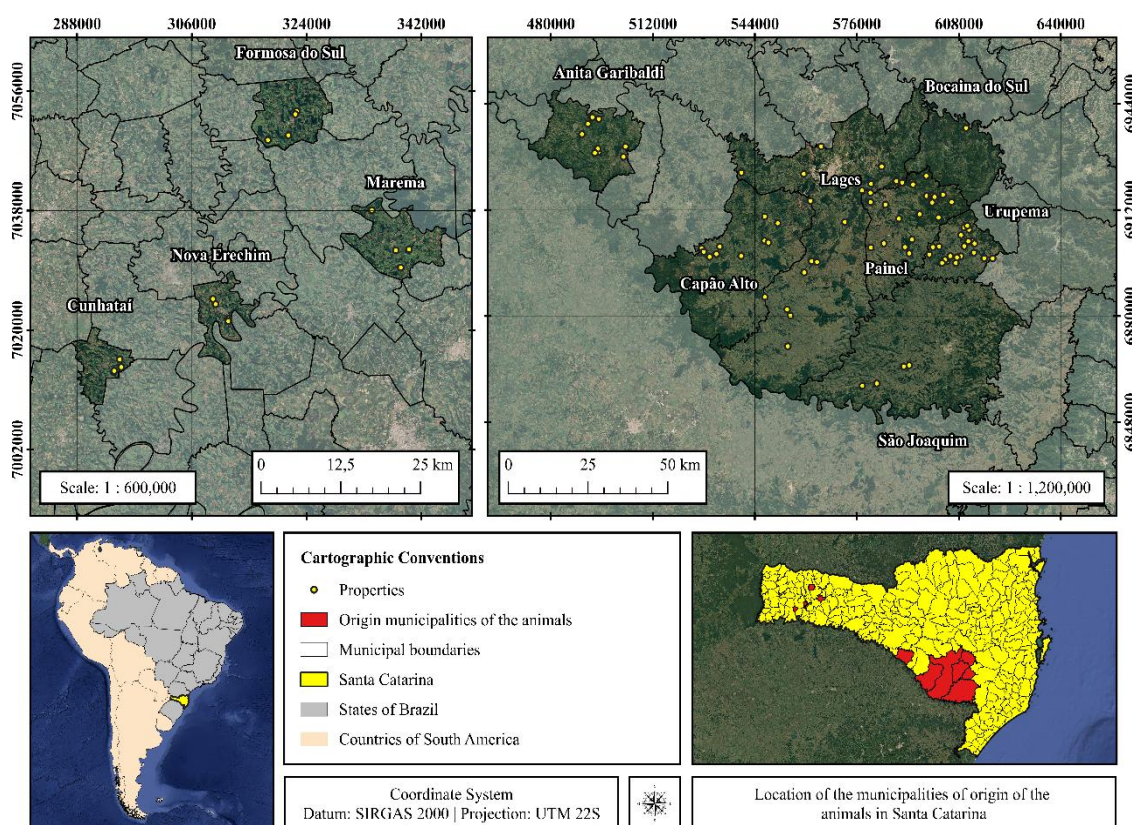
The methods used in present study were approved by the Animal Ethics Committee (CEUA/CAV/UDESC) under protocol number 5381070619.

4.2.2 Santa Catarina Plateau

In the present study, among 30 municipalities that comprise the Santa Catarina Plateau of Santa Catarina state, according to the IBGE classification (IBGE, 1990), seven were selected for the epidemiological evaluation of risk factors associated with *F. hepatica* infection. The municipalities were initially selected at random from those located in the Santa Catarina Plateau. However, logistical restrictions imposed by the COVID-19 pandemic during the sampling period limited the study to seven municipalities. The selected municipalities (coordinates) were Anita Garibaldi (−27.6872°, −51.1272°), Capão Alto

(-27.9394° , -50.5094°), Bocaina do Sul (-27.7480° , -50.4666°), Lages (-27.8150° , -50.3269°), Painei (-27.9233° , -50.0982°), São Joaquim (-28.2881° , -49.9346°), and Urupema (-27.9558° , -49.8722°). A total of 108 farms located across seven municipalities (Figure 2) were visited. These properties had been previously included in a study conducted by this research group and comprised both properties with cattle positive for fascioliasis, with confirmation of autochthonous cases, and properties with no record animal positive for *F. hepatica* (Américo *et al.*, 2022).

Figure 2 - Distribution of properties visited in seven municipalities (Anita Garibaldi, Bocaina do Sul, Capão Alto, Lages, Painei, São Joaquim and Urupema), in the Santa Catarina Plateau and four municipalities in the west region of Santa Catarina (Cunhataí, Formosa do Sul, Marema and Nova Erechim).



The region is located in the central portion of the state of Santa Catarina and presents distinct characteristics in terms of climate, relief, vegetation, and moisture regime when compared to other regions of the state. The predominant

climate is humid subtropical (Cfb), according to the Köppen–Geiger classification, characterized by mild summers and harsh winters. The mean annual temperature ranges from 12°C to 16°C, with winter minimum temperatures frequently falling below 0 °C (EPAGRI/CIRAM, 2022). Relative air humidity remains high throughout the year, with average values exceeding 75% while annual rainfall ranges between 1,200 mm and 1,800 mm (IBGE, 2021).

The topography is predominantly undulating to mountainous, with altitudes ranging from 900 to 1,800 meters (Pereira *et al.*, 2020). The natural vegetation of the region is mainly composed of formations: high-altitude grasslands, consisting of grasses and small herbaceous species, and mixed ombrophilous forest, characterized by the presence of *Araucaria angustifolia*, a native species considered a regional symbol (EPAGRI/CIRAM, 2022; IBGE, 2021).

4.2.3 West Santa Catarina Region

The West Region of the State of Santa Catarina comprises 118 municipalities (Gasper *et al.*, 2013; Pereira *et al.*, 2020). For the present investigation, four municipalities were selected, totaling 16 farms visited (Figure 2). An epidemiological questionnaire was applied on each farm, and fecal samples were collected from cattle older than 12 months of age. The animals selected for sampling were chosen by the farmer at the time of collection. Fecal samples were analyzed using the adapted spontaneous sedimentation coproparasitological technique. (Hoffman; Pons; Janer, 1934; Américo *et al.*, 2022). The municipalities included in the study were Cunhataí (−26.9700°, −53.0883°), Formosa do Sul (−26.6450°, −52.7947°), Marema (−26.8022°, −52.6269°), and Nova Erechim (−26.8983°, −52.9069°) (Figure 2).

The municipalities were selected based on milk productivity per area (Hott *et al.*, 2023). The total sample size for ruminants per municipality in the West region was calculated based on the prevalence estimate derived from simple random sampling (Américo *et al.*, 2022; OPS, 2021). The selection considered localities in which, according to data from the Integrated Company for Agricultural Development of Santa Catarina (CIDASC), there were no records of animals positive in slaughterhouses. In each property, an epidemiological questionnaire

was applied, containing information relevant to risk factors for bovine infection by *F. hepatica* in the region.

The climate of region is classified as humid subtropical mesothermal (Cfa), according to the Köppen–Geiger classification, and is characterized by hot summers and mild winters. The mean annual temperature ranges between 17 °C and 19°C (IBGE, 2021). In some areas, summer maximum temperatures may exceed 30°C, whereas winter minimum temperatures are around 8°C (EPAGRI/CIRAM, 2022).

Relative air humidity remains high, ranging from 70% to 80%, and annual rainfall varies between 1,800 mm and 2,200 mm. Extreme weather events, such as thunderstorms and hailstorms, are relatively common during spring and summer (EPAGRI/CIRAM, 2022). The relief is predominantly composed of hills and valleys, with altitudes ranging from 300 to 800m (IBGE, 2020). The original vegetation of the region consists of seasonal deciduous forest, also referred to as Araucaria Forest and inland Atlantic Forest; however, large portions of this vegetation has been replaced by agricultural areas and pasturelands (IBGE, 2020).

4.2.4 Application of the Epidemiological Questionnaire

The questionnaire consisted of 11 questions addressing the property area (ha); cattle herd size; origin of animals, and presence of clinical signs in the evaluated animals; livestock production system; presence and type of water sources; previous use of antiparasitic drugs, including the active compound and frequency of application; previous coproparasitological examination; and reports of previous cases of fascioliasis on the property (Appendix A).

4.2.5 Geoenvironmental characterization

At the time of questionnaire application, the geographic location of each property was recorded using the GPS Coordinates application (Financept), and the data were subsequently exported to Google Earth (Google). The QGIS software (OSGeo) was used to generate maps of the overall spatial distribution of the properties in the Santa Catarina Plateau and West region, as well as a heat

map based on the distribution of properties with and without animals positive for *F. hepatica*.

4.2.6 Statistical analysis

Initially, a descriptive statistical analysis was performed using data obtained from epidemiological questionnaires applied to 108 properties located in the Santa Catarina Plateau, as well as to 16 properties in the West Region of the state. Categorical variables were presented as absolute and relative frequencies (%), with proportions expressed as n/N . Subsequently, an exploratory comparative analysis was performed between the properties from the West region and those belonging to the municipality of Capão Alto, located in the Santa Catarina Plateau. Comparisons between regions were conducted using the two-tailed Fisher's exact test, due to the small sample size and the presence of expected frequencies lower than five in several categories, with $\alpha = 0.05$.

To assess factors associated with the occurrence of *F. hepatica*, 2 x 2 contingency tables were built, considering the presence or absence of infection as the dependent variable. The odds ratio (OR) and their respective 95% confidence intervals (95% CI) were calculated. In cases where zero counts were observed in any cell, the Haldane-Anscombe correction was applied by adding 0.5 to all cells, allowing OR estimation.

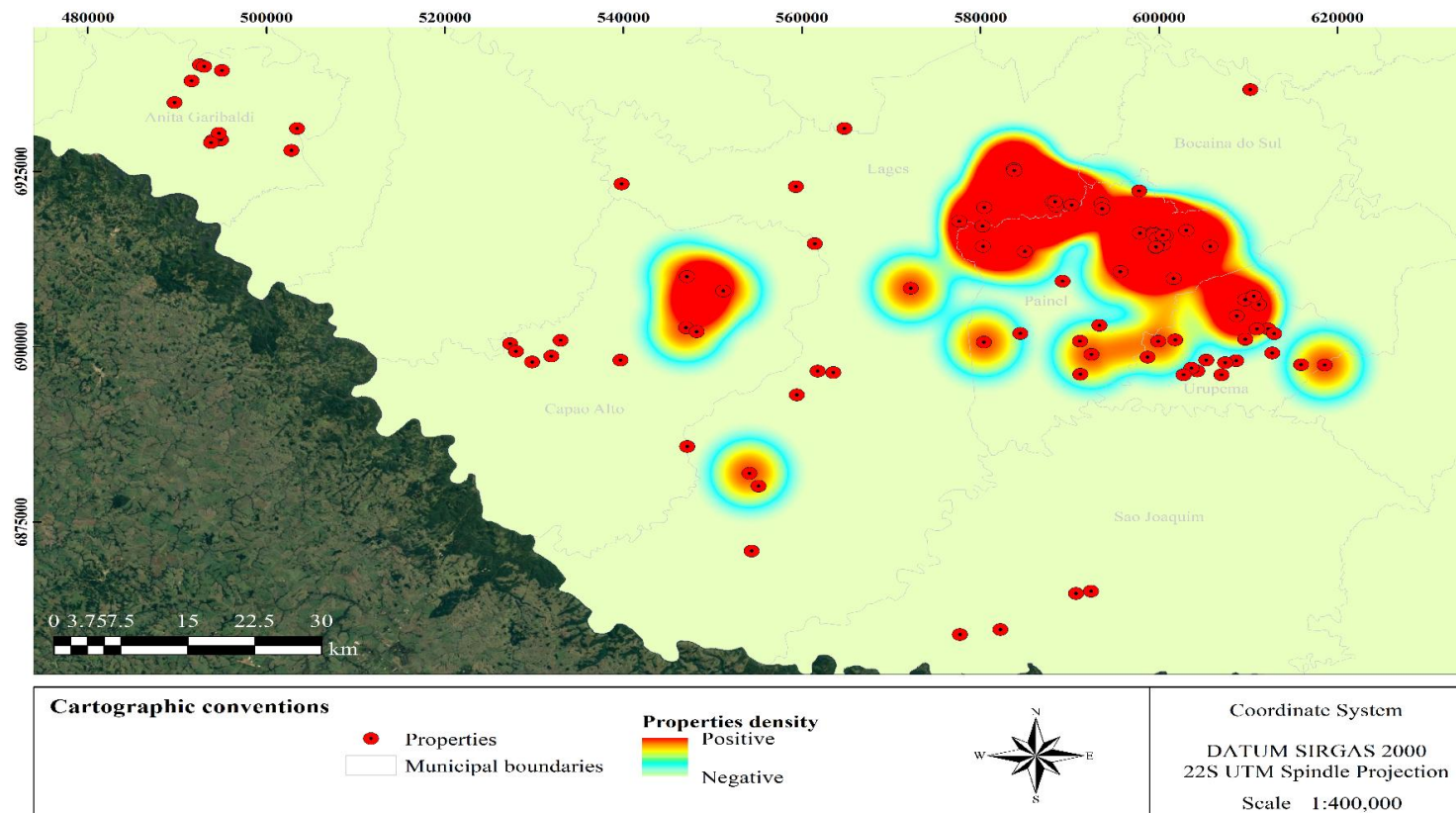
Variables originally categorized into multiple classes were dichotomized, when necessary, based on biological and epidemiological criteria, to improve analytical robustness. The variables included in the association analysis were region, herd management system, access of animals to natural water sources, fasciolicide use, animal origin, antiparasitic treatment frequency, and herd size. All statistical analyses were performed using the R (R Core Team), adopting a two-tailed approach. The results were interpreted based on statistical significance and biological relevance.

4.3 RESULTS AND DISCUSSION

A total of 108 rural properties distributed across the seven municipalities in the Santa Catarina Plateau were evaluated, of which 28.7% (31/108) had positive animals for *F. hepatica*. The spatial distribution of positive cases showed a

greater concentration in the municipalities of Lages and Paineira, whereas relatively lower prevalences were observed in Bocaina do Sul, Capão Alto, and Urupema. In contrast, no positive animals were identified in the municipalities of Anita Garibaldi and São Joaquim (Figure 3). In the West region of Santa Catarina, 16 rural properties distributed among the selected municipalities were evaluated, and fecal samples were collected from 326 cattle. No sample tested positive for *F. hepatica* eggs by coproparasitological examination. These results demonstrate that, even within the same state, the occurrence of fasciolosis exhibits a heterogeneous distribution, suggesting the influence of environmental, productive, and management-related factors on the maintenance of the parasite life cycle.

Figure 3 - Heatmap representing the spatial distribution and concentration of rural properties positive and negative for *Fasciola hepatica* in the evaluated municipalities of the Santa Catarina Plateau, Brazil, including positive properties in the municipalities of Lages, Capão Alto, Urupema, Painei, and Bocaina do Sul, and negative properties in Anita Garibaldi and São Joaquim



Among the municipalities evaluated in the Santa Catarina Plateau, no statistically significant differences were observed for the variables investigated in the epidemiological questionnaire, indicating the homogeneity of productive, environmental, and management characteristics among the studied properties. Therefore, the municipality of Capão Alto was adopted as a representative area of the Santa Catarina Plateau, as it presents conditions similar to those observed in the other municipalities of the region, allowing the obtained results to be interpreted as representative of a broader regional epidemiological scenario. Considering the comparative analysis between Capão Alto, used as a representative model of the Santa Catarina Plateau, and the West region, a significant difference in the occurrence of *F. hepatica* was observed. While 26.7% (4/15) of the properties evaluated in Capão Alto had positive animals, no positive property was identified in the West region (Fisher's exact test, $p = 0.037$) (Table 1).

Table 1 - Factors associated with the occurrence of bovine fasciolosis based on the epidemiological comparison between farms from the Santa Catarina Plateau, characterized by confirmed occurrence of *Fasciola hepatica*, and farms from the West region of Santa Catarina, where no positive properties were detected, including odds ratio (OR) estimates, 95% confidence intervals (95% CI), and p-values obtained by the two-tailed Fisher's exact test.

Variable	Risk category	OR (IC95%)	p (Fisher's exact test, two-tailed)
Region	Capão Alto vs Oeste	12.9 (1.2 – 140.0)	0.037
Herd management	Extensive vs Intensive	49.0 (4.5 – 530.0)	< 0.001
Access of animals to natural water sources	With animal access vs Without animal access	>100 (estimado)	< 0.001
Fasciolicide use	No vs Yes	12.9 (1.3 – 124.0)	0.028
Animal origin (same municipality)	No vs Yes	8.5 (1.6 – 44.0)	0.010
Antiparasitic treatment frequency	≤3 months vs >3 months	1.4 (0.3 – 6.5)	0.320
Herd size	>100 vs ≤100	1.8 (0.4 – 8.0)	0.430

In cases where zero counts were observed in any cell, the Haldane-Anscombe correction was applied. A p-value < 0.05 was considered statistically significant.

The restriction of *F. hepatica* occurrence to properties located in the Santa Catarina Plateau reinforces the existence of a non-homogeneous spatial distribution of bovine fasciolosis. This pattern is consistent with recent evidence

demonstrating the geographical expansion of the disease in Brazil. According Almeida *et al.*, (2024) , evaluating slaughter data from more than 414 million cattle between 2002 and 2020, observed a substantial increase in the proportion of municipalities reporting the disease, rising from 3.48% (194/5,568) to 13.4% (747/5,568).

Regarding farm size, properties evaluated in the Santa Catarina Plateau (Table 2) were predominantly larger than 150 hectares, although the highest proportion of positive properties was observed among those ranging from 101 to 105 hectares, where 68.7% (11/16) showed the occurrence of *F. hepatica*. With respect to herd size, the most frequent category consisted of properties with 1 to 50 animals, representing 45.4% (49/108) of the total. In contrast to the Santa Catarina Plateau, the landholding structure of the West region (Table 3) was characterized by the predominance of small farms, with 87.5% (14/16) ranging from 1 to 50 hectares and no property exceeding 100 hectares.

Table 2 - Results of the epidemiological questionnaire applied in 108 cattle properties, from the municipalities of Anita Garibaldi, Bocaina do Sul, Capão Alto, Paineira, Lages, São Joaquim and Urupema, located in Santa Catarina Plateau, Brazil.

Questions	Variables	Number of properties	Percentage in relation to the total (n=108) properties (%)	Number of positive properties	Percentage in relation to the number of properties in the category (%)	Percentage of positives properties in relation to the total number of properties(n=108) (%)
Total property area (hectare)	1 to 50	27	25.0	6	22.2	5.5
	51 to 100	21	19.4	7	33.3	6.4
	101 to 150	16	14.8	11	68.7	10.1
	>150	40	37.1	6	15.0	5.5
	Uninformed	4	3.7	1	25.0	0.9
Herd size	1 to 50	49	45.4	14	28.5	12.9
	51 to 100	26	24	11	42.3	10.1
	101 to 150	10	9.2	3	30.0	2.7
	>150	20	18.5	2	10.0	1.8
	Uninformed	3	2.7	1	33.3	0.9
Origin of animals ¹	Property	83	-	25	30.1	-
	Municipality	66	-	17	25.7	-
	Other Municipality	39	-	12	30.7	-
	Uninformed	2	-	1	50	-
Livestock exploitation	Beef cattle	96	88.9	27	28.1	25.0
	Dairy cattle	5	4.6	0	0	0
	Dairy and beef cattle	4	3.7	2	50.0	1.8
	Uninformed	3	2.7	2	66.6	1.8
	Extensive	104	96.3	29	27.8	26.8
Herd management	Intensive	0	0	0	0	0
	Semi-intensive	2	1.8	1	50.0	0.92
	Uninformed	2	1.8	1	50.0	0.92
Presence of a stream, spring, river, wetted areas	No	0	0	0	0	0
	Yes	107	99.0	31	28.9	28.7

	Uninformed	1	0.9	0	0	0
	Potable water	2	-	0	0	-
	Stream	69	-	18	26.0	-
Source of water ²	Spring	42	-	16	38.0	-
	River	44	-	14	31.8	-
	Weir	90	-	25	27.7	-
	Uninformed	2	-	1	50	-
Use of antiparasitic medication 6 months ago	No	2	1.8	0	0	0
	Yes	104	96.3	31	29.8	28.7
	Uninformed	2	1.8	0	0	0
	Ivermectin	44	-	16	36.3	-
	Pyrethroid	2	-	1	50.0	-
	Levamisole	38	-	15	39.4	-
	Doramectin	16	-	4	33.3	-
Active principle used ³	Fipronil	5	-	0	0	-
	Albendazole	13	-	7	53.8	-
	Fluazuron+Ivermectin	1	-	0	0	-
	Moxidectin	2	-	0	0	-
	Abamectin	5	-	0	0	-
	Doramectin+Abamectin	1	-	0	0	-
	Ivermectin+Abamectin	1	-	0	0	-
	Uninformed	9	-	2	22.2	-
	<1 month	17	15.7	4	23.5	3.7
Frequency of anti-parasitic application	1 -3 months	53	49.0	12	22.6	11.1
	4 - 6 months	15	13.9	7	46.6	6.4
	>6 months	5	4.6	2	40.0	1.8
	Uninformed	18	16.6	6	33.3	5.5
Previous coproparasitological analysis	No	101	93.5	30	29.7	27.7
	Yes	6	5.5	1	16.6	0.9
	Uninformed	1	0,9	0	0	0
	Diarrhea	22	-	6	27.2	-
	Hypocolored mucosa	15	-	3	20.0	-
Presence of clinical signs ⁴	Fever	5	-	0	0	-
	Weight loss	13	-	1	7.6	-
	Drop in production (meat, milk)	3	-	2	66.6	-
	Submandibular edema	20	-	7	35.0	-

Previous reports of fascioliasis on the property	Uninformed	1	-	0	0	-
	No	80	74.0	12	15	11.1
	Yes	25	23.1	18	72	16.6
	Uninformed	3	2.7	1	33.33	0.9

¹There were properties with more than one origin.

²There were properties with more than one source of water.

³Some farms reported the use of more than one active ingredient. Only the active ingredients were considered; dosage was not evaluated.

⁴There were properties with more than one clinical sign.

Table 3 - Analysis of the epidemiological questionnaire applied in 16 cattle properties, from the municipalities of Cunhataí, Formosa do Sul, Marema and Nova Erechim, located in the western region of Santa Catarina State, Brazil.

Questions	Variables	Number of properties	Percentage in relation to the total properties (n=16) included from the respective region (%)
Total property area (hectare)	1 to 50	14	87.5
	51 to 100	1	6.2
	101 to 150	0	0
	>150	0	0
Herd size	1 to 50	4	25.0
	51 to 100	9	56.2
	101 to 150	1	6.2
	>150	2	12.5
Origin of animals ¹	Property	16	100.0
	Municipality	0	0
	Other Municipality	3	18.7
Livestock exploitation	Beef cattle	0	0
	Dairy cattle	16	100.0
	Dairy and beef cattle	0	0
Creation type	Extensive	2	12.5
	Intensive	7	43.7
	Semi-intensive	7	43.7
	No	14	87.5

Presence of a stream, spring, river, wetted areas	Yes	2	12.5
Source of water ²	Potable water	1	-
	Artesian well	9	-
	Spring	4	-
	River	0	-
	Weir	2	-
Use of antiparasitic medication 6 months ago	No	3	18.7
	Yes	13	81.2
Active principle used ³	Ivermectin	1	-
	Fenbendazole	4	-
	Levamisole	1	-
	Doramectin	1	-
	Eprinomectin	2	-
	Albendazole	5	-
	Fluazuron+	1	-
	Eprinomectin	1	-
Frequency of anti-parasitic application	<1 month	1	6.2
	1 -3 months	0	0
	4 - 6 months	1	6.2
	>6 months	11	68.7
	Uninformed	3	18.7
Previous coproparasitological analysis	No	15	93.7
	Yes	1	6.2
Presence of clinical signs ⁴	Diarrhea	3	18.7
	Fever	1	6.2
	Icterus	1	6.2
	No clinical signs	11	68.7
Previous reports of fascioliasis on the property	No	16	100.0
	Yes	0	0

¹There were properties with more than one origin.

²There were properties with more than one source of water.

³Some farms reported the use of more than one active ingredient. Only the active ingredients were considered; dosage was not evaluated.

⁴ There were properties with more than one clinical sign.

In the Santa Catarina Plateau, animal origin was varied, with the acquisition of cattle from different sources being common, although animals were predominantly raised on the property itself or acquired from producers located within the same municipality. In the West region, animal origin followed a more restrictive pattern compared to the Santa Catarina Plateau, as all cattle originated from the respective properties, while only a small proportion of producers reported supplementary acquisition of animals from other municipalities.

Although animal movement alone is not sufficient to establish the disease in the absence of favorable environmental conditions, it may facilitate the introduction of infected animals into susceptible properties, thereby enhancing parasite dissemination within the same production region (Mas-Coma, S; Bargues; Valero, 2005; Mas-Coma, S; Valero; Bargues, 2019; Mas-Coma, Santiago *et al.*, 2025; Schwantes *et al.*, 2020). In areas where the parasite is already established, such animal movement may contribute to the maintenance and spread of infection by facilitating the introduction of infected animals into properties with environmental conditions suitable for the continuation of the biological cycle of *F. hepatica* (Beesley *et al.*, 2017; Howell; Williams, 2020; Mehmood *et al.*, 2017). This scenario is consistent with previous observations in the Santa Catarina Plateau itself, where autochthonous cases of infection were identified, with prevalence of 9.2% (178/1927) in field-sampled animals and 15.1% (1744/11556) based on slaughterhouse data, demonstrating the broad regional distribution of the parasite and differences between ante-mortem and post-mortem diagnoses (Américo *et al.*, 2022).

In contrast, the lower frequency of animal movement between municipalities observed in the Western region may have contributed to maintaining the absence of *F. hepatica* positive farms. Because no infected herds were identified in this region, the reduced introduction of animals from other municipalities may have decreased the likelihood of introducing the parasite into previously uninfected herds, thereby helping to preserve the negative epidemiological status. In this context, the dissemination of *F. hepatica* has frequently been associated with herd movement dynamics and livestock production systems, reinforcing those management practices, and animal

movement act in an integrated manner in determining the observed epidemiological patterns (Bargues *et al.*, 2017).

Livestock production differed markedly between the evaluated regions, reinforcing that the two epidemiological scenarios observed also reflect distinct production models. In the Santa Catarina Plateau, beef cattle production was the predominant activity, representing 88.9% (96/108) of the properties, with extensive management predominating in 96.3% (104/108) of the farms. In contrast, livestock production in the West region was exclusively focused on dairy cattle, accounting for 100% of the evaluated properties. Production systems were predominantly intensive and semi-intensive, each representing 43.7% (7/16) of the farms, whereas extensive production was reported in only 12.5% (2/16). The management system variable (extensive vs. intensive/semi-intensive) showed a statistically significant association. Extensive management exhibited one of the strongest associations observed in the study (OR = 49.0; 95% CI: 4.5–530.0; $p < 0.001$).

According to Stock; Carneiro; Mattos, (2013), the West region concentrates an important proportion of Santa Catarina's dairy production and is characterized by smaller farms, generally associated with family farming systems, where land limitations are compensated by the adoption of more technified and intensified systems. In contrast, the Santa Catarina Plateau is characterized by larger properties, production primarily focused on beef cattle, and greater local circulation of animals (Costa, 1982). These differences reflect distinct historical processes of land occupation and agricultural development between the regions (Cunha *et al.*, 2021). In the Santa Catarina Plateau, livestock production has traditionally developed over large territorial extensions, with a predominance of extensive production systems and lower stocking densities (Américo *et al.*, 2022; Costa, 1982). Furthermore, the predominant use of native grasslands and improved pastures contributes to maintaining this production model, which is characterized by extensive grazing areas and lower management intensity (Córdova, 2021; Costa, 1982).

Ecological suitability for the development of intermediate host snails represents one of the main factors determining the maintenance of transmission in specific areas (Almeida *et al.*, 2025). Therefore, the coexistence of endemic and non-endemic areas within the same state reinforces the multifactorial nature

of the disease and highlights the need for region-specific epidemiological approaches to understand and control bovine fasciolosis (Bennema *et al.*, 2014).

Accordingly, animal access to natural water sources represents a relevant factor in the parasite life cycle. In the present study, the highest proportion of positive properties in the Santa Catarina Plateau in relation to water sources was observed among farms with access to streams, 26.0% (18/69), springs, 38.0% (16/42), and ponds, 27.7% (25/90). These findings indicate that, in the Santa Catarina Plateau, beef production under extensive systems coexisted with broad exposure of animals to natural aquatic environments, which is epidemiologically relevant for the maintenance of the *F. hepatica* life cycle.

In contrast, in the West region, regarding environmental conditions, the presence of streams, springs, rivers, or flooded areas was recorded in only 12.5% (2/16) of the properties, whereas 87.5% (14/16) did not present these characteristics. The predominant water sources were artesian wells, springs, ponds, and potable water, with some farms reporting more than one water source; however, animals did not have direct access to these environments, indicating a more controlled production system with reduced direct contact between animals and natural aquatic habitats. This difference between regions was statistically significant (Fisher's exact test, $p < 0.001$) and was strongly associated with infection risk, with an estimated OR greater than 100, indicating a markedly higher probability of *F. hepatica* occurrence in environments where animals have access to natural water sources. The magnitude of this association highlights the central importance of aquatic environments in the epidemiology of fasciolosis.

The association between fasciolosis and access to natural aquatic environments is consistent with the biology of *F. hepatica*, which depends on humid environments for egg development, miracidial survival, and the maintenance of lymnaeid snails that act as intermediate hosts (Arruda *et al.*, 2021; Américo *et al.*, 2022; Pfukenyi; Mukaratirwa, 2013; Smith; Morgan; Jones, 2024). Flooded pastures, natural ponds, and slow-flowing water bodies favor the completion of this cycle, functioning as permanent risk areas for transmission (Martins *et al.*, 2012; Mas-Coma, Santiago; Valero; Bargues, 2022; Molento *et al.*, 2018). In this regard, the results obtained in the present study reinforce that the presence of water, combined with extensive management and direct animal exposure, constitutes one of the main elements explaining the persistence of the

disease in the Santa Catarina Plateau, whereas the lower environmental exposure observed in the West region helps explain the absence of positive properties in this area.

The use of antiparasitic drugs was widely reported among the evaluated properties in both regions, demonstrating that the control of gastrointestinal parasites is part of the routine health management of the studied herds. In the Santa Catarina Plateau, 96.3% (104/108) of the properties reported previous use of at least one antiparasitic active ingredient. However, only 13 properties used albendazole, a benzimidazole with fasciolicidal activity, and among these, seven properties had animals positive for *F. hepatica*.

In the West region, the use of antiparasitic drugs was also common, being reported by 81.2% (13/16) of the properties. Even more relevant differences were observed regarding the active compounds used. In Capão Alto, ivermectin was the most frequently administered drug (53.3%, 8/15), followed by levamisole (20%, 3/15) and doramectin (13.3%, 2/15). In the West region, on the other hand, albendazole (31.25%, 5/16), the combination of fluazuron + eprinomectin (6.25%, 1/16), and fenbendazole (25%, 4/16) were used. Consequently, the use of compounds with fasciolicidal activity was significantly more frequent in the West region (31.25%, 5/16) than in Capão Alto (6.7%, 1/15), with a statistically significant difference ($p = 0.028$). These results suggest that the choice of active compound may exert an influence on infection occurrence. However, only the active ingredients used on each property were recorded. Information regarding drug dosage and treatment regimen was not evaluated; therefore, it cannot be assumed that the administered compounds were used at therapeutic doses effective against *F. hepatica*.

Regarding treatment frequency, the comparison between Capão Alto and the West region revealed that shorter administration intervals predominated in Capão Alto, particularly intervals shorter than one month (33.3%, 5/15) and between one and three months (26.7%, 4/15), whereas in the West region intervals longer than six months predominated (68.7%, 11/16; $p = 0.032$). Despite the higher treatment frequency observed in the Santa Catarina Plateau, *F. hepatica* infection remained present, suggesting that treatment frequency alone was not sufficient to interrupt parasite transmission. Furthermore, the persistence of infection may also be

associated with the occurrence of *F. hepatica* resistance to fasciolicidal compounds, as previously reported in the literature (Chrysafidis *et al.*, 2023)

The descriptive and statistic comparative analysis also demonstrated that the occurrence of *F. hepatica* was associated with extensive management, the presence of water sources, the absence of fasciolicidal drug use, and consequently with location in the Santa Catarina Plateau ($p < 0.05$), whereas herd size and antiparasitic treatment frequency were not significantly associated with infection. This set of findings suggests that the dynamics of fasciolosis are determined less by absolute herd size and more by the interaction among environmental conditions, production systems, and the quality of the control strategies adopted. Another factor significantly associated with infection occurrence was the absence of fasciolicidal drug use. This result demonstrates that not only treatment frequency, but also the choice of active compounds employed, influences the risk of infection.

In this context, the extensive use of ivermectin observed in the municipalities of the Santa Catarina Plateau deserves special attention. Although this drug is highly effective against several nematodes and ectoparasites, it has no activity against *F. hepatica*. Therefore, its routine use may create a false perception of parasite control without effectively impacting fasciolosis transmission. In contrast, the greater use of compounds with fasciolicidal activity observed in the West region may have contributed, together with the less favorable environmental conditions for transmission, to the absence of positive properties in this region.

Effective fasciolosis control requires the use of specific drugs, with triclabendazole being considered the main treatment option due to its high efficacy against both juvenile and adult stages of the parasite (Kelley *et al.*, 2016). Other compounds, such as closantel, nitroxinil, and albendazole, may also be employed, although they differ in spectrum of activity and efficacy against different stages of the parasite life cycle (Kelley *et al.*, 2016). However, the growing number of reports describing reduced efficacy and anthelmintic resistance, including cases already reported in the Santa Catarina Plateau, demonstrates that pharmacological treatment alone should not be considered a sufficient strategy for disease control (Chrysafidis *et al.*, 2023; Kelley *et al.*, 2016; Siles-Lucas *et al.*, 2020). Integrated strategies combining periodic

diagnosis, appropriate drug selection, therapeutic efficacy monitoring, environmental management, and control of the introduction of potentially infected animals have been identified as most effective approaches for reducing *F. hepatica* circulation in cattle herds (Kelley *et al.*, 2021; Mas-Coma, Valero e Bargues, 2019).

In contrast, variables traditionally considered important in epidemiological studies, such as herd size and the frequency of antiparasitic treatments, were not significantly associated with infection occurrence. Herd size presented an OR of 1.8 (95% CI: 0.4–8.0; $p = 0.430$), whereas antiparasitic treatment frequency presented an OR of 1.4 (95% CI: 0.3–6.5; $p = 0.320$). These results suggest that simply increasing the number of animals or the frequency of antiparasitic administration is not sufficient to substantially alter the risk of infection when favorable environmental conditions for transmission remain present. In other words, exposure to a contaminated environment appears to play a more determinant role in disease maintenance than herd size or treatment intensity.

Regarding clinical signs, in the Santa Catarina Plateau, the most frequently reported signs among positive properties were diarrhea and submandibular edema. In the West region, most properties did not report clinical signs at the time of questionnaire application (68.7%, 11/16), although isolated cases of diarrhea, fever, and jaundice were recorded. This variable did not differ significantly between regions. Furthermore, no producer reported a previous history of fasciolosis on their property, even in areas where infection was confirmed during the study.

These results suggest that bovine fasciolosis may remain largely underdiagnosed under the field conditions evaluated. Despite confirmation of the presence of *F. hepatica* in the Santa Catarina Plateau, most properties did not report clinical signs compatible with the disease, indicating that infection may remain predominantly subclinical. This pattern has frequently been described in cattle, particularly under conditions of low or moderate parasite burden, in which animals remain apparently healthy despite experiencing significant production losses resulting from chronic infection (Dalton *et al.*, 2013; Mas-Coma, S; Bargues, 1997; Mas-Coma, S; Bargues; Valero, 2005; Mas-Coma, Santiago *et al.*, 2020).

Even in the absence of evident clinical manifestations, infected animals may exhibit reduced weight gains, decreased milk production, poorer feed conversion efficiency, anemia, metabolic alterations, and reduced reproductive performance (Castro-Hermida *et al.*, 2021; Martins; Sperandio, 2024; Molento *et al.*, 2018). As these signs are often nonspecific and slowly progressive, they tend to be attributed by farmers to other causes, making disease recognition at the farm level more difficult (Charlier *et al.*, 2014). This situation is particularly relevant in extensive production systems, where individual animal monitoring is less frequent and economic losses may accumulate silently over time.

Previous coproparasitological examinations were infrequently performed in both regions. In the Santa Catarina Plateau, such analyses were reported by only 5.5% (6/108) of the properties, whereas in the West region only one property (6.2%, 1/16) reported having previously conducted coproparasitological testing, with no significant difference between regions ($p = 0.307$). From an epidemiological perspective, the limited use of diagnostic tools observed in the present study represents an additional challenge for disease control. Although coproparasitological examinations are widely employed due to their low cost and ease of application, their sensitivity may be limited by several factors, including the prepatent period of infection, intermittent egg shedding, and the low parasite burden present in some animals (Graham-Brown *et al.*, 2019; Mas-Coma, Santiago; Valero; Bargues, 2023). Consequently, reliance solely on occasional coproparasitological examinations or the observation of clinical signs may favor the persistence of undetected infections within cattle herds.

Therefore, for effective fasciolosis control, it is recommended that the entire herd be initially screened using coproparasitological or serological tests (Mas-Coma; Valero; Bargues, 2019). The results of the diagnostic tests should be used to guide the appropriate timing of anthelmintic administration and to support the parasitological screening of replacement animals before their introduction into the herd (Kelley *et al.*, 2021).

In addition, climate monitoring systems may assist producers in determining the most appropriate periods for treatment implementation (Howell & Williams, 2020). The identification of seasonal transmission windows allows the recognition of critical periods for the application of targeted control measures, including strategic anthelmintic treatments, intensified surveillance, and

expanded diagnostic monitoring, thereby reducing the risk of infection (Cuervo *et al.*, 2025).

According to Mas-Coma, Santiago *et al.*, (2020), it is also essential to identify the main intermediate host species present in each region, as well as the most relevant reservoirs involved in maintaining local parasite transmission. In certain farming systems, drainage or fencing of high-risk areas may be necessary; however, this can be challenging because snail habitats may be temporary, localized, difficult to identify, or widely distributed throughout grazing areas (Howell & Williams, 2020). As an alternative, grazing in these areas should be avoided during periods of increased transmission risk (Knubben-Schweizer *et al.*, 2010).

Furthermore, management practices such as rotational grazing and the provision of potable water through trough systems may substantially reduce animal exposure to infective metacercariae (Lan *et al.*, 2025). In extensive grazing systems without paddock subdivision, the introduction of natural predators of gastropods, such as anseriform birds and fish, may represent an additional strategy to help reduce intermediate host populations (Mas-Coma, S; Bargues; Valero, 2005; Mas-Coma, S; Valero; Bargues, 2019; Olachea, 2004).

In this context, as highlighted by Endalamew *et al.*, (2025), Animal health programs developed jointly by veterinarians and producers should prioritize control strategies based on epidemiological evidence generated in high-incidence regions. Such strategies include season deworming, pasture rotation to reduce the population of intermediate host snails, assessment of local climatic variations, and expanded access to diagnostic methods (Mas-Coma, Valero e Bargues, 2019). Likewise, region-specific studies tailored to local epidemiological conditions, combined with farmer training and the dissemination of educational materials focused on disease prevention and control, may contribute substantially to reducing *F. hepatica* transmission (Appendix B) (Cuervo *et al.*, 2025; Mas-Coma, Valero e Bargues, 2019).

4.4 CONCLUSION

The occurrence of bovine fasciolosis in the evaluated properties was associated with a combination of environmental, management, and sanitary

factors. The Santa Catarina Plateau presented conditions favorable to the maintenance of *Fasciola hepatica* transmission, characterized by extensive beef cattle production systems, direct access of cattle to natural water sources, lower use of fasciolicidal compounds, and a higher frequency of animal movement between municipalities. In contrast, the Western region was characterized by intensive and semi-intensive dairy production systems, restricted access of cattle to natural aquatic environments, greater use of compounds with fasciolicidal activity, and lower animal movement between municipalities, which may have contributed to maintaining the absence of positive farms.

These findings demonstrate that the epidemiology of bovine fasciolosis in Santa Catarina is strongly influenced by environmental characteristics and regional production systems. Therefore, effective control programs should be based on region-specific strategies integrating environmental management, the use of fasciolicidal drugs, periodic diagnosis, epidemiological surveillance, and control of the introduction of new animals into the herd. By providing epidemiological evidence from distinct production regions, this study contributes to a broader understanding of the transmission dynamics of *F. hepatica* and provides relevant information for the development of more effective fasciolosis control program in southern Brazil.

5 ARTIGO 2 - ANÁLISE FILOGENÉTICA DE ISOLADOS DE *FASCIOLA HEPATICA* OBTIDOS DE BOVINOS EM SANTA CATARINA, BRASIL

PHYLOGENETIC ANALYSIS OF *Fasciola hepatica* ISOLATES OBTAINED FROM CATTLE IN SANTA CATARINA, BRAZIL

Larissa Américo^{1,2}, Gustavo Gonçalves³, Rafaela Gil Bossle^{1,2}, Thayná Fiorentin Moreira^{1,2}, Faiane Reila Sousa Centenaro Duarte^{1,2}, Guilherme Drescher³, Fabiano Borges Figueiredo³, Anderson Barbosa de Moura¹, Andreas Lazaros Chryssafidis^{1,2}

¹Laboratory of Parasitology and Parasitic Diseases (LAPAR), Department of Veterinary Medicine, Agroveterinary Sciences Center, Santa Catarina State University, Lages, Santa Catarina, Brazil.

²Laboratory for the Development of Health Technologies (LADETES), Department of Veterinary Medicine, Agroveterinary Sciences Center, Santa Catarina State University, Lages, Santa Catarina, Brazil.

³Laboratory of Cellular Biology, Oswaldo Cruz Foundation - Carlos Chagas Institute (FIOCRUZ), Curitiba, Paraná, Brazil

Resumo: *Fasciola hepatica* é um trematódeo zoonótico de importância global, responsável por perdas econômicas significativas na produção animal e impactos na saúde pública. Este estudo teve como objetivo caracterizar a diversidade morfológica e genética de isolados de *F. hepatica* provenientes de bovinos no estado de Santa Catarina, sul do Brasil. Um total de 284 parasitos foram coletados de 45 bovinos abatidos em seis frigoríficos. A análise morfológica revelou elevada variabilidade, com valores médios de 2,01 ± 0,45 cm de comprimento, 0,98 ± 0,15 cm de largura e 0,25 ± 0,05 cm para a distância entre as ventosas, sem associação clara com a idade dos hospedeiros. Um total de 107 amostras foram submetidas à PCR utilizando marcadores mitocondriais (COI e NADH) e nucleares (ITS1 e ITS2), todas com amplificação positiva. A análise filogenética foi realizada com 24 amostras representativas. As sequências obtidas para ITS1, ITS2 e NADH apresentaram elevado grau de conservação entre os isolados analisados e não forneceram resolução filogenética suficiente para a discriminação das amostras. Em contraste, o marcador COI apresentou variabilidade nucleotídica adequada, permitindo a reconstrução das relações filogenéticas entre os isolados. A árvore filogenética revelou a ocorrência de linhagens geneticamente relacionadas distribuídas em diferentes regiões de Santa Catarina, sem evidência de estruturação filogeográfica em regiões específicas. Além disso, os isolados locais apresentaram afinidade filogenética com sequências de referência provenientes da Argentina, Uruguai, Irã e Egito, indicando a presença de linhagens do parasito amplamente distribuídas. De modo geral, os resultados demonstram a utilidade do marcador COI para a investigação das relações genéticas entre isolados de *F. hepatica* e fornecem informações inéditas sobre a diversidade e a distribuição das linhagens do parasito circulantes em Santa Catarina, sul do Brasil.

Palavras-chave: Fasciolose; filogenia; zoonose; distribuição geográfica.

Abstract: *Fasciola hepatica* is a zoonotic trematode of global importance, responsible for significant economic losses in livestock and public health concerns. This study aimed to characterize the morphometric and genetic diversity of *F. hepatica* isolates obtained from cattle in Santa Catarina, southern Brazil. A total of 284 parasites were collected from 45 cattle slaughtered in six abattoirs. Morphometric analysis revealed considerable variability, with mean values of 2.01 ± 0.45 cm in length, 0.98 ± 0.15 cm in width, and 0.25 ± 0.05 cm for the distance between oral and ventral suckers, with no clear association with host age. A total of 107 samples were subjected to PCR targeting mitochondrial (COI and NADH) and nuclear (ITS1 and ITS2) markers, all of which showed successful amplification. Phylogenetic analysis was performed using 24 representative samples. The sequences obtained for ITS1, ITS2, and NADH were highly conserved among the analyzed isolates and did not provide sufficient phylogenetic resolution for discrimination among samples. In contrast, the COI marker exhibited adequate nucleotide variability, allowing the reconstruction of phylogenetic relationships among the isolates. The phylogenetic tree revealed the occurrence of genetically related lineages distributed across different regions of Santa Catarina, with no evident phylogeographic structuring in specific regions. Additionally, local isolates showed phylogenetic affinity with reference sequences from Argentina, Uruguay, Iran, and Egypt, indicating the presence of broadly distributed parasite lineages. Overall, the results demonstrate the usefulness of the COI marker for investigating genetic relationships among *F. hepatica* isolates and provide novel insights into the diversity and distribution of parasite lineages circulating in Santa Catarina, southern Brazil.

Keywords: Fascioliasis; phylogeny; zoonosis; geographic distribution.

5.1 INTRODUCTION

Fasciola hepatica is a digenetic trematode that parasitizes the liver of a wide range of animal species and has zoonotic importance. It is classified by the World Health Organization (WHO) as a neglected tropical disease among foodborne trematodiasis (Mas-Coma, Santiago; Valero; Bargues, 2023; WHO, 2015). Its life cycle lasts approximately 23 weeks and involves both definitive and intermediate hosts. Adult parasites inhabit the bile ducts, where they feed on blood and tissue and produce eggs that are excreted into the environment via feces.

Under favorable environmental conditions, the eggs develop in freshwater and give rise to miracidia, which infect snails of the family Lymnaeidae. Within the mollusk, the parasite undergoes several developmental stages until cercariae are released and encyst on vegetation as metacercariae. Infection occurs through the ingestion of these forms, followed by migration to the liver, where the

parasites develop into adult stages (Beesley, Nicola J. *et al.*, 2017; Bennema *et al.*, 2014; Caravedo; Cabada, 2020; Mas-Coma, S; Bargues, 1997).

Fasciolosis has a substantial economic impact, particularly in livestock production, due to productivity losses and liver condemnation in slaughterhouses (Aleixo *et al.*, 2015; Charlier, J. *et al.*, 2014; Mas-Coma, S; Bargues; Valero, 2005). The disease is widely distributed among ruminants in Africa, Asia, and the Americas, with higher prevalence in developing countries, where inadequate management practices and limited knowledge contribute to significant economic losses and increase the risk of global dissemination (Mehmood *et al.*, 2017). In humans, fasciolosis affects approximately 2.4. million people across 70 countries, with an estimated 180 million individuals at risk of infection worldwide (WHO, 2021).

In Brazil, the spread of bovine fasciolosis has been mainly associated with land-use changes, including the expansion of pasture areas and the reduction of native vegetation, as well as intense animal movement. These factors pose significant risks to animal health, biodiversity, and, vulnerable human populations (Almeida *et al.*, 2024). Although human fasciolosis is still considered a neglected disease in the country, a systematic review identified only 48 reported cases between 1950 and 2016, of which 43.7% (21/48) occurred in the southern region (Pritsch, Cristine Izanar; Molento, 2018).

Domestics ruminants are the most frequent definitive hosts of *F. hepatica* in Brazil, with consistent reports of infection in cattle from the Midwest, South, and Southeast regions (Martins; Sperandio, 2024). Economic losses are substantial, with an estimated annual impact of approximately US\$ 2.01 billion, attributed to reduced carcass weight and liver condemnation, the most affected states included Rio Grande do Sul, Espírito Santo, and Santa Catarina (Molento *et al.*, 2018). A retrospective analysis based on slaughterhouse data from more than 414 million cattle between 2002 and 2020 demonstrated a market increase in the proportion of municipalities reporting the disease, rising from 3.48% (194/5.568) to 13.41% (747/5.568), highlighting the geographic expansion of bovine fasciolosis in the country (Almeida *et al.*, 2024).

In Santa Catarina, fasciolosis is considered endemic, particularly in low-altitude coastal municipalities (Fiss *et al.*, 2012; Serra-Freire; Nuernberg, 1992; Silva *et al.*, 2020). Between 2004 and 2008, and in 2010, Silva *et al.*, (2020)

analyzed data from slaughterhouses under federal inspection (SIF) to assess the spatial distribution of bovine fasciolosis in Santa Catarina. A total of 8.8% (24,455/ 518,635) livers were condemned due to *F. hepatica*, with the highest prevalence at 500–600 m altitude and no association with rainfall (Silva *et al.*, 2020).

Understanding the origin, geographic distribution, and evolutionary dynamics of *Fasciola* spp. requires integrated molecular approaches (Gilleard; Beech, 2007). Phylogenetic studies are essential for identifying evolutionary patterns, estimating genetic variability, and predicting potential routes of parasite dissemination (Beesley, Nicola J. *et al.*, 2017). Globally, phylogenetic analyses of *Fasciola* spp. have been conducted in different host species, including domestic animals and humans (Ahmad *et al.*, 2022; Carnevale *et al.*, 2017; Jeong; Park; Yu, 2022; Schwantes *et al.*, 2020). In Brazil, molecular studies have reported genetic diversity in *F. hepatica* populations (Schwantes *et al.*, 2020). Nevertheless, high genetic homogeneity among Brazilian isolates suggests a common and stable origin of these parasite populations (Pontarolo *et al.*, 2025).

Despite these advances, comprehensive phylogenetic studies encompassing the state of Santa Catarina are still lacking, highlighting a gap in regional molecular data and in the integration of local isolates with global genetic databases. Therefore, this study aimed to perform a phylogenetic analysis of adult *F. hepatica* specimens recovered from cattle slaughterhouses under state and federal inspection systems in Santa Catarina, Brazil, comparing them with sequences previously deposited in public genetic databases.

5.2 MATERIALS AND METHODS

5.2.1 Description of study area

The state of SC, is located between parallels 25°57'41'S and 29°23'55'S and meridians 48°19'37'W and 53°50'00'W, in southern Brazil, has an area of approximately 95,730 km² and an estimated population of over 7 million inhabitants, characterized by high population density and a strong presence of agricultural activities (IBGE, 2020). The territory exhibits considerable geomorphological diversity, including coastal plains, mountains ranges, and

plateau areas, with altitudes ranging from sea level to over 1,800 meters in the highland regions. This environmental heterogeneity directly influences the distribution of ecosystems and production systems within the state (Alvares *et al.*, 2013; IBGE, 2020).

Santa Catarina presents a predominantly humid subtropical climate (Cfa//Cfb), with well-distributed rainfall throughout the year and average temperatures ranging from 13°C to 25°C, conditions that favor the development of diverse agricultural systems and the maintenance of parasite life cycles (Alvares *et al.*, 2013). The state encompasses important biomes, such as the Atlantic Forest, which is characterized by high biodiversity and ecological transition zones, as well as extensive areas dedicated to livestock production, particularly beef and dairy cattle farming (Gasper *et al.*, 2013; Santa Catarina, 2023).

5.2.2 Collection of *Fasciola hepatica* from Slaughterhouses under State and Federal Inspection Systems

Adult specimens of *Fasciola hepatica* were collected from the livers of 45 cattle exhibiting macroscopic lesions compatible with fasciolosis in slaughterhouses operating under state and federal inspection systems in Santa Catarina, Brazil. A total of 284 adult parasites were recovered. At the time of collection, each animal was identified by its official ear tag number, and information regarding age and farm of origin was retrieved through the Santa Catarina Cattle Traceability System (SISBOV-SC) and compiled for subsequent analyses.

To support this procedure, a reference guide was developed by the Laboratory of Parasitology and Parasitic Diseases (LAPAR) to standardize parasite collection (Appendix C). After collection, the trematodes were preserved in 70% ethanol and transported under refrigerated conditions to LAPAR. In the laboratory, the parasites were sorted and identified according to the animal traceability ear tag number and the slaughterhouse of origin. Subsequently, individual specimens were stored in 1.5mL microtubes and kept frozen at temperatures ranging from -14°C to -25°C until DNA extraction.

5.2.3 Morphometric Analysis of *Fasciola hepatica*

Morphometric analysis was performed on all collected parasites. The procedure was conducted using individual photographs of each trematode, captured with a dual-lens camera system (ultra-wide and wide-angle, 12 MP, iPhone 11). A ruler with a previously known scale was positioned adjacent to each specimen in the same imaging plane to allow accurate measurement calibration.

The images were subsequently transferred and analyzed using ImageJ software (National Institutes of Health), where the following parameters were measured: total length (L), maximum width (W), and the distance between the oral and ventral suckers (DV). For damaged specimens, only the intact portions were measured. In cases where either the anterior or posterior region was absent, total length was not recorded.

After measurement, all morphometric data were compiled and organized in a Microsoft Excel spreadsheet. For animals infected with more than three *F. hepatica* specimens, individuals representing the largest, intermediate, and smallest lengths were selected for subsequent DNA extraction and molecular analysis. Additionally, the mean and standard deviation were calculated for each group of parasites per host in order to assess the degree of morphometric variation among specimens collected from the same animal.

5.2.4 DNA Extraction Protocol

For DNA extraction, approximately 0.025g of tissue was obtained from the posterior region of each trematode using a sterile scalpel blade. Total genomic DNA was extracted from the tissue samples using a commercial kit (DNeasy Blood & Tissue Kit, Qiagen), following the manufacturer's instructions. Subsequently, the extracted samples were quantified and assessed for purity by spectrophotometry using NanoDrop instrument (Thermo Scientific). DNA quality was evaluated based on concentration and absorbance ratios at 260/280nm and 260/230nm. Samples that did not meet the established quality parameters were re-extracted, either from the same specimen when fewer than three

parasites were available per host, or from an alternative specimen when more than three parasites were available.

5.2.5 Polymerase Chain Reaction (PCR)

A total of 107 samples were transported under frozen condition (-18°C) to the Laboratory of Cellular Biology at the Carlos Chagas Institute (ICC – FIOCRUZ), Curitiba, Paraná, Brazil, where conventional Polymerase Chain Reaction (PCR) protocols were performed. In this study, two molecular approaches were employed to investigate specific genetic sequences of *Fasciola* spp. (Itagaki *et al.*, 2005). Two mitochondrial markers were targeted, cytochrome c oxidase subunit I (COI) and NADH dehydrogenase subunit I (NADH), both characterized by uniparental inheritance, allowing the identification of maternal lineages. In addition, two nuclear ribosomal DNA regions, internal transcribed spacers ITS1 and ITS2, were also analyzed. These regions exhibit biparental inheritance and present considerable levels of genetic variation across generations, as well as a high copy number and moderate sequence length, facilitating amplification and isolation (Felinier; Rosselló, 2007).

Primers were diluted according to the manufacturer's recommendations (Integrated DNA Technologies®, IDT). The primer pairs used for mitochondrial genes were: COI—ITA 8 (5'-ACGTTGGATCATAAGCGTGT-3') and ITA 9 (5'-CCTCATCCAACATAACCTCT-3'); and NADH—ITA 10 (5'-AAGGATGTTGCTTTGTCGTGG-3') and ITA 2 (5'-GGAGTACGGTTACATTCACA-3'). For nuclear ribosomal regions, the following primers were used: ITS1—ITS1-F (5'-TTGCGCTGATTACGTCCCTG-3') and ITS1-R (5'-TTGGCTGCGCTCTTCATCGAC-3'); ITS2—ITS2-F (5'-TGTGTCGATGAAGAGCGCAG-3') and ITS2-R (5'-TGGTTAGTTTCTTTTCCTCCGC-3') (Itagaki *et al.*, 2005).

Working solutions of primers were prepared at a concentration of 10µM (100µL final volume). All DNA samples were standardized to a concentration of 10ng/µL in a total volume of 200µL to ensure uniformity during amplification and sufficient volume for downstream analyses. PCR reactions were prepared using the GoTaq G2 Hot Start Polymerase kit (Promega). Each 50µL reaction contained: 10µL of 5 x Green Buffer, 8µL of 25mM MgCl₂, 1µL of 10mM dNTP

mix, 0.25µL of GoTaq Hot Start Polymerase, 1.75µL of ultrapure water (18.2 MΩ·cm), 2µL of forward primer, 2µL of reverse primer, and 25µL of template DNA (10ng/µL). Negative controls were prepared using all reaction components except template DNA, which was replaced with 25µL of ultrapure water. Following amplification, approximately 5–10µL of each PCR product were subjected to agarose gel electrophoresis for verification, while the remaining volume (~40µL) was used for subsequent genetic sequencing. Subsequently, the samples were subjected to amplifications in a thermal cycler under cycling conditions optimized for each specific primer pair (Table 4).

Table 4 - Thermal cycler programming (Thermo Fisher Scientific, ProFlex PCR System), with annealing temperature adjustments according to the target primer.

Primer pair	Denaturation	Annealing (30 cycles)	Extension
ITA NADH 10/2	94°C/ 2min	94°C/ 30seg, 54°C/ 30seg, 72°C/ 40seg	72°C/ 10min
ITA COI 8/9	94°C/ 2min	94°C/ 30seg, 53°C/ 30seg, 72°C/ 40seg	72°C/ 10min
ITS1 F/ ITS1 R	94°C/ 2min	94°C/ 30seg, 59°C/ 30seg, 72°C/ 40seg	72°C/ 10min
ITS2 F/ ITS2 R	94°C/ 2min	94°C/ 30seg, 57°C/ 30seg, 72°C/ 40seg	72°C/ 10min

Following PCR amplification, a 2% agarose gel was prepared using analytical-grade agarose (Promega Agarose, LE) and Tris-Acetate-EDTA (TAE) buffer. PCR products (5µL) were mixed with 1µL of non-mutagenic loading dye (Safe, Kasvi), and a molecular weight marker (Kasvi, K9-100L or K9-1000L) was included for size reference. The samples were loaded into the solidified gel and subjected to horizontal electrophoresis using a power supply system (BIO-RAD PowerPac HC) for 30 minutes at 100V and 3W. After electrophoresis, the gels were visualized using a gel documentation system (Loccus L-Pix EX). DNA bands were analyzed by comparison with expected fragment sizes: 535bp for NADH (ITA 10/9), 438bp for COI (ITA 8/9), 600bp for ITS1 (ITS1 F/R), and 505-506bp for ITS2 (ITS2 F/R) (Itagaki *et al.*, 2005). Following electrophoretic analysis, DNA

samples were further evaluated for concentration using spectrophotometry (NanoDrop One, Thermo Scientific).

5.2.6 Sequencing and Phylogenetic Analysis

Phylogenetic analysis was performed using 24 samples (Table 7), initially considering all four markers (NADH, COI, ITS1, and ITS2); however, phylogenetic tree reconstruction was only possible for the mitochondrial markers NADH and COI. For next-generation sequencing (NGS) of samples positive for *F. hepatica*, libraries were prepared using the Illumina COVIDSeq Teste Kit (Illumina), following the manufacturer's protocol, with the modification of using gene-specific primers targeting *F. hepatica* (Itagaki *et al.*, 2005). Briefly, genomic DNA was initially amplified using four sets of specific primers: ITA NADH 10/9, ITA COI 8/9, ITS1 F/R, and ITS2 F/R (Itagaki *et al.*, 2005).

Table 5 - Geographic origin, movement history, and slaughter location of cattle used for phylogenetic analysis of *Fasciola hepatica* in Santa Catarina, Brazil.

Number of Selected Samples	Identification Code in the Phylogenetic Tree	Municipality of Birth	Municipality with Longest Residence Time	Animal Transit Municipality(ies)	Slaughter Municipality
1	1 (LG)	Lages	Lages	Lages, São Joaquim, Lages, Capão Alto	Lages
2	6(LG)	Lages	Lages	Lages	Lages
3	14(PM)	Palmeira	Palmeira	Palmeira	Lages
4	17(SS)	São Cristovão do Sul	São Cristovão do Sul	São Cristovão do Sul, Ponte Alta	Lages
5	19(JS)	Jaraguá do Sul	Jaraguá do Sul	Jaraguá do Sul, Araquari	Jaraguá do Sul
6	28(JS/AR)	Romelândia	Jaraguá do Sul, Araquari	Romelândia, Jaraguá do Sul, Araquari	Jaraguá do Sul
7	34 (SL)	Bom Jardim da Serra	São Ludjero	Bom Jardim, São Ludjero	Braço do Norte
8	43(SJ)	São Joaquim	São Joaquim	São Joaquim	São Joaquim
9	45(CA)	São Joaquim	Capão Alto	Urubici, São Joaquim, Capão Alto	São Joaquim
10	48(LG)	Capão Alto	Lages	Capão Alto, Lages	Lages
11	57(TI)	Taió	Taió	Taió, Salete, Pouso Redondo	Pouso Redondo
12	63(MS)	Massaramduba	Massaramduba	Massaramduba	São João do Itaperiú
13	72(IL)	Ilhota	Ilhota	Ilhota	São João do Itaperiú
14	74(GP)	Gaspar	Gaspar	Gaspar	São João do Itaperiú
15	75(BP)	Balneário Piçarras	Balneário Piçarras	Balneário Piçarras	São João do Itaperiú

Number of Selected Samples	Identification Code in the Phylogenetic Tree	Municipality of Birth	Municipality with Longest Residence Time	Animal Transit Municipality(ies)	Slaughter Municipality
16	82(BG)	Biguaçu	Biguaçu	Biguaçu	São João do Itaperiú
17	88(SC)	Santa Cecília	Santa Cecília	Santa Cecília	Pouso Redondo
18	92(PR)	Taió	Pouso Redondo	Taió, Pouso Redondo	Pouso Redondo
19	101(AT/TC)	Petrolândia	Atalanta, Trombudo Central	Petrolândia, Atalanta, Trombudo Central, Braço do Trombudo	Pouso Redondo
20	105(RC)	Rio do Campo	Rio do Campo	Rio do Campo, Salete	Pouso Redondo
21	8(PN)	Painel	Painel	Painel	Lages
22	11(CA)	Capão Alto	Capão Alto	Capão Alto	Lages
23	26(JS)	Jaraguá do Sul	Jaraguá do Sul	Jaraguá do Sul	Jaraguá do Sul
24	68(JS)	Jaraguá do Sul	Jaraguá do Sul	Jaraguá do Sul	São João do Itaperiú

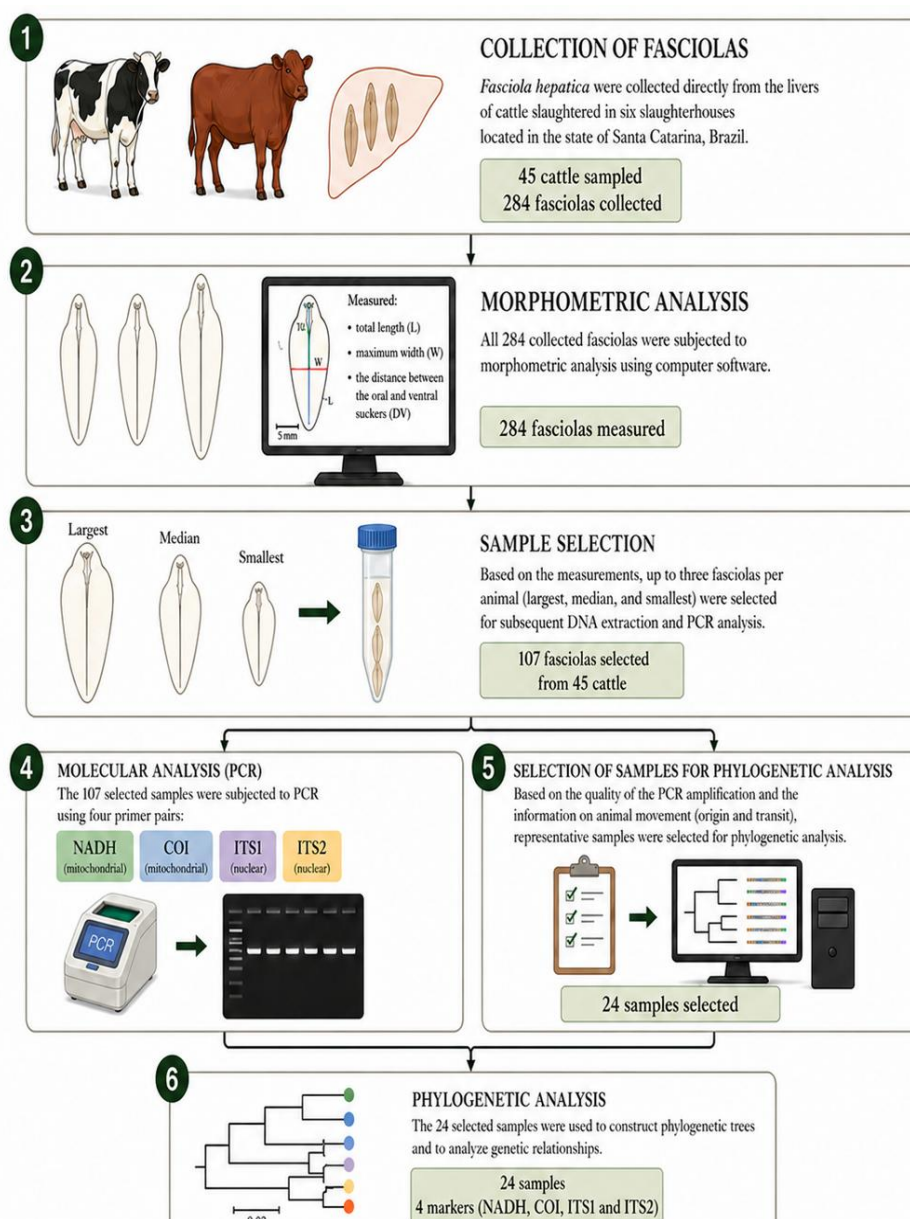
Subsequently, during the tagmentation step, the amplicons were fragmented and ligated to adapters, followed by a second round of amplification. During this amplifications, index sequences (i5 and i7), required for a sample identification and cluster generation during sequencing, were incorporated at the ends of the tagmented amplicons. The resulting libraries were then pooled, quantified, and normalized. After chemical and thermal denaturation, libraires were sequenced on the Illumina MiSeq platform using the MiSeq Reagen Micro Kit v2, with a paired-end configuration of 2 x 151 cycles.

Raw sequencing reads (FASTQ files) were subjected to quality control and mapping against a reference genome using the ViralFlow pipeline (Dezordi *et al.*, 2022). Default parameters were applied, with an additional trimming of 30 nucleotides from the ends of reads to remove primer-derived sequences. Reference sequences used for genome assembly included NADH (accession numbers AB207154–AB207169), COI (AB207170–AB207183, AB207103), ITS1 (AB207139–AB207147), and ITS2 (AB207148–AB207153).

Consensus sequences were subsequently generated and used for phylogenetic analysis. Sequence alignments were performed using BioEdit v4.8.9 (Hall, 1999). Phylogenetic analyses were conducted using the Maximum Likelihood method under the Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) nucleotide substitution model, implemented in MEGA version 11 (Tamura; Stecher; Kumar, 2021). Branch support was assessed using bootstrap analysis based on 1,000

replicates (Figure 5). Each genetic marker was analyzed separately, complementary analyses were performed using representative sequences from isolates originating from Argentina, Uruguay, Iran, and Egypt, aiming to compare the isolates obtained in the present study and evaluate possible phylogeographic structuring patterns among different *F. hepatica* populations.

Figure 4 - Study workflow illustrating the methodological steps for the analysis of *Fasciola hepatica* collected from cattle in Santa Catarina, Brazil.



Source: Author, 2026. Figure prepared with the assistance of ChatGPT (OpenAI, GPT-5.4 Thinking-Mini).

5.2.7 Statistical Analysis

Collection of *F. hepatica* from slaughterhouse and morphometric data were analyzed using descriptive statistics. For each host harboring more than one *F. hepatica* specimen, mean and standard derivations were calculated for length, width, and the distance between oral and ventral suckers. Hosts with a single parasite were excluded from these calculations. Branch support was assessed using the bootstrap method with 1,000 replicates. This approach involves random resampling of the alignment dataset with replacement, followed by repeated phylogenetic tree reconstruction, allowing estimation of the reliability of the observed groupings. Bootstrap values were expressed as percentages and represent the level of support for each branch.

5.3 RESULTS

5.3.1 Collection of *Fasciola hepatica* from Slaughterhouses

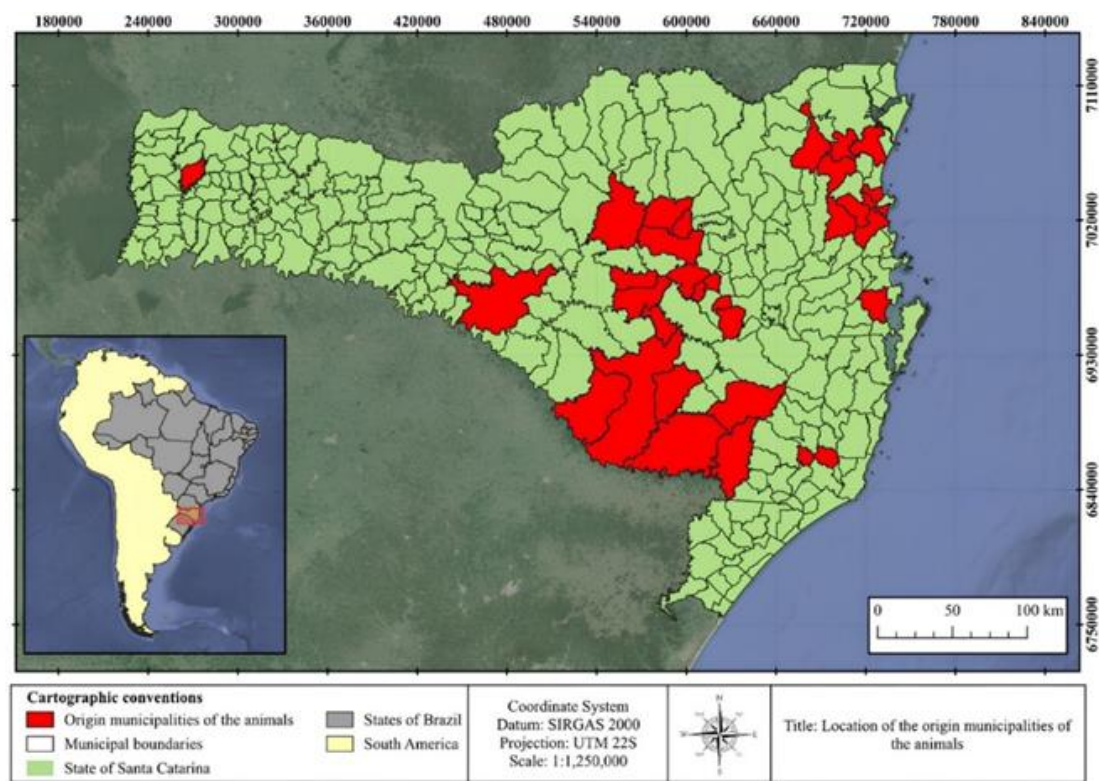
A total of 284 *F. hepatica* specimens were collected and are currently stored at LAPAR – UDESC/CAV. These parasites were obtained from six slaughterhouses operating under states (SIE) and federal (SIF) inspection systems, located in the municipalities of Lages (SIE), Jaraguá do Sul (SIE), Braço do Norte (SIE), São Joaquim (SIE), São João do Itaperiú (SIE), and Pouso Redondo (SIF) (Table 6). According to data from the SIGEN+ (Santa Catarina Agricultural Defense Management Systems), the animals from which the parasites were collected had transited through multiple municipalities within the state of Santa Catarina (Figure 5).

Table 6 - Organization of *Fasciola hepatica* specimens according to the collection site, animal transit municipalities recorded in the SIGEN+ (Santa Catarina Agricultural Defense Management System), and the number of parasites recovered from the liver per bovine

Number of cattle sampled	Slaughterhouse Municipality	Number of <i>Fasciola hepatica</i> Specimens
1	Lages	1
2	Lages	17
3	Lages	2
4	Lages	10

Number of cattle sampled	Slaughterhouse Municipality	Number of <i>Fasciola hepatica</i> Specimens
5	Lages	1
6	Lages	1
7	Lages	2
8	Lages	2
9	Lages	2
10	Lages	1
11	Jaraguá do Sul	2
12	Jaraguá do Sul	3
13	Jaraguá do Sul	9
14	Jaraguá do Sul	1
15	Jaraguá do Sul	1
16	Braço do Norte	5
17	Braço do Norte	13
18	Braço do Norte	5
19	Braço do Norte	38
20	São Joaquim	19
21	São Joaquim	10
22	Lages	2
23	Pouso Redondo	24
24	Pouso Redondo	6
25	Pouso Redondo	3
26	Pouso Redondo	5
27	São João do Itaperiú	4
28	São João do Itaperiú	9
29	São João do Itaperiú	6
30	São João do Itaperiú	7
31	São João do Itaperiú	2
32	São João do Itaperiú	2
33	São João do Itaperiú	2
34	São João do Itaperiú	1
35	São João do Itaperiú	8
36	São João do Itaperiú	3
37	Pouso Redondo	19
38	Pouso Redondo	9
39	Pouso Redondo	8
40	Pouso Redondo	6
41	Pouso Redondo	1
42	Pouso Redondo	4
43	Pouso Redondo	2
44	Pouso Redondo	5
45	Lages	1
Total		284

Figure 5 - Movement map of cattle positive for *Fasciola hepatica* in the state of Santa Catarina, based on data from SIGEN+ (Santa Catarina Agricultural Defense Management System).



5.3.2 Morphometric Evaluation of *Fasciola hepatica*

A total of 284 *F. hepatica* specimens obtained from 45 bovines were measured. However, some specimens were not intact, which prevented the complete assessment of all three morphometric parameters. Overall, the mean values ($\pm$ standard deviation) across all samples were 2.01 ± 0.45 cm for length, 0.98 ± 0.15 cm for width, and 0.25 ± 0.05 cm for the distance between the oral and ventral suckers.

The animal 24, with no recorded age (Table 7), harbored six parasites, with a mean length of 1.17cm, representing the smallest average parasite size observed in the present study. In contrast, animal 22, approximately 6 years old (Figure 6), presented two trematodes and exhibited the highest mean parasite length, measuring 3.46cm. No clear association was observed between host age and the morphometric parameters of *F. hepatica*. The data showed high variability, with similar length values recorded in both young and older animals.

Additionally, larger specimens were identified across different age groups, including younger individuals, indicating the absence of a linear relationship between host age and parasite development.

Regarding within-host uniformity of the collected parasites, animals 8, 31, 32 and 42 exhibited the highest standard deviations, indicating greater variability in parasite length within the same host (Table 7). For 11 animals included in this study, mean and standard deviation could not be calculated due to the presence of only a single *F. hepatica* specimen in the liver.

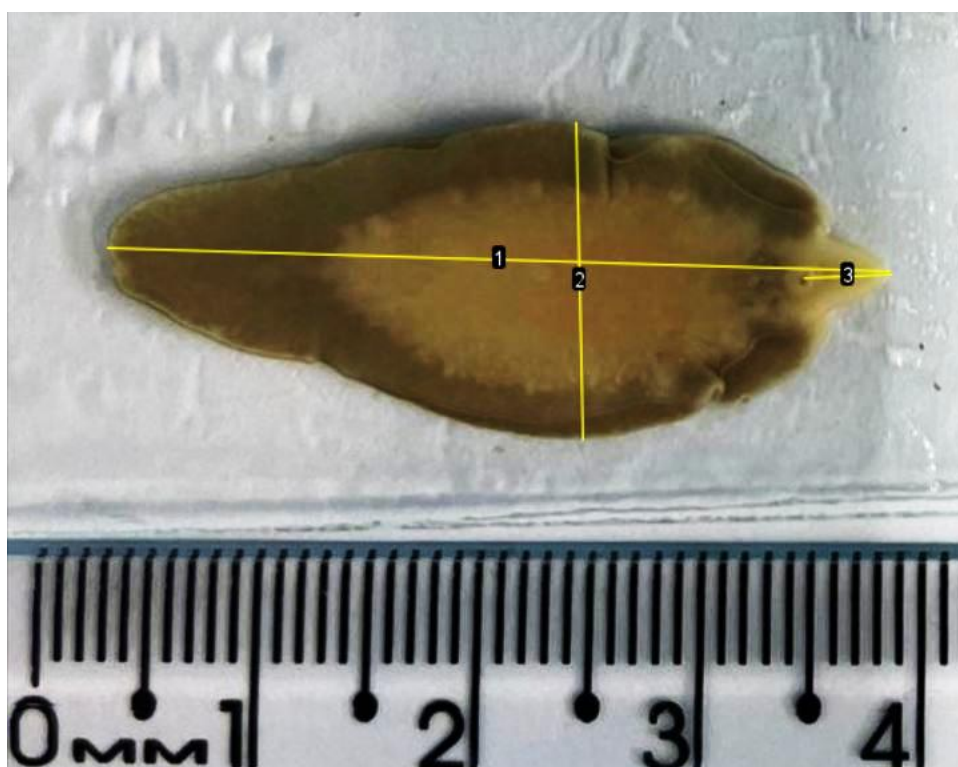
Table 7 - Comparative morphometric analysis of *Fasciola hepatica* specimens obtained from naturally infected cattle.

Number of cattle sampled	Animal Age (years)	Length (cm)	Width (cm)	Distance Between Oral and Ventral Suckers (cm)
1	4	-	-	-
2	9	2,04 ± 0,13	0,98 ± 0,14	0,26 ± 0,05
3	6	-	0,83 ± 0,08	-
4	2	2,09 ± 0,14	1,11 ± 0,13	0,24 ± 0,05
5	3	-	-	-
6	13	-	-	-
7	1	1,60 ± 0,09	0,98 ± 0,01	0,30 ± 0,04
8	12	1,48 ± 0,52	0,76 ± 0,08	-
9	1	-	1,06 ± 0,07	-
10	10	-	-	-
11	9	1,47 ± 0,13	1,06 ± 0,13	0,24 ± 0,03
12	3	1,37 ± 0,14	0,67 ± 0,01	0,21 ± 0,03
13	8	1,80 ± 0,28	1,03 ± 0,07	0,25 ± 0,01
14	<1	-	-	-
15	<1	-	-	-
16	2	1,76 ± 0,15	0,86 ± 0,17	0,24 ± 0,03
17	<1	2,40 ± 0,32	1,11 ± 0,11	0,26 ± 0,02
18	<1	2,01 ± 0,16	1,15 ± 0,16	0,27 ± 0,01
19	<1	2,45 ± 0,20	1,00 ± 0,10	0,25 ± 0,05
20	2	1,65 ± 0,21	0,92 ± 0,10	0,26 ± 0,03
21	2	1,90 ± 0,24	0,99 ± 0,13	0,25 ± 0,04
22	6	3,46 ± 0,02	1,40 ± 0,01	0,30 ± 0,09
23	1	1,44 ± 0,20	0,98 ± 0,13	0,21 ± 0,04
24	N/I	1,17 ± 0,19	0,94 ± 0,03	0,14 ± 0,06
25	N/I	1,96 ± 0,27	1,04 ± 0,11	0,27 ± 0,03
26	19	1,65 ± 0,07	0,94 ± 0,07	0,19 ± 0,03
27	N/I	2,67 ± 0,36	0,83 ± 0,16	0,21 ± 0,04
28	N/I	2,26 ± 0,31	0,86 ± 0,15	0,20 ± 0,05
29	N/I	2,34 ± 0,40	0,94 ± 0,09	0,21 ± 0,02
30	N/I	2,51 ± 0,18	1,06 ± 0,07	0,25 ± 0,03
31	N/I	2,07 ± 0,67	1,16 ± 0,16	0,22 ± 0,007
32	N/I	2,30 ± 0,67	0,98 ± 0,007	0,22 ± 0,04
33	N/I	2,02 ± 0,13	0,84 ± 0,16	0,28 ± 0,05
34	N/I	-	-	-
35	N/I	2,21 ± 0,40	0,90 ± 0,24	0,21 ± 0,04
36	N/I	2,73 ± 0,27	0,94 ± 0,10	0,18 ± 0,04
37	N/I	1,97 ± 0,28	1,01 ± 0,13	0,30 ± 0,04

Number of cattle sampled	Animal Age (years)	Length (cm)	Width (cm)	Distance Between Oral and Ventral Suckers (cm)
38	5	1,99 ± 0,27	0,83 ± 0,11	0,26 ± 0,08
39	5	1,84 ± 0,16	1,00 ± 0,14	0,26 ± 0,04
40	2	2,00 ± 0,21	1,08 ± 0,08	0,29 ± 0,02
41	2	-	-	-
42	2	1,65 ± 0,50	0,80 ± 0,25	0,28 ± 0,11
43	13	1,82 ± 0,14	0,85 ± 0,08	0,30 ± 0,03
44	6	2,03 ± 0,09	0,90 ± 0,04	0,33 ± 0,04
45	4	-	-	-
GERAL		2,01 ± 0,45	0,98 ± 0,15	0,25 ± 0,05

*Mean ± standard deviation values were calculated only for animals with more than one parasite.

Figure 6 - *Fasciola hepatica* specimen obtained from a bovine that moved through the municipalities of Capão Alto and Lages, Santa Catarina, Brazil, as an example of the morphometric analyses carried out in this study. Length (1): 3.45 cm. Width (2): 1.39 cm. (3) Distance between suction cups (3):0.37 cm.

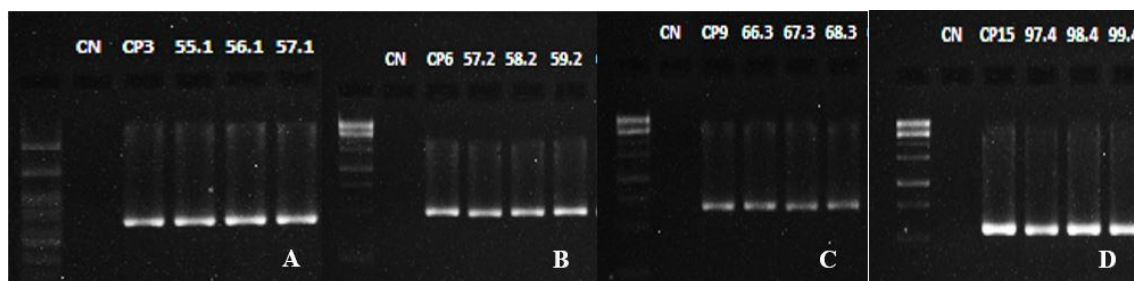


5.3.3 Molecular analysis

A total of 107 DNA extraction protocols were performed and 428 PCR reactions were conducted, comprising 107 reactions for each primer pair (ITA NADH 10/2, ITA COI 8/9, ITS1 F/R, and ITS2 F/R). All samples yielded positive

amplification for the target regions (Figure 7). Negative controls showed no amplifications, and no non-specific products above or below the expected fragment sizes were detected, indicating high specificity and reliability of the PCR assays.

Figure 7 - Agarose gel electrophoresis (2%). Negative control (CN) and positive control (CP). A - ITA NADH 10/2 primers (535 bp), samples 55–57, with 100 bp molecular weight marker. B - ITA COI 8/9 primers (438 bp), samples 57–59, with 1 kb molecular weight marker. C - ITS1 F/R primers (600 bp), samples 66–68, with a 1 kb molecular weight marker. D - ITS2 F/R primers (505-506pb), samples 97 – 99, with a 1 kb molecular weight marker.



5.3.4 Phylogenetic Analysis

The sequences obtained for the ITS1 (Accession numbers PZ501632-PZ501655), ITS2 (Accession numbers PZ507506-PZ507529), and NADH genes (Accession numbers PZ508055- PZ508078) (Appendix D) exhibited a high degree of conservation among the analyzed isolates, with a limited number of polymorphic sites across the alignments. Due to the low genetic variability observed in these markers, phylogenetic analyses did not generate informative groupings or sufficient resolution to discriminate among the evaluated isolates. Therefore, only the COI gene displayed adequate nucleotide variability for phylogenetic tree reconstruction and for assessing the genetic relationships among the *F. hepatica* isolates included in this study.

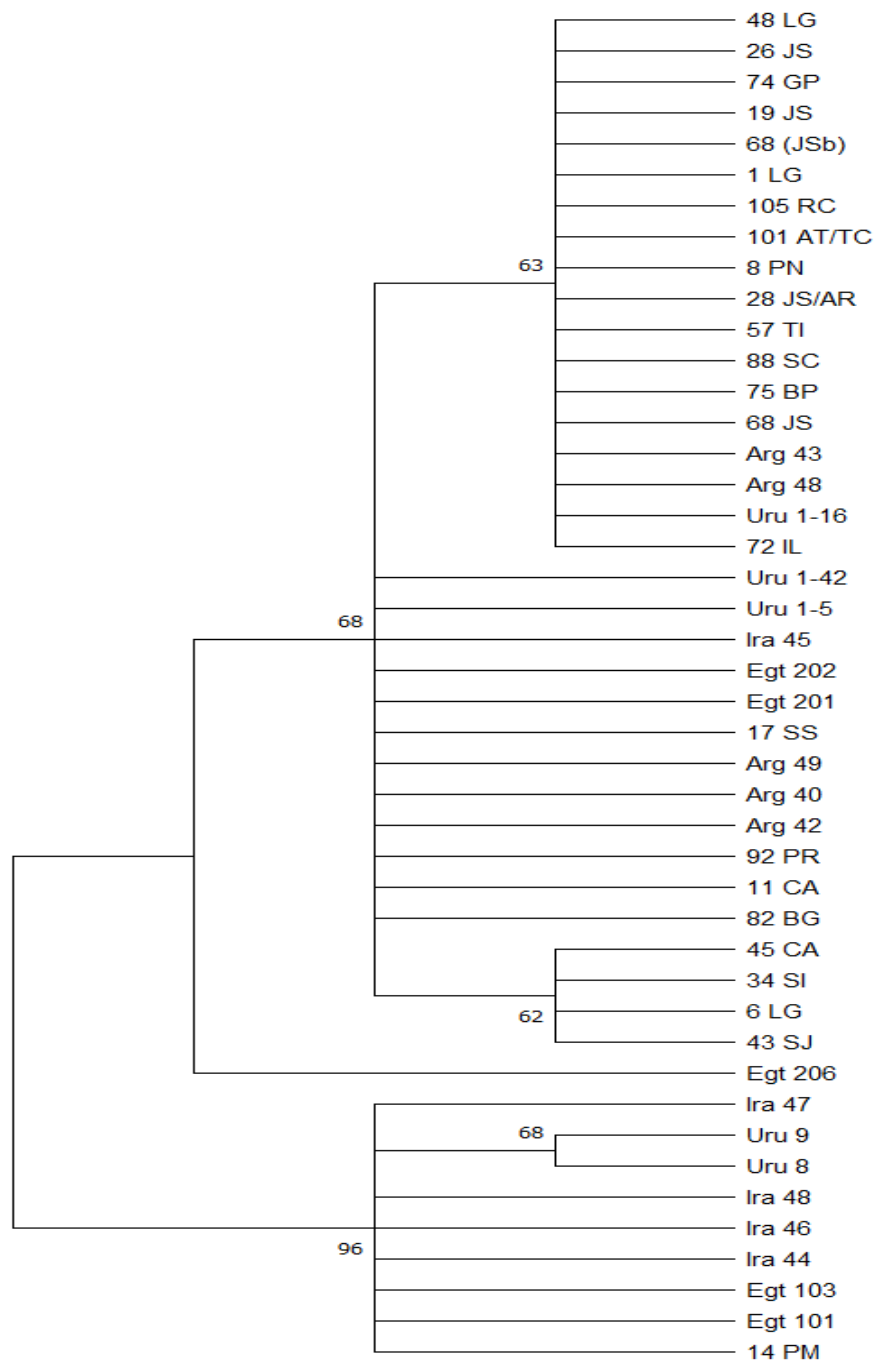
In the phylogenetic tree based on the COI gene (Accession numbers PZ501546-PZ501569) (Figure 8), several groupings were observed; however, the isolates did not cluster according to their geographic origin, with samples from different municipalities frequently occurring within the same clades. The largest

cluster, supported by a bootstrap value of 63%, included isolates from different municipalities in Santa Catarina, including 1 (LG), 48 (LG), 19 (JS), 28 (JS/AR), and 68 (JS), 8 (PN), 57 (TI), 105 (RC), 74(GP), 75 (BP), 88 (SC), 101 (AT/TC), 72 (IL) (Table 5). This cluster also included reference sequences from Argentina (Arg 43 and Arg 48) and Uruguay (Uru 1–16).

Another cluster, supported by a bootstrap value of 62%, grouped isolates 45 (CA), 34 (SL), 6 (LG), and 43 (SJ). Additionally, a cluster supported by a bootstrap value of 68% included sequences Uru 8, Uru 9, and Ira 47. A more divergent clade, strongly supported by a bootstrap value of 96%, consisted predominantly of reference sequences from Iran (Ira 44, Ira 46, and Ira 48) and Egypt (Egt 101 and Egt 103), together with isolate 14 (PM).

Isolates originating from the same municipality did not form exclusive groupings within the phylogenetic tree. Examples of this pattern were observed 19 (JS), 28 (JS/AR), 68 (JS), 1 (LG), 6 (LG), 48 (LG), 11 (CA) and 45 (CA), whose isolates were distributed across different positions within the tree topology clustered together with samples from the localities. Overall, the isolates obtained in this study showed phylogenetic affinity with reference sequences from Argentina, Uruguay, Iran, and Egypt, being distributed among mixed clusters throughout the phylogenetic tree.

Figure 8 - Phylogenetic tree of *Fasciola hepatica* isolates obtained from cattle slaughtered in Santa Catarina State, Brazil. The tree includes isolates generated in the present study and representative international sequences from Argentina (Arg), Uruguay (Uru), Iran (Ira), and Egypt (Egt). Bootstrap values (>60%) are shown at the nodes based on 1,000 replicates.



5.4 DISCUSSION

Within the genus *Fasciola*, two species are recognized as the main causative agents of fasciolosis in humans and domestic animals: *F. hepatica* and *F. gigantica* (Itagaki *et al.*, 2005). *F. hepatica* occurs predominantly in Americas, Oceania, and Europe (Torgerson; Claxton, 1999). Understanding the origin, geographic distribution, and evolutionary dynamics of this genus require integrated molecular approaches for the analysis of helminths (Gilleard; Beech, 2007).

The sequence obtained in this study confirmed that all analyzed isolates belonged to *F. hepatica*, reinforcing the molecular identity of the parasites recovered in Santa Catarina and highlighting the applicability of phylogenetic approaches for taxonomic confirmation in epidemiological studies. Considering that the understanding of the origin, geographic dispersion, and evolutionary dynamics of the genus *Fasciola* requires integrated molecular tools, the present findings contribute to expanding knowledge on parasite variability in a region of high sanitary and productive relevance (Ai *et al.*, 2011; Schwantes *et al.*, 2020)

In this context, the collection of 284 specimens from 45 cattle slaughtered in six abattoirs, combined with observation that animals transited through multiple municipalities prior to slaughter, suggests that parasite circulation is not restricted to a single geographic focus but rather reflects cattle movement and connectivity among different areas of the state. Addition Beesley *et al.*, (2017), similarly highlighted that animal movement plays a key role in the dissemination and genetic connectivity of *F. hepatica* populations.

From a morphometric perspective, substantial variability was observed among specimens, with overall mean values of 2.01 ± 0.45 cm in length, 0.98 ± 0.15 cm in width, and 0.25 ± 0.05 cm for the distance between suckers, indicating heterogeneity both among hosts and within individual infections. This variability is consistent with the phenotypic plasticity described for *F. hepatica* in different geographic contexts. It should be considered, however, that all specimens were preserved in 70% ethanol prior to morphometric analysis. Although this preservation method is widely used, it may have caused some degree of tissue shrinkage, potentially influencing the morphometric measurements obtained in the present study.

A study conducted in Germany reported median values of 2.02cm for length and 0.94cm for width, similar to those observed in the present study, and demonstrated associations between morphometric traits and mitochondrial genetic clusters (Hecker *et al.*, 2025). Similarly, Hammami *et al.*, (2023) reported a mean body length of 2.11 ± 0.27 cm in adult flukes in samples from Tunisia, further supporting the wide range of morphological variations observed in this species.

In the present study, no apparent relationship was observed between host age and parasite size based on the descriptive comparison of the morphometric data presented in the tables. Therefore, although no clear pattern was identified, morphometric variation may be more strongly influenced by biological factors such as infection duration, parasite burden, host immune response, and individual host characteristics than by chronological age alone.. This interpretation is supported by Reddington *et al.*, (1984), who demonstrated that infective dose affects both parasite size and localizations within the liver, with smaller and immatures flukes persisting in the hepatic parenchyma under higher infections intensities.

The molecular analyses showed high performance, as all 107 samples subjected to PCR yielded positive amplifications for all target markers, with no amplification in negative controls and no evidence of non-specific products. These findings indicate high DNA quality and confirm the reliability of the molecular protocol employed. The use of mitochondrial markers is consistent with approaches adopted in previous studies (Itagaki *et al.*, 2005; Pontarolo *et al.*, 2025; Schwantes *et al.*, 2020).

The phylogenetic analyses demonstrated that, among the molecular markers evaluated, only COI provided sufficient variability to investigate the genetic relationships among the *F. hepatica* isolates, whereas ITS1, ITS2, and NADH exhibited a high degree of conservation and limited discriminatory power. The absence of clear phylogeographic structuring, together with the occurrence of Santa Catarina isolates in mixed clades containing reference sequences from Argentina, Uruguay, Iran, and Egypt, suggests that related parasite lineages are broadly distributed and not restricted to specific geographic regions. Considering that the understanding of the origin, geographic dispersion, and evolutionary dynamics of *Fasciola* spp. relies on integrated molecular approaches, these

findings contribute to expanding current knowledge of the genetic diversity of *F. hepatica* and provide new information on the circulation of parasite lineages in region.

These findings are consistent with those reported by Schwantes *et al.*, (2020), who identified genetic diversity in *F. hepatica* populations from southern Brazil, including ancestral sequences of European, Asian, and African origin, as well as South American variants. Similarly, a study conducted in Paraná by Pontarolo *et al.*, (2025) demonstrated high genetic homogeneity among isolates from different municipalities, with mean genetic distances below 1% for COI and NADH markers, despite the presence of multiple haplotypes, suggesting a common and relatively stable origin of parasite populations. The findings of the present study indicate that the *F. hepatica* populations circulating in Santa Catarina exhibit limited phylogeographic structuring, with genetically related isolates occurring across different regions of the state. The occurrence of local isolates within mixed clades containing international reference sequences further suggests the circulation of broadly distributed parasite lineages rather than geographically restricted genetic groups.

5.5 CONCLUSION

The present study provides a comprehensive characterization of *Fasciola hepatica* isolates from cattle in the state of Santa Catarina, southern Brazil, integrating morphometric and molecular approaches. All analyzed samples were molecularly confirmed as *F. hepatica*, reinforcing the reliability of the diagnostic strategy employed. The observed morphometric variability among specimens, combined with the absence of a clear association with host age, highlights the influence of biological and environmental factors on parasite development.

Phylogenetic analyses demonstrated that the COI gene was the only marker exhibiting sufficient variability to discriminate among *F. hepatica* isolates, revealing the occurrence of genetically related lineages distributed across different regions of Santa Catarina and showing phylogenetic affinity with international reference sequences, whereas ITS1, ITS2, and NADH were highly conserved. Overall, this study provides novel molecular data on *F. hepatica* circulating in the state of Santa Catarina, expanding current knowledge of the

genetic variability and phylogenetic relationships of the parasite in a region of importance for Brazilian cattle production. Furthermore, the findings establish an important scientific basis for future investigations on population dynamics, geographic dispersal, and the epidemiology of fasciolosis contributing to the development of more effective surveillance and control strategies for this parasitic disease.

REFERÊNCIAS – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

- AHMAD, A. A.; RAMADAN, H. K.-A.; HASSAN, W. A.; HAKAMI, M. A.; HUSEEIN, E. A. M.; MOHAMED, S. A.-A.; MOHAMED, A. A.; ELOSSILY, N. A. New perspectives for fascioliasis in Upper Egypt's new endemic region: Sociodemographic characteristics and phylogenetic analysis of *Fasciola* in humans, animals, and lymnaeid vectors. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 16, n. 12, p. e0011000, 28 dez. 2022.
- ALBUQUERQUE, R. B. DA F. E; PEREIRA, S. A.; MELO, S. N. DE; BELO, V. S.; ARRUDA, M. M. DE; DRESCHER, G.; FIGUEIREDO, F. B. Razão de prevalência e distribuição espacial de fasciolose bovina em propriedades de Orleans, Santa Catarina. **Pubvet**, v. 16, n. 6, p. 1–9, jun. 2022.
- 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**, v. 36, n. 3, p. 1451–1465, 2015.
- ALMEIDA, T. M.; NETO, I. R.; OLIVEIRA BRANDÃO, Y. DE; MOLENTO, M. B. Geographic expansion of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) due to changes in land use and cover in Brazil. **International Journal for Parasitology**, v. 54, n. 5, p. 201–212, abr. 2024.
- ALMEIDA, T. M.; OLIVEIRA, F.; CHAGAS XAVIER, S. C.; ALDA, P.; MOLENTO, M. B. Ecological niche and distribution patterns of snails that host *Fasciola hepatica* across South America: Unveiling the hidden landscapes. **Veterinary Parasitology**, v. 338, p. 110541, ago. 2025.
- ALSULAMI, M. N.; MOHAMED, K.; WAKID, M.; ABDEL-GABER, R.; TIMSAH, A. G.; AL-MEGRIN, W. A. I.; KHAN, A.; ELKHOLY, W. A.; ABDELAAL, K. A.; ELSHABRAWY, H. A.; EL-KADY, A. M. Molecular Characterization of *Fasciola hepatica* in Sheep Based on DNA Sequences of Ribosomal ITS-1. **Infection and Drug Resistance**, v. Volume 16, p. 6661–6671, out. 2023.
- ÁLVAREZ-SÁNCHEZ, M. A.; MAINAR-JAIME, R. C.; PÉREZ-GARCÍA, J.; ROJO-VÁZQUEZ, F. A. Resistance of *Fasciola hepatica* to triclabendazole and albendazole in sheep in Spain. **Veterinary Record**, v. 159, n. 13, p. 424–425, 1 set. 2006.
- AMÉRICO, L.; PADILHA, M. A. C.; ARRUDA, P. M.; 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**, v. 9, 22 jul. 2022.
- AMÉRICO, L.; ARRUDA, P. M.; LIMA, F. R.; MACHADO, S. G. R.; MOURA, A. B.; CHRYSSAFIDIS, A. L. Primeiros registros de *Pseudosuccinea columella* em municípios do Planalto Serrano Catarinense. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 21., 2022. Anais. 2022.

ARIFIN, M. I.; HÖGLUND, J.; NOVOBILSKÝ, A. Comparison of molecular and conventional methods for the diagnosis of *Fasciola hepatica* infection in the field. **Veterinary Parasitology**, v. 232, p. 8–11, dez. 2016.

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**, v. 65, p. 1–18, 2017.

BELGIN, G.; S, K. Y.; H, T.; A, Ö. P.; B, D.; A, D.; G, Y. Partial Hepatectomy for the Resistant *Fasciola Hepatica* Infection in a Child. **APSP Journal of Case Reports**, v. 6, n. 3, p. 27, 2015.

BLOEMHOFF, Y.; FORBES, A.; DANAHER, M.; GOOD, B.; MORGAN, E.; MULCAHY, G.; SEKIYA, M.; SAYERS, R. Determining the Prevalence and Seasonality of *Fasciola hepatica* in Pasture-based Dairy herds in Ireland using a Bulk Tank Milk ELISA. **Irish Veterinary Journal**, v. 68, n. 1, p. 16, 9 dez. 2015.

BOWMAN, D. **Georgis' Parasitology for Veterinarians**. 11. ed. [s.l.] Elsevier, 2021.

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**, v. 10, n. 1, p. e0004361, 25 jan. 2016.

CABRERA, G.; CABEZAS, C.; ESTAY-OLEA, D.; STOORE, C.; BAQUEDANO, M. S.; PAREDES, R.; HIDALGO, C. Molecular characterization of *Fasciola hepatica* obtained from cattle and horse in Central Chile. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 56, p. 101130, nov. 2024.

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

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

CARNEVALE, S.; MALANDRINI, J. B.; PANTANO, M. L.; SORIA, C. C.; RODRIGUES-SILVA, R.; MACHADO-SILVA, J. R.; VELÁSQUEZ, J. N.; KAMENETZKY, L. First genetic characterization of *Fasciola hepatica* in Argentina by nuclear and mitochondrial gene markers. **Veterinary Parasitology**, v. 245, p. 34–38, out. 2017.

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**, v. 37, n. 5, p. 430–444, maio 2021.

CELIK, F.; TASHIRO, M.; SIMSEK, S.; BALKAYA, İ.; SATO, Y.; ICHIKAWA-SEKI, M. Accurate species discrimination of *Fasciola hepatica* from Türkiye based on the fatty acid binding protein type I (FABP type I) gene and phylogenetic analysis using mitochondrial DNA. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 133, p. 105783, set. 2025.

CHAOUADI, M.; SCARPA, F.; AZZENA, I.; COSSU, P.; HARHOURA, K.; AISSI, M.; TAZEROUTI, F.; GARIPPA, G.; MERELLA, P.; CASU, M.; SANNA, D. New insights into the genetic variability of *Fasciola hepatica* (Trematoda) in Algeria and relationships with other geographic regions revealed by mitochondrial DNA. **Helminthologia**, v. 59, n. 2, p. 152–164, 3 set. 2022.

CHARLIER, J.; MEULEMEESTER, L. DE; CLAEREBOU, E.; WILLIAMS, D.; VERCRUYSE, J. Qualitative and quantitative evaluation of coprological and serological techniques for the diagnosis of fasciolosis in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 153, p. 44–51, 2008.

CHIAPPETTA, V.; CANTÓN, C.; PRUZZO, C.; LANUSSE, C.; ALVAREZ, L.; CEBALLOS, L. Albendazole and Clorsulon in *Fasciola hepatica* Control: Integrated Pharmacokinetic and Flukicidal Efficacy Assessment in Sheep. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 48, n. 6, p. 474–483, 25 nov. 2025.

CHRYSSAFIDIS, A. L.; ARRUDA, P. M.; AMERICO, L.; MACHADO, S. G. R. M.; LIMA, F. R.; MOURA, A. B. 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**, 2023.

CUERVO, P. F.; MERA Y SIERRA, R.; ARTIGAS, P.; FANTOZZI, M. C.; BARGUES, M. D.; MAS-COMA, S. Impact of climate change on the spread of fascioliasis into the extreme south of South America. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 19, n. 8, p. e0013433, 18 ago. 2025.

DELGADO, N. U.; PEREIRA, A. E.; MARTÍNEZ, R. A.; MUÑOZ, A. A. F.; PINILLA, J. C. Seroprevalence and coprological prevalence of liver fluke *Fasciola hepatica* in cattle and sheep from Santander department, Colombia. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 32, n. 4, 2023.

DESTOUMIEUX-GARZÓN, D. *et al.* The One Health Concept: 10 Years Old and a Long Road Ahead. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 5, 12 fev. 2018.

DOWLING, A.; LAWRENCE, K. E.; HOWE, L.; SCOTT, I.; POMROY, W. The seroprevalence and spatial distribution of liver fluke infection in a sample of West Coast and Canterbury dairy herds. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 58, p. 101201, fev. 2025.

DRACZ, R. M.; LIMA, W. DOS S. Autochthonous infection of buffaloes and cattle by *Fasciola hepatica* in Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 3, p. 413–416, set. 2014.

DRESCHER, G.; VASCONCELOS, T. C. B. DE; BELO, V. S.; PINTO, M. M. DA G.; ROSA, J. DE O.; MORELLO, L. G.; FIGUEIREDO, F. B. Serological diagnosis of fasciolosis (*Fasciola hepatica*) in humans, cattle, and sheep: a meta-analysis. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 10, 31 ago. 2023.

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**, v. 169, p. 76–81, 2010.

ECHEVARRIA, F. A. M.; CORREA, M. B. C.; WEHRLE, R. D. Experiments on anthelmintic control of *Fasciola hepatica* in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 43, p. 211–222, 1992.

ENDALAMEW, S. G.; WASSIE, A. T.; ASSEFA, A. Y.; AMBAW, Y. G.; AYALEW, S. M.; ASSEFA, S. K. Prevalence and risk factors of sheep and goats fasciolosis in Ethiopia: A systematic review and meta-analysis. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 19, n. 8, p. e0013074, 18 ago. 2025.

FAIRWEATHER, I.; BORAY, J. C. Fasciolicides: Efficacy, actions, resistance and its management. **Veterinary Journal**, v. 158, n. 2, p. 81–112, set. 1999.

FERNANDEZ-BACA, M. V.; HOBAN, C.; ORE, R. A.; ORTIZ, P.; CHOI, Y.-J.; MURGA-MORENO, C.; MITREVA, M.; CABADA, M. M. The Differences in the Susceptibility Patterns to Triclabendazole Sulfoxide in Field Isolates of *Fasciola hepatica* Are Associated with Geographic, Seasonal, and Morphometric Variations. **Pathogens**, v. 11, n. 6, p. 625, 28 maio 2022.

FISS, L.; ADRIEN, M. L.; PEREIRA, C. M.; 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**, v. 112, n. 2, p. 883–887, 2012.

FLANAGAN, A. M.; EDGAR, H. W. J.; FORSTER, F.; GORDON, A.; HANNA, R. E. B.; MCCOY, M.; BRENNAN, G. P.; FAIRWEATHER, I. Standardisation of a coproantigen reduction test (CRT) protocol for the diagnosis of resistance to triclabendazole in *Fasciola hepatica*. **Veterinary Parasitology**, v. 176, n. 1, p. 34–42, fev. 2011.

FLORES-RAMOS, M.; IBARRA-VELARDE, F.; JUNG-COOK, H.; HERNÁNDEZ-CAMPOS, A.; VERA-MONTENEGRO, Y.; CASTILLO, R. Novel triclabendazole prodrug: A highly water-soluble alternative for the treatment of fasciolosis. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n. 3, p. 616–619, fev. 2017.

FLORES-RAMOS, M.; LEYVA-GÓMEZ, G.; ROJAS-CAMPOS, T.; CRU-MENDOZA, I.; HERNÁNDEZ-CAMPOS, A.; VERA-MONTENEGRO, Y.; CASTILLO, R.; VELÁZQUEZ-MARTÍNEZ, I.; PADIERNA-MOTA, C.; ARIAS-GARCÍA, R.; IBARRA-VELARDE, F. Fosfatriclaben, a prodrug of triclabendazole: Preparation, stability, and fasciolicidal activity of three new intramuscular formulations. **Veterinary Parasitology**, v. 327, p. 110113, abr. 2024.

FÜRST, T.; KEISER, J.; UTZINGER, J. Global burden of human food-borne trematodiasis: A systematic review and meta-analysis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 12, n. 3, p. 210–221, 2012.

GALAVANI, H.; RAEGHI, S.; KARAMIAN, M.; TORABI, N.; HANILOO, A. Morphometric and Molecular Characterization of *Fasciola* spp. in Livestock from Northwestern Provinces of Iran. **Veterinary Medicine and Science**, v. 10, n. 6, 29 nov. 2024.

GIL, L. C.; DÍAZ, A.; RUEDA, C.; MARTÍNEZ, C.; CASTILLO, D.; APT, W. Resistant human fascioliasis: Report of four patients. **Revista médica de Chile**, v. 142, n. 10, p. 1330–1333, 1 out. 2014.

GILLEARD, J. S.; BEECH, R. N. Population genetics of anthelmintic resistance in parasitic nematodes. **Parasitology**, v. 134, n. 8, p. 1133–1147, 3 ago. 2007.

GORDON, D.; ZADOKS, R.; SKUCE, P.; SARGISON, N. Confirmation of triclabendazole resistance in liver fluke in the UK. **Veterinary Record**, v. 171, n. 6, p. 159–160, 1 ago. 2012.

GRAHAM-BROWN, J.; WILLIAMS, D. J. L.; SKUCE, P.; ZADOKS, R. N.; DAWES, S.; SWALES, H.; DIJK, J. VAN. Composite *Fasciola hepatica* faecal egg sedimentation test for cattle. **Veterinary Record**, v. 184, n. 19, p. 1–8, maio 2019.

GUIMARÃES, M. P. *Fasciola hepatica*. In: NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 13. ed. São Paulo: Atheneu. p. 223–226, 2016.

HAMMAMI, I.; CIUCA, L.; MAURELLI, M. P.; ROMDHANE, R.; SASSI, L.; RJEIBI, M. R.; FARHAT, N.; SIMO, A. K.; RINALDI, L.; REKIK, M.; GHARBI, M. First morphometric and molecular characterization of *Fasciola* spp. in Northwest Tunisia. **Parasitology Research**, 29 ago. 2023.

HANNA, R. E. B.; MCMAHON, C.; ELLISON, S.; EDGAR, H. W.; KAJUGU, P. E.; GORDON, A.; IRWIN, D.; BARLEY, J. P.; MALONE, F. E.; BRENNAN, G. P.; FAIRWEATHER, I. *Fasciola hepatica*: A comparative survey of adult fluke resistance to triclabendazole, nitroxylin and closantel on selected upland and lowland sheep farms in Northern Ireland using faecal egg counting, coproantigen ELISA testing and fluke histology. **Veterinary Parasitology**, v. 207, n. 1–2, p. 34–43, 15 jan. 2015.

- HARIDWAL, S.; MALATJI, M. P.; MUKARATIRWA, S. Morphological and molecular characterization of *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* phenotypes from co-endemic localities in Mpumalanga and KwaZulu-Natal provinces of South Africa. **Food and Waterborne Parasitology**, v. 22, p. e00114, mar. 2021.
- HASSELL, C.; CHAPMAN, V. Case report: Suspect Lack of Triclabendazole Efficacy in Liver Fluke in Sheep in the Taranaki. **Proceedings of the Sheep and Beef Cattle Veterinarians of the NZVA**, 1 jan. 2012.
- HECKER, A. S.; RAULF, M.-K.; KÖNIG, S.; MAY, K.; STRUBE, C. Population genetic analysis of the liver fluke *Fasciola hepatica* in German dairy cattle reveals high genetic diversity and associations with fluke size. **Parasites & Vectors**, v. 18, n. 1, p. 51, 13 fev. 2025.
- HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, J. C.; GONZÁLEZ-GARDUÑO, R.; ORTIZ-PÉREZ, D. O.; VILLA-MANCERA, A.; ARIAS-VÁZQUEZ, M. S.; PAZ-SILVA, A. Prevalence of flukes (*Fasciola hepatica* and paramphistomids) in cattle in south-eastern Mexico. **Helminthologia**, v. 60, n. 2, p. 141–151, 1 jun. 2023.
- HOWELL, A. K.; WILLIAMS, D. J. L. The Epidemiology and Control of Liver Flukes in Cattle and Sheep. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 36, n. 1, p. 109–123, 2020.
- IBGE. **Produção agropecuária: bovinos**. . Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br/>>. Acesso em: 13 jan. 2026.
- ISSA, S. A.; KEBEDE, A. G.; LEGESSE, T. K. Spontaneous hepatic hemorrhage in fascioliasis: Imaging and diagnostic challenges in a rare case series from East Africa. **Radiology Case Reports**, v. 20, n. 9, p. 4209–4214, set. 2025.
- ITAGAKI, T.; KIKAWA, M.; SAKAGUCHI, K.; SHIMO, J.; TERASAKI, K.; SHIBAHARA, T.; FUKUDA, K. Genetic characterization of parthenogenic *Fasciola* sp. in Japan on the basis of the sequences of ribosomal and mitochondrial DNA. **Parasitology**, v. 131, n. 5, p. 679–685, 11 nov. 2005.
- JEONG, M. J.; PARK, J. K.; YU, H. S. Phylogenetic Characteristics of *Fasciola hepatica* Isolated from a Korean Patient. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 60, n. 5, p. 367–370, 21 out. 2022.
- 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**, v. 32, n. 6, p. 458–469, 2016.
- 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**, v. 298, 1 out. 2021.

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**, v. 186, n. 2, p. 188–191, nov. 2010.

KUMABE, A. *et al.* Four successive cases of human fasciolosis in Japan. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 31, n. 2, p. 102480, fev. 2025.

LAN, Z.; ZHANG, Y.-X.; ZHANG, A.-H.; WANG, Y.-Y.; QIU, H.-Y.; GAO, J.-F.; CHENG, G.-F.; ELSHEIKHA, H.; WANG, C.-R. Prevalence, risk factors, and regional insights of bovine fasciolosis in China: A systematic review and meta-analysis. **Acta Tropica**, v. 263, p. 107570, mar. 2025a.

LEINMUELLER, M.; ADLER, F.; CAMPE, A.; KNUBBEN-SCHWEIZER, G.; HOEDEMAEKER, M.; STRUBE, C.; SPRINGER, A.; OEHM, A. W. Animal health as a function of farmer personality and attitude: using the HEXACO model of personality structure to predict farm-level seropositivity for *Fasciola hepatica* and *Ostertagia ostertagi* in dairy cows. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 11, 2 out. 2024.

MACIEL, M. G. *et al.* Cross-Sectional Serological Survey of Human Fascioliasis in Canutama Municipality in Western Amazon, Brazil. **Journal of Parasitology Research**, v. 2018, p. 1–8, 2018.

MALONE, J. B.; LOYACANO, A.; ARMSTRONG, D. A.; ARCHBALD, L. F. Bovine fascioliasis. **The Bovine Practitioner**, p. 126–133, 1 nov. 1982.

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**, v. 3, n. 2, p. 131–141, nov. 1984.

MARTINS, I. V. F.; SPERANDIO, N. DO C. Fasciolosis in ruminants in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 46, p. e002924, 2024.

MAS COMA, S.; FONS, R.; FELIU, C.; BARGUES, M. D.; VALERO, M. A.; GALAN PUCHADES, M. T. Small mammals as natural definitive hosts of the liver fluke, *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 (Trematoda: Fasciolidae): a review and two new records of epidemiologic interest on the Island of Corsica. **Rivista di Parassitologia** 5, v. 491, n. 49, p. 73–78, 14 set. 1988.

MAS-COMA, S. Epidemiology of fascioliasis in human endemic areas. **Journal of Helminthology**, v. 79, p. 207–216, 2005.

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

MAS-COMA, S.; BARGUES, M. D.; VALERO, M. A. Fascioliasis and other plant-borne trematode zoonoses. **International Journal for Parasitology**, v. 35, n. 11–12, p. 1255–1278, 2005.

MAS-COMA, S.; BARGUES, M. D.; VALERO, M. A. Diagnosis of human fascioliasis by stool and blood techniques: update for the present global scenario. **Parasitology**, v. 141, n. 14, p. 1918–1946, 31 dez. 2014.

MAS-COMA, S.; BARGUES, M. D.; VALERO, M. A. Human fascioliasis infection sources, their diversity, incidence factors, analytical methods and prevention measures. **Parasitology**, p. 1–35, nov. 2018.

MAS-COMA, S.; BUCHON, P.; FUNATSU, I. R.; ANGLES, R.; MAS-BARGUES, C.; ARTIGAS, P.; VALERO, M. A.; BARGUES, M. D. Donkey Fascioliasis Within a One Health Control Action: Transmission Capacity, Field Epidemiology, and Reservoir Role in a Human Hyperendemic Area. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, 5 nov. 2020.

MAS-COMA, S.; CUERVO, P. F.; CHETRI, P. B.; TRIPATHI, T.; GABRIELLI, A. F.; BARGUES, M. D. Emerging Human Fascioliasis in India: Review of Case Reports, Climate Change Impact, and Geo-Historical Correlation Defining Areas and Seasons of High Infection Risk. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 10, n. 5, p. 123, 2 maio 2025.

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

MAS-COMA, S.; VALERO, M. A.; BARGUES, M. D. One Health for fascioliasis control in human endemic areas. **Trends in parasitology**, v. 39, n. 8, ago. 2023.

MEDEIROS, C.; SCHOLTE, R. G.; D'ÁVILA, S.; CALDEIRA, R. L.; CARVALHO, O. 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**, v. 56, n. 3, p. 235–252, maio/jun. 2014.

MEHMOOD, K. *et al.* A review on epidemiology, global prevalence and economical losses of fasciolosis in ruminants. **Microbial Pathogenesis**, v. 109, p. 253–262, ago. 2017.

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**, v. 12, p. 1–3, 2018.

NEDRELID, C.; GRAVDAL, M.; ROBERTSON, L. J.; TOFTAKER, I.; STUEN, S.; BAKKE, M. J.; HEKTOEN, L. Veterinary practitioners' perspectives on pasture-transmitted parasites in Norwegian sheep and cattle: A questionnaire-

based study. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 70, p. 101466, maio 2026.

NUKERI, S.; MALATJI, M. P.; SITHOLE, M. I.; NGCAMPHALALA, P. I.; NYAGURA, I.; TEMBE, D.; NDLOVU, I. S.; CHAISI, M.; MUKARATIRWA, S. Infection rates of *Fasciola* spp. in cattle slaughtered at 13 abattoirs in six of nine provinces of South Africa. **Food and Waterborne Parasitology**, v. 39, p. e00260, jun. 2025.

OLAECHEA, F.; LOVERA, V.; LARROZA, M.; RAFFO, F.; CABRERA, R. Resistance of *Fasciola hepatica* against triclabendazole in cattle in Patagonia (Argentina). **Veterinary Parasitology**, v. 178, n. 3–4, p. 364–366, 10 jun. 2011.

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

OTHMAN, V. S.; HAMA, A. A.; ZORAB, R. H.; DALIMI, A. Molecular Characterization of Liver Fluke Isolated from Sheep, Goat and Cattle in Sulaymaniyah, Iraq. **Iranian Journal of Parasitology**, 3 dez. 2023.

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

PARAENSE, W. L. *Lymnaea rupestris* sp.n. from Southern Brazil (Pulmonata: Lymnaeidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 77, n. 4, p. 437–443, 1982.

PINHEIRO, P. C. P.; DONATELE, D. M.; MARTINS, I. V. F.; BERBARI NETO, F.; GIANNOTTI, J. D. Spatiotemporal analysis of fasciolosis in cattle in the state of Espírito Santo, Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 68, p. 101430, fev. 2026.

PONTAROLO, D. V.; KRUG, G. A.; FONSECA, P. M.; GRAICHEN, D. A. S.; MOLENTO, M. B. Genetic characterization of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) in cattle from Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 34, n. 4, 2025.

PRITSCH, C. I.; MOLENTO, B. M. Recount of Reported Cases of Human Fascioliasis in Brazil Over the Last 60 Years. **Revista de Patologia Tropical / Journal of Tropical Pathology**, v. 47, n. 2, p. 75, 25 jun. 2018.

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**, v. 52, p. 5–7, 2019.

QUANG, V. H. *et al.* Fascioliasis in north-central Vietnam: Assessing community knowledge, attitudes, and practices. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 19, n. 7, p. e0013324, 21 jul. 2025.

RAILLIET, A. Sur une forme particulière de douve hépatique provenant du Sénégal. **Compt. Rend. Soc. Biol, Paris**, 1895.

REIGATE, C.; WILLIAMS, H. W.; DENWOOD, M. J.; MORPHEW, R. M.; THOMAS, E. R.; BROPHY, P. M. Evaluation of two *Fasciola hepatica* faecal egg counting protocols in sheep and cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 294, p. 109435, jun. 2021.

RINALDI, L.; GONZALEZ, S.; GUERRERO, J.; AGUILERA, L. C.; MUSELLA, V.; GENCHI, C.; CRINGOLI, G. A One-Health integrated approach to control fascioliasis in the Cajamarca valley of Peru. **Geospatial health**, v. 6, n. 3, p. 67, 1 set. 2012.

ROBINSON, M. W.; DALTON, J. P. Zoonotic helminth infections with particular emphasis on fasciolosis and other trematodiasis. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 364, n. 1530, p. 2763–2776, 27 set. 2009.

ROJAS-MONCADA, J.; TORREL, T.; VARGAS-ROCHA, L. Detection and prevalence of parasites in creole cattle from a rural area in an Andean district of Peru. **Tropical Animal Health and Production**, v. 57, n. 5, p. 265, 13 jun. 2025.

ROSAS-HOSTOS INFANTES, L. R. *et al.* The global prevalence of human fascioliasis: a systematic review and meta-analysis. **Therapeutic advances in infectious disease**, v. 10, 1 jan. 2023.

SABATINI, G. A. *et al.* Practical guide to the diagnostics of ruminant gastrointestinal nematodes, liver fluke and lungworm infection: interpretation and usability of results. **Parasites & Vectors**, v. 16, n. 1, p. 58, 8 fev. 2023.

SCHWANTES, J. B.; QUEVEDO, P.; D'ÁVILA, M. F.; MOLENTO, M. B.; GRAICHEN, D. A. S. *Fasciola hepatica* in Brazil: genetic diversity provides insights into its origin and geographic dispersion. **Journal of Helminthology**, v. 94, p. e83, 9 set. 2020.

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

SILES-LUCAS, M.; BECERRO-RECIO, D.; SERRAT, J.; GONZÁLEZ-MIGUEL, J. Fascioliasis and fasciolopsiasis: Current knowledge and future trends. **Research in Veterinary Science**, v. 134, p. 27–35, 2020.

SILVA, A. E. P.; FREITAS, C. DA 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**, v. 29, n. 3, p. 1–7, 2020.

SMITHERS, S. R. Fascioliasis and other trematode infections. In: COHEN, S.; WARREN, K. S. **Immunology of Parasitic Infections**. 2. ed. Oxford: Blackwell Scientific Publicationsp. 608–621, 1982.

TAYLOR, M. A. .; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Veterinary Parasitology**. 4. ed. Guanabara Koogan, 2016.

TEMESGEN, A. B. *et al.* Haematobiochemical Alterations and Pathological Lesions Induced by Fasciolosis in Slaughtered Cattle at Gondar ELFORA Abattoir, Northwest Ethiopia. **Veterinary Medicine and Science**, v. 11, n. 4, 17 jul. 2025.

THAKUR, S. An overview of fasciolosis in Nepal: epidemiology, diagnosis, and control strategies. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 48, n. 4, p. 723–735, 28 dez. 2024.

TORGERSON, P.; CLAXTON, J. **Epidemiology and control. In Fasciolosis (ed. Dalton, J. P.)**. UK: CABI Publishing, 1999.

VALDERAS-GARCÍA, E.; CASTILLA-GÓMEZ DE AGÜERO, V.; GONZÁLEZ DEL PALACIO, L.; GALLI, G.; ESCALA, N.; RUIZ-SOMACARRERA, M.; GONZÁLEZ-WARLETA, M.; OLMO, E. DEL; BALAÑA-FOUCE, R.; MARTÍNEZ-VALLADARES, M. New benzimidazole derivative compounds with in vitro fasciolicidal properties. **Parasites & Vectors**, v. 17, n. 1, p. 173, 3 abr. 2024.

VALERO, M. A. *et al.* Field Evaluation of a Coproantigen Detection Test for Fascioliasis Diagnosis and Surveillance in Human Hyperendemic Areas of Andean Countries. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 9, p. e1812, 13 set. 2012.

VAN, N. *et al.* A multidisciplinary analysis of over 53,000 fascioliasis patients along the 1995–2019 countrywide spread in Vietnam defines a new epidemiological baseline for One Health approaches. **One Health**, v. 19, p. 100869, dez. 2024.

VILLEGAS, F. *et al.* Administration of Triclabendazole Is Safe and Effective in Controlling Fascioliasis in an Endemic Community of the Bolivian Altiplano. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 8, p. e1720, 7 ago. 2012.

WEBB, C. M.; CABADA, M. M. Recent developments in the epidemiology, diagnosis, and treatment of Fasciola infection. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 31, p. 409–414, 2018.

WEBSTER, J. P.; GOWER, C. M.; KNOWLES, S. C. L.; MOLYNEUX, D. H.; FENTON, A. One health – an ecological and evolutionary framework for tackling Neglected Zoonotic Diseases. **Evolutionary Applications**, v. 9, n. 2, p. 313–333, 8 fev. 2016.

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

WINKELHAGEN, A. J. S.; MANK, T.; VRIES, P. J. DE; SOETEKOUW, R. Apparent Triclabendazole-Resistant Human *Fasciola hepatica* Infection, the Netherlands - Volume 18, Number 6—June 2012 - Emerging Infectious Diseases journal - CDC. **Emerging Infectious Diseases**, v. 18, n. 6, p. 1028–1029, 2012.

YIHUNIE, D. T.; MUGISHA, J. Y. T.; GEBRU, D. M.; ALEMNEH, H. T. Optimal control and cost-effectiveness analysis of *Fasciola hepatica* model. **Heliyon**, v. 10, n. 19, p. e38540, out. 2024.

ZÁRATE-RENDÓN, D. A.; BRIONES-MONTERO, A.; HUARACA-ORÉ, N. A.; VEIRANO, G. S.; LEVECKE, B.; GELDHOF, P. Comparison of the therapeutic efficacy of five anthelmintics against natural *Fasciola hepatica* infections in dairy cattle from the Mantaro Valley, Peru. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 38, p. 100827, fev. 2023.

REFERÊNCIAS – ARTIGO 1

- ALMEIDA, T. M.; NETO, I. R.; OLIVEIRA BRANDÃO, Y. DE; MOLENTO, M. B. Geographic expansion of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) due to changes in land use and cover in Brazil. **International Journal for Parasitology**, v. 54, n. 5, p. 201–212, abr. 2024.
- AMÉRICO, L.; PADILHA, M. A. C.; ARRUDA, P. M.; 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**, v. 9, 22 jul. 2022.
- AMÉRICO, L.; ARRUDA, P. M.; LIMA, F. R.; MACHADO, S. G. R.; MOURA, A. B.; CHRYSSAFIDIS, A. L. Primeiros registros de *Pseudosuccinea columella* em municípios do Planalto Serrano Catarinense. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 21., 2022. Anais. 2022.
- 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. **Simpósio Internacional Ciência Saúde e Território**, v. 6, p. 2, 2021.
- BARGUES, M. D.; GAYO, V.; SANCHIS, J.; ARTIGAS, P.; KHOUBBANE, M.; BIRRIEL, S.; MAS-COMA, S. DNA multigene characterization of *Fasciola hepatica* and *Lymnaea neotropica* and its fascioliasis transmission capacity in Uruguay, with historical correlation, human report review and infection risk analysis. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 2, p. e0005352, 3 fev. 2017.
- 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**, v. 65, p. 1–18, 2017.
- BOWMAN, D. **Georgis' Parasitology for Veterinarians**. 11. ed. [s.l.] Elsevier, 2020.
- CALVANI, N. E. D.; ŠLAPETA, J. *Fasciola* Species Introgression: Just a Fluke or Something More? **Trends in Parasitology**, n. 1, p. 1–10, 2020.
- CARAVEDO, M. A.; CABADA, M. M. Human Fascioliasis: Current Epidemiological Status and Strategies for Diagnosis, Treatment, and Control. **Research and Reports in Tropical Medicine**, v. 11, p. 149–158, 2020.
- 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**, v. 37, n. 5, p. 430–444, maio 2021.

CHARLIER, J.; VERCRUYSSSE, J.; MORGAN, E.; DIJK, J. VAN; WILLIAMS, D. J. L. Recent advances in the diagnosis, impact on production and prediction of *Fasciola hepatica* in cattle. **Parasitology**, v. 141, n. 3, p. 326–335, 7 mar. 2014.

CHRYSSAFIDIS, A. L.; ARRUDA, P. M.; AMERICO, L.; MACHADO, S. G. R. M.; LIMA, F. R.; MOURA, A. B. 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**, 2023.

COSTA, L. **O continente de Lagens**. Florianópolis: [s.n.]. v. 4

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**, v. 195, n. 3–4, p. 272–285, 1 ago. 2013.

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**, v. 169, p. 76–81, 2010.

EPAGRI/CIRAM. **Boletim Agroclimático de Santa Catarina**. Disponível em: <<https://ciram.epagri.sc.gov.br>>. Acesso em: 19 maio. 2025.

FISS, L.; ADRIEN, M. L.; PEREIRA, C. M.; 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**, v. 112, n. 2, p. 883–887, 2012.

FREIRE MARTINS, I. V.; RAUTA DE AVELAR, B.; SALIM PEREIRA, M. J.; FONSECA, A. H. DA. Application of a geographical information system approach for risk analysis of fascioliasis in southern Espírito Santo state, Brazil. **Geospatial health**, v. 6, n. 3, p. 87, 1 set. 2012.

FÜRST, T.; DUTHALER, U.; SRIPA, B.; UTZINGER, J.; KEISER, J. Trematode Infections. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 26, n. 2, p. 399–419, jun. 2012.

GASPER, A. L. DE; SEVEGNANI, L.; VIBRANS, A. C.; SOBRAL, M.; UHLMANN, A.; LINGNER, D. V.; RIGON-JÚNIOR, M. J.; VERDI, M.; STIVAL-SANTOS, A.; DREVECK, S.; KORTE, A. Inventário florístico florestal de Santa Catarina: espécies da Floresta Ombrófila Mista. **Rodriguésia**, v. 64, n. 2, p. 201–210, jun. 2013.

GONZÁLEZ-MIGUEL, J.; BECERRO-RECIO, D.; SILES-LUCAS, M. Insights into *Fasciola hepatica* Juveniles: Crossing the Fasciolosis Rubicon. **Trends in Parasitology**, v. 37, n. 1, p. 35–47, jan. 2021.

HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The Sedimentation Concentration Method in Schistosomiasis Mansonii. **Puerto Rico Journal of Public Health and Tropical Medicine**, v. 9, p. 283–289, 1934.

HOTT, M. C.; ANDRADE, R. G.; MAGALHÃES JUNIOR, W. C. P. DE; D'OLIVEIRA, P. S.; ROCHA, W. S. D. DA; XAVIER, L. A. EVOLUÇÃO DA PRODUÇÃO DE LEITE NA MESORREGIÃO SUL/SUDOESTE DE MINAS ENTRE 2010 E 2020. **Revista Contemporânea**, v. 3, n. 12, p. 26751–26763, 8 dez. 2023.

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

IBGE. Divisão Regional do Brasil em mesorregiões e microrregiões geográficas. **Ministério da Economia, Fazenda e Planejamento**, v. 1, n. 9, p. 1–135, 1990.

IBGE. **IBGE - Santa Catarina**. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sc/lages/panorama>>. Acesso em: 2 maio. 2021.

IBGE. **Efetivo de Rebanho, Por Tipo de Rebanho**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>>. Acesso em: 30 jun. 2025.

IBGE. **Produção agropecuária: bovinos**. . Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br/>>. Acesso em: 13 jan. 2026.

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**, v. 32, n. 6, p. 458–469, 2016.

MAGALHÃES DE ALMEIDA, T.; NETO, I. R.; OLIVEIRA BRANDÃO, Y. DE; MOLENTO, M. B. Geographic expansion of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) due to changes in land use and cover in Brazil. **International Journal for Parasitology**, v. 54, n. 5, p. 201–212, abr. 2024.

MARTINS, I. V. F.; SPERANDIO, N. DO C. Fasciolosis in ruminants in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 46, p. e002924, 2024.

MAS-COMA, S. Epidemiology of fascioliasis in human endemic areas. **Journal of Helminthology**, v. 79, p. 207–216, 2005.

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

MAS-COMA, S.; BARGUES, M. D.; VALERO, M. A. Fascioliasis and other plant-borne trematode zoonoses. **International Journal for Parasitology**, v. 35, n. 11–12, p. 1255–1278, 2005a.

MAS-COMA, S.; BARGUES, M. D.; VALERO, M. A. Human fascioliasis infection sources, their diversity, incidence factors, analytical methods and prevention measures. **Parasitology**, p. 1–35, nov. 2018.

MAS-COMA, S.; BUCHON, P.; FUNATSU, I. R.; ANGLES, R.; MAS-BARGUES, C.; ARTIGAS, P.; VALERO, M. A.; BARGUES, M. D. Donkey Fascioliasis Within a One Health Control Action: Transmission Capacity, Field Epidemiology, and Reservoir Role in a Human Hyperendemic Area. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, 5 nov. 2020.

MAS-COMA, S.; CUERVO, P. F.; CHETRI, P. B.; TRIPATHI, T.; GABRIELLI, A. F.; BARGUES, M. D. Emerging Human Fascioliasis in India: Review of Case Reports, Climate Change Impact, and Geo-Historical Correlation Defining Areas and Seasons of High Infection Risk. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 10, n. 5, p. 123, 2 maio 2025.

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

MAS-COMA, S.; VALERO, M. A.; BARGUES, M. D. Human and Animal Fascioliasis: Origins and Worldwide Evolving Scenario. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 35, n. 4, 21 dez. 2022.

MEHMOOD, K. *et al.* A review on epidemiology, global prevalence and economical losses of fasciolosis in ruminants. **Microbial Pathogenesis**, v. 109, p. 253–262, ago. 2017.

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**, v. 12, p. 1–3, 2018a.

PEREIRA, A. DE S.; RODRIGUES, C. V.; CRUZ, J.; GOMES, L. R.; PINHO, M. W. S. **Atlas Socioeconômico de Santa Catarina**. Disponível em: <<https://www.sef.sc.gov.br/api-portal/Documento/ver/3155>>. Acesso em: 26 mar. 2025.

PFUKENYI, D. M.; MUKARATIRWA, S. A review of the epidemiology and control of gastrointestinal nematode infections in cattle in Zimbabwe. **Onderstepoort J Vet Res**, v. 80, n. 1, 4 mar. 2013.

SCHWANTES, J. B.; QUEVEDO, P.; D'ÁVILA, M. F.; MOLENTO, M. B.; GRAICHEN, D. A. S. *Fasciola hepatica* in Brazil: genetic diversity provides insights into its origin and geographic dispersion. **Journal of Helminthology**, v. 94, p. e83, 9 set. 2020.

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

SILES-LUCAS, M.; BECERRO-RECIO, D.; SERRAT, J.; GONZÁLEZ-MIGUEL, J. Fascioliasis and fasciolopsiasis: Current knowledge and future trends. **Research in Veterinary Science**, v. 134, p. 27–35, 2020.

SILVA, A. E. P.; FREITAS, C. DA 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 veterinaria**, v. 29, n. 3, p. 1–7, 2020.

SMITH, C. D.; MORGAN, E. R.; JONES, R. A. Environmental influences on the distribution and ecology of the fluke intermediate host *Galba truncatula*: a systematic review. **Parasitology**, v. 151, n. 11, p. 1201–1224, 3 set. 2024.

STOCK, L. A.; CARNEIRO, A. V.; MATTOS, L. L. Sistemas-referência de produção de leite de Santa Catarina. **Embrapa**, 2013.

THAKUR, S. An overview of fasciolosis in Nepal: epidemiology, diagnosis, and control strategies. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 48, n. 4, p. 723–735, 28 dez. 2024.

WEBB, C. M.; CABADA, M. M. Recent developments in the epidemiology, diagnosis, and treatment of *Fasciola* infection. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 31, p. 409–414, 2018.

WEBB, C. M.; WHITE, A. C.; GOTUZZO, E.; LOPEZ, M.; BASCOPE, R.; CABADA, M. M.; YANG, L.; MORALES, M. L.; BRAVENEC, C. A. Socioeconomic Factors Associated with *Fasciola hepatica* Infection Among Children from 26 Communities of the Cusco Region of Peru. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 99, n. 5, p. 1180–1185, 7 nov. 2018.

WHO. **Investing to Overcome the Global Impact of Neglected Tropical Diseases**. Switzerland: World Health Organization, 2015.

REFERÊNCIAS – ARTIGO 2

ABBAS, M. *et al.* Development of a qPCR assay for *Fasciola* spp. identification and a deep amplicon sequencing method for differentiation of fluke species in UK livestock. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 20, n. 2, p. e0014006, 17 fev. 2026.

AHMAD, A. A.; RAMADAN, H. K.-A.; HASSAN, W. A.; HAKAMI, M. A.; HUSEEIN, E. A. M.; MOHAMED, S. A.-A.; MOHAMED, A. A.; ELOSSILY, N. A. New perspectives for fascioliasis in Upper Egypt's new endemic region: Sociodemographic characteristics and phylogenetic analysis of *Fasciola* in humans, animals, and lymnaeid vectors. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 16, n. 12, p. e0011000, 28 dez. 2022.

AI, L.; CHEN, M.-X.; ALASAAD, S.; ELSHEIKHA, H. M.; LI, J.; LI, H.-L.; LIN, R.-Q.; ZOU, F.-C.; ZHU, X.-Q.; CHEN, J.-X. Genetic characterization, species differentiation and detection of *Fasciola* spp. by molecular approaches. **Parasites & vectors**, v. 4, n. 1, p. 101, jan. 2011.

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:Ciencias Agrarias**, v. 36, n. 3, p. 1451–1465, 2015.

ALMEIDA, T. M.; NETO, I. R.; OLIVEIRA BRANDÃO, Y. DE; MOLENTO, M. B. Geographic expansion of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) due to changes in land use and cover in Brazil. **International Journal for Parasitology**, v. 54, n. 5, p. 201–212, abr. 2024.

ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; MORAES GONÇALVES, J. L. DE; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 1 dez. 2013.

BEESELEY, N. J.; WILLIAMS, D. J. L.; PATERSON, S.; HODGKINSON, J. *Fasciola hepatica* demonstrates high levels of genetic diversity, a lack of population structure and high gene flow: possible implications for drug resistance. **International Journal for Parasitology**, v. 47, n. 1, p. 11–20, jan. 2017.

BENNEMA, S. C.; SCHOLTE, R. G. C.; MOLENTO, M. B.; MEDEIROS, C.; CARVALHO, O. DOS S. *Fasciola hepatica* em bovinos no Brasil: Disponibilidade de dados e distribuição espacial. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 56, n. 1, p. 35–41, 2014.

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

- CARNEVALE, S.; MALANDRINI, J. B.; PANTANO, M. L.; SORIA, C. C.; RODRIGUES-SILVA, R.; MACHADO-SILVA, J. R.; VELÁSQUEZ, J. N.; KAMENETZKY, L. First genetic characterization of *Fasciola hepatica* in Argentina by nuclear and mitochondrial gene markers. **Veterinary Parasitology**, v. 245, p. 34–38, out. 2017.
- CHARLIER, J.; VERCROY, J.; MORGAN, E.; DIJK, J. VAN; WILLIAMS, D. J. L. Recent advances in the diagnosis, impact on production and prediction of *Fasciola hepatica* in cattle. **Parasitology**, v. 141, n. 3, p. 326–335, 7 mar. 2014.
- DEZORDI, F. Z.; NETO, A. M. DA S.; CAMPOS, T. DE L.; JERONIMO, P. M. C.; AKSENEN, C. F.; ALMEIDA, S. P.; WALLAU, G. L. ViralFlow: A Versatile Automated Workflow for SARS-CoV-2 Genome Assembly, Lineage Assignment, Mutations and Intrahost Variant Detection. **Viruses**, v. 14, n. 2, p. 217, 23 jan. 2022.
- FELINER, G. N.; ROSSELLÓ, J. A. Better the devil you know? Guidelines for insightful utilization of nrDNA ITS in species-level evolutionary studies in plants. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 44, n. 2, p. 911–919, ago. 2007.
- FISS, L.; ADRIEN, M. L.; PEREIRA, C. M.; 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**, v. 112, n. 2, p. 883–887, 2012.
- GASPER, A. L. DE; SEVEGNANI, L.; VIBRANS, A. C.; SOBRAL, M.; UHLMANN, A.; LINGNER, D. V.; RIGON-JÚNIOR, M. J.; VERDI, M.; STIVAL-SANTOS, A.; DREVECK, S.; KORTE, A. Inventário florístico florestal de Santa Catarina: espécies da Floresta Ombrófila Mista. **Rodriguésia**, v. 64, n. 2, p. 201–210, jun. 2013.
- GILLEARD, J. S.; BEECH, R. N. Population genetics of anthelmintic resistance in parasitic nematodes. **Parasitology**, v. 134, n. 8, p. 1133–1147, 3 ago. 2007.
- HECKER, A. S.; RAULF, M.-K.; KÖNIG, S.; MAY, K.; STRUBE, C. Population genetic analysis of the liver fluke *Fasciola hepatica* in German dairy cattle reveals high genetic diversity and associations with fluke size. **Parasites & Vectors**, v. 18, n. 1, p. 51, 13 fev. 2025.
- IBGE. **IBGE - Santa Catarina**. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sc/lages/panorama>>. Acesso em: 2 maio. 2021.
- ITAGAKI, T.; KIKAWA, M.; SAKAGUCHI, K.; SHIMO, J.; TERASAKI, K.; SHIBAHARA, T.; FUKUDA, K. Genetic characterization of parthenogenic *Fasciola* sp. in Japan on the basis of the sequences of ribosomal and mitochondrial DNA. **Parasitology**, v. 131, n. 5, p. 679–685, 11 nov. 2005.

JEONG, M. J.; PARK, J. K.; YU, H. S. Phylogenetic Characteristics of *Fasciola hepatica* Isolated from a Korean Patient. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 60, n. 5, p. 367–370, 21 out. 2022.

MARTINS, I. V. F.; SPERANDIO, N. DO C. Fasciolosis in ruminants in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 46, p. e002924, 2024.

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

MAS-COMA, S.; BARGUES, M. D.; VALERO, M. A. Fascioliasis and other plant-borne trematode zoonoses. **International Journal for Parasitology**, v. 35, n. 11–12, p. 1255–1278, 2005.

MAS-COMA, S.; VALERO, M. A.; BARGUES, M. D. One Health for fascioliasis control in human endemic areas. **Trends in parasitology**, v. 39, n. 8, ago. 2023.

MEHMOOD, K. *et al.* A review on epidemiology, global prevalence and economical losses of fasciolosis in ruminants. **Microbial Pathogenesis**, v. 109, p. 253–262, ago. 2017.

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**, v. 12, p. 1–3, 2018.

PONTAROLO, D. V.; KRUG, G. A.; FONSECA, P. M.; GRAICHEN, D. A. S.; MOLENTO, M. B. Genetic characterization of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) in cattle from Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 34, n. 4, 2025.

PRITSCH, C. I.; MOLENTO, B. M. Recount of Reported Cases of Human Fascioliasis in Brazil Over the Last 60 Years. **Revista de Patologia Tropical / Journal of Tropical Pathology**, v. 47, n. 2, p. 75, 25 jun. 2018.

SANTA CATARINA. **Geografia de Santa Catarina**. Disponível em: <<https://estado.sc.gov.br/conheca-sc/geografia/>>. Acesso em: 1 fev. 2026.

SCHWANTES, J. B.; QUEVEDO, P.; D'ÁVILA, M. F.; MOLENTO, M. B.; GRAICHEN, D. A. S. *Fasciola hepatica* in Brazil: genetic diversity provides insights into its origin and geographic dispersion. **Journal of Helminthology**, v. 94, p. e83, 9 set. 2020.

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

SILVA, A. E. P.; FREITAS, C. DA 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 veterinaria**, v. 29, n. 3, p. 1–7, 2020.

TAMURA, K.; STECHER, G.; KUMAR, S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. **Molecular Biology and Evolution**, v. 38, n. 7, p. 3022–3027, 25 jun. 2021.

TORGERSON, P.; CLAXTON, J. **Epidemiology and control**. In **Fasciolosis** (ed. Dalton, J. P.), UK: CABI Publishing, 1999.

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

DECLARAÇÃO ÉTICA

Durante a elaboração deste trabalho, foram utilizadas ferramentas de inteligência artificial, incluindo o ChatGPT (OpenAI, versão baseada em GPT-5.3), com o objetivo de auxiliar na revisão gramatical, aprimoramento da redação científica e correções na língua estrangeira. Após o uso dessas ferramentas, todo o conteúdo foi revisado e validado pela autora, que assume responsabilidade pelas informações apresentadas.

ANEXO A - QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO

DATA: __/__/__ QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO (PROPRIEDADE Nº ____)

PROPRIEDADE:
LOCALIZAÇÃO:
PROPRIETÁRIO:
TELEFONE:
EMAIL:
LOCALIZAÇÃO EM COORDENADAS:
LATITUDE: _____ LONGITUDE: _____
ÁREA TOTAL DA PROPRIEDADE:
NÚMERO TOTAL DE ANIMAIS NO REBANHO:
ORIGEM DOS ANIMAIS DO REBANHO: [] PROPRIEDADE [] PRÓPRIO MUNICÍPIO [] OUTROS MUNICÍPIOS
TIPO DE EXPLORAÇÃO PECUÁRIA: [] CORTE [] LEITE [] MISTA
TIPO DE MANEJO DOS ANIMAIS: [] SOLTOS A PASTO [] CONFINAMENTO [] MISTO
PRESENÇA DE RIO/LAGO/AÇUDE OU ÁREAS ALAGADIÇAS: [] NÃO [] SIM *SE EM ÁREAS ALAGADIÇAS, ESSAS POSSUEM DRENAGEM? [] NÃO [] SIM
ONDE OS ANIMAIS BEBEM ÁGUA? [] ABASTECIMENTO DE ÁGUA MUNICIPAL [] RIACHOS [] NASCENTES DA PROPRIEDADE [] RIO [] AÇUDE
UTILIZA ESTERCO COMO ADUBO DE PASTAGEM? [] SIM [] NÃO
FOI UTILIZADO ALGUM PARASITICIDA NOS ANIMAIS NOS ÚLTIMOS 6 MESES? [] SIM QUAL? _____ [] NÃO COM QUAL FREQUÊNCIA:
JÁ FEZ EXAME DE FEZES NOS ANIMAIS? [] NÃO [] SIM
QUAL O MANEJO DOS ANIMAIS NO INVERNO?
OS ANIMAIS APRESENTARAM ALGUNS DESTES SINAIS RECENTEMENTE? [] DIARRÉIA [] ANEMIA [] FEBRE [] PERDA DE PESO [] QUEDA NA PRODUÇÃO [] PAPEIRA (EDEMA SUBMANDIBULAR)
CONHECE A BARATINHA DO FÍGADO OU <i>FASCIOLA HEPATICA</i>? [] NÃO [] SIM
JÁ HOUVE OCORRÊNCIA DE FASCIIOSE NA PROPRIEDADE? [] NÃO [] SIM
QUAL FOI A ÚLTIMA VEZ QUE UM MÉDICO VETERINÁRIO COMPARECEU À PROPRIEDADE? [] NÃO [] SEMANALMENTE [] MENSALMENTE [] A CADA 2 MESES [] 3 OU MAIS MESES [] ANUAL

ANEXO B - PANFLETO EDUCATIVO PARA PREVENÇÃO DA FASCIIOLOSE BOVINA NO PLANALTO DE SANTA CATARINA

FASCIIOLOSE BOVINA NO PLANALTO SERRANO CATARINENSE

COMO REDUZIR A INCIDÊNCIA DE *Fasciola hepatica* NA SUA PROPRIEDADE

A fasciiose é uma doença causada pelo parasito *Fasciola hepatica*, que afeta o fígado dos bovinos, diminuindo o desempenho produtivo e causando prejuízos econômicos.

POR QUE A DOENÇA OCORRE NO PLANALTO?

Estudos realizados no Planalto de Santa Catarina mostraram que a presença desse parasito está ligada a uma combinação de fatores:



ACESSO A FONTES NATURAIS DE ÁGUA

Riachos, açudes, banhados e nascentes favorecem o ciclo do parasito.



MANEJO EXTENSIVO

Animais a pasto, com maior contato com áreas úmidas, têm mais risco de infecção.



MOVIMENTAÇÃO DE ANIMAIS

A compra ou entrada de animais pode introduzir o parasito em propriedades suscetíveis.



USO LIMITADO DE DROGAS FASCIOLICIDAS

O uso de vermífugos que não eliminam a *F. hepatica* mantém o parasito circulando na propriedade.



A FASCIIOLOSE É UMA AMEAÇA SILENCIOSA

- ✓ Muitos animais infectados não apresentam sintomas visíveis.
- ✓ Quando os sinais aparecem, podem ser confundidos com outras doenças (diarreia, perda de peso, queda na produção de leite, inchaço abaixo do queixo, anemia).
- ✓ As perdas econômicas acontecem aos poucos e podem passar despercebidas.
- ✓ O diagnóstico apenas por sinais clínicos ou exame de fezes ocasional pode não detectar todos os casos.

COMO REDUZIR A INCIDÊNCIA NA SUA PROPRIEDADE



1. MANEJE O AMBIENTE

- Restrinja o acesso dos animais a riachos, açudes, banhados e áreas alagadas.
- Utilize cercas para isolar áreas de risco.
- Drene ou evite o acúmulo de água em pastagens sempre que possível.
- Ofereça água de bebedouros ou fontes alternativas.



2. ADOTE MANEJO MAIS INTENSIVO QUANDO POSSÍVEL

- Rotacione pastagens e evite lotação excessiva.
- Mantenha pastos mais secos e bem manejados.
- Combine manejo intensivo ou semiextensivo em áreas de maior risco.



3. CONTROLE A MOVIMENTAÇÃO DE ANIMAIS

- Compre animais apenas de propriedades com histórico sanitário conhecido.
- Faça quarentena e exames antes de misturar novos animais ao rebanho.
- Evite entrada frequente de animais sem necessidade.



4. USE DROGAS FASCIOLICIDAS DE FORMA RACIONAL

- Utilize produtos eficazes contra *Fasciola hepatica* (ex.: triclabendazole, closantel, nitroxynil, albendazole)*.
- Siga sempre a dose correta e orientações do Médico Veterinário.
- Evite o uso exclusivo de ivermectina ou outros vermífugos que não eliminam a *F. hepatica*.
- Monitore a eficácia dos tratamentos.



5. REALIZE DIAGNÓSTICO E MONITORAMENTO

- Faça exames de fezes periodicamente, mesmo na ausência de sintomas.
- Em casos suspeitos, converse com o Médico Veterinário sobre exames complementares.
- O acompanhamento regular ajuda a detectar e tratar precocemente.



6. BUSQUE ASSISTÊNCIA TÉCNICA

- O acompanhamento de um Médico Veterinário é essencial para planejar o controle.
- Cada propriedade tem características próprias: estratégias devem ser ajustadas à sua realidade.

LEMBRE-SE:

- ✓ A fasciiose depende do ambiente, do manejo e das decisões do produtor.
- ✓ Pequenas mudanças podem reduzir muito o risco de infecção.
- ✓ O controle integrado é a forma mais eficiente e econômica.

*Sempre consulte o rótulo do produto e respeite o período de carência.



ATENÇÃO!

O controle da fasciiose protege seus animais, aumenta a produtividade e melhora os resultados da sua propriedade.



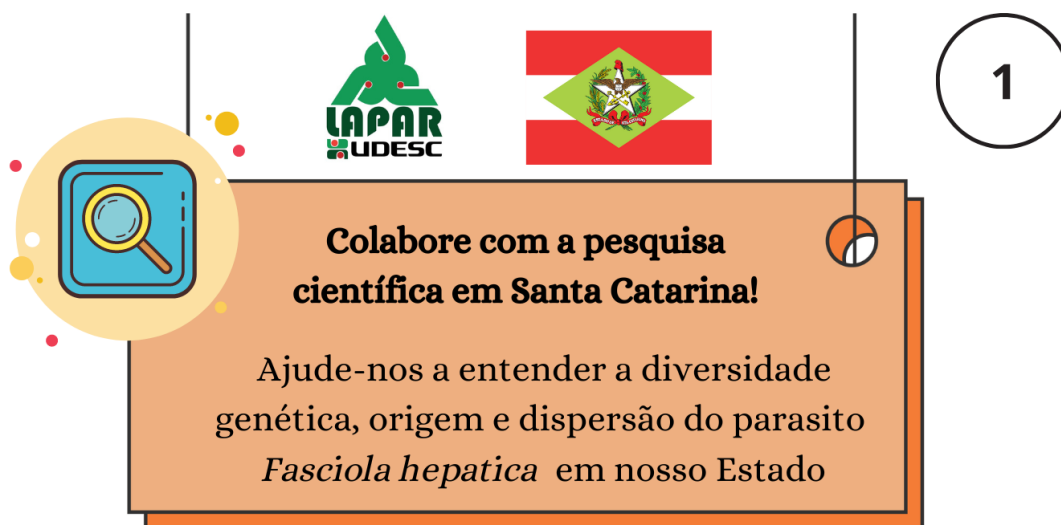
REBANHO SAUDÁVEL, BOLSO CHEIO.

Em caso de dúvidas, procure o Médico Veterinário de sua confiança ou o serviço de extensão rural do seu município.



Fonte: Elaborada pela autora com auxílio do ChatGPT (OpenAI, GPT-5.5), 2026.

ANEXO C - MATERIAL DE APOIO PARA DIVULGAÇÃO DO PROJETO EM FRIGORÍFICOS E PROCEDIMENTOS PARA A COLETA



Colabore com a pesquisa científica em Santa Catarina!

Ajude-nos a entender a diversidade genética, origem e dispersão do parasito *Fasciola hepatica* em nosso Estado

Quem somos?

Somos o grupo de pesquisa do Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias, do Centro de Ciências Agroveterinárias (LAPAR-CAV-UDESC), localizado em Lages-SC.

Como está sendo realizado este estudo?

Estamos coletando helmintos de diferentes locais, analisando suas identidades genéticas e comparando com isolados já registrados; um processo chamado de "análise filogenética".



Por que é importante?

Investigamos a origem e dispersão deste parasito em Santa Catarina. Entendendo estes fatores, poderemos propor medidas de controle mais eficazes. Também pretendemos identificar isolados resistentes a parasiticidas. Com isso, auxiliaremos pecuaristas a tratar seus animais da melhor maneira.



2

Como ajudar?

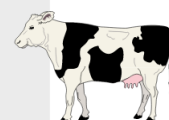
Coletando os parasitos, e isso pode ser feito de modo bem simples

PRÓXIMA PÁGINA



Quantas amostras devem ser coletadas?

É necessário pelo menos uma *F. hepatica* de um bovino abatido, mas podemos receber até cinco amostras de diferentes animais.



Após a coleta, quem devo informar?

Após a coleta, envie uma mensagem por WhatsApp ou e-mail para Doutoranda responsável pelo projeto, a MV MSc Larissa Américo, e agendamos um dia e horário para a retirada do material no frigorífico, ou envio.



(48) 99644-6520



larissa_americo22@yahoo.com.br

Sua ajuda é essencial para a evolução da pesquisa, em prol da saúde animal e humana.



OBRIGADA

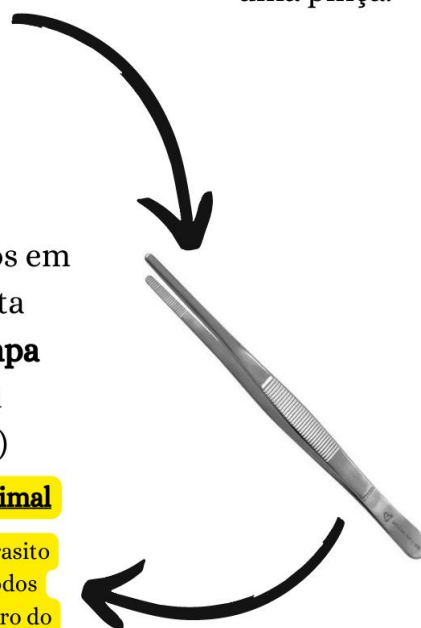




- 1** Identifique o fígado positivo para *F. hepatica*



- 2** Retire os parasitos dos ductos biliares com o auxílio de uma pinça.



- 3** Coloque os parasitos em um tubo de coleta sanguínea de **tampa vermelha** (sem anticoagulante)

Um tubo para cada animal

Se houver mais de um parasito em um mesmo animal todos podem ser colocados dentro do mesmo tubo.



- 4**  **Anote** no tubo o município de origem do animal que está descrito no GTA



- 5** Coloque a amostra no congelador



**ANEXO D - NÚMEROS DE ACESSO DAS SEQUÊNCIAS DE *FASCIOLA*
HEPATICA OBTIDAS NESTE ESTUDO E DEPOSITADAS NO GENBANK**

Sample <i>Fasciola hepatica</i>	COI SUB 16238624	NADH SUB 16238680	ITS1 SUB 16238878	ITS2 SUB 16238786
63(MS)	PZ501546	PZ508055	PZ501632	PZ507506
92(PR)	PZ501547	PZ508056	PZ501633	PZ507507
75(BP)	PZ501548	PZ508057	PZ501634	PZ507508
45(CA)	PZ501549	PZ508058	PZ501635	PZ507509
34(SL)	PZ501550	PZ508059	PZ501636	PZ507510
88(SC)	PZ501551	PZ508060	PZ501637	PZ507511
57(TI)	PZ501552	PZ508061	PZ501638	PZ507512
28(JS/AR)	PZ501553	PZ508062	PZ501639	PZ507513
8(PN)	PZ501554	PZ508063	PZ501640	PZ507514
101(AT/TC)	PZ501555	PZ508064	PZ501641	PZ507515
11(CA)	PZ501556	PZ508065	PZ501642	PZ507516
105(RC)	PZ501557	PZ508066	PZ501643	PZ507517
1(LG)	PZ501558	PZ508067	PZ501644	PZ507518
68(JS)	PZ501559	PZ508068	PZ501645	PZ507519
14(PM)	PZ501560	PZ508069	PZ501646	PZ507520
19(JS)	PZ501561	PZ508070	PZ501647	PZ507521
17(SS)	PZ501562	PZ508071	PZ501648	PZ507522
74(GP)	PZ501563	PZ508072	PZ501649	PZ507523
6(LG)	PZ501564	PZ508073	PZ501650	PZ507524
48(LG)	PZ501565	PZ508074	PZ501651	PZ507525
82(BG)	PZ501566	PZ508075	PZ501652	PZ507526
25(JS)	PZ501567	PZ508076	PZ501653	PZ507527
72(IL)	PZ501568	PZ508077	PZ501654	PZ507528
43(SJ)	PZ501569	PZ508078	PZ501655	PZ507529