

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

NATÃ MEDEIROS GODINHO

***Fasciola hepatica*: CONTRIBUIÇÃO PARA UM DIAGNÓSTICO EFICIENTE
EM BOVINOS NATURALMENTE INFECTADOS**

**LAGES
2021**

NATÃ MEDEIROS GODINHO

***Fasciola hepatica*: CONTRIBUIÇÃO PARA UM DIAGNÓSTICO EFICIENTE
EM BOVINOS NATURALMENTE INFECTADOS**

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

Orientador: Prof. Dr. Anderson
Barbosa de Moura

**LAGES
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UEDESC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Godinho, Natã Medeiros

Fasciola hepatica: CONTRIBUIÇÃO PARA UM
DIAGNÓSTICO EFICIENTE EM BOVINOS
NATURALMENTE INFECTADOS / Natã Medeiros
Godinho. 26 02 2021.

43 p.

Orientador: Dr. Anderson Barbosa de Moura
Dissertação (mestrado) -- Universidade do
Estado de

Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal, Lages, 2021.

1. Fasciola hepatica. 2. Bovinos. 3. Diagnóstico. 4.
Intensidade parasitária. I. Moura, Dr. Anderson
Barbosa de .

II. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro
de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-
Graduação em Ciência Animal. III. Título.

NATÃ MEDEIROS GODINHO

***Fasciola hepatica*: CONTRIBUIÇÃO PARA UM DIAGNÓSTICO EFICIENTE
EM BOVINOS NATURALMENTE INFECTADOS**

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

BANCA EXAMINADORA:

Dr. Anderson Barbosa de Moura
UDESC/Lages-SC (Orientador e Presidente)

Membros:

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

Dr. Andreas Lazaros Chryssafidis
UDESC/Lages-SC (Membro)

Lages, 26 de fevereiro de 2021

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com a parceria do Fundo de Apoio à Manutenção e ao Desenvolvimento da Educação Superior – FUMDES.

Agradecer primeiramente a Deus por ter me dado a direção e o benefício para concluir esse trabalho.

Aos meus pais, Valdir e Marizete, os maiores mestres da minha vida, que sempre acreditaram em mim e me ensinaram a ter fé.

A minha vó e avô, Maria e João, que sempre procuraram me auxiliar nos dias longe de casa.

Aos meus amigos Camila, Guilherme e a professora Márcia que sempre estiveram no laboratório me auxiliando e/ou me ensinando durante os processamentos das amostras.

A todas as pessoas que estiveram envolvidas durante o desenvolvimento e finalização do projeto (Rayssa, Stéfano e Valdirene).

A minha amiga Vitória que compartilhou vários momentos durante esse período e foi fundamental nos momentos mais difíceis.

Ao meu amigo Lucas, que sempre procurou olhar os problemas de forma diferente e tornar as coisas mais fáceis nesses dois anos.

Ao Murilo, que se dispôs a enfrentar mais esse compromisso e me auxiliou em cada etapa do trabalho.

Aos frigoríficos pela colaboração no processo de obtenção das amostras.

Ao professor Anderson que me deu a oportunidade e todo o auxílio necessário para a elaboração desse trabalho.

Ao Centro Universitário Barriga Verde (UNIBAVE) que disponibilizou gentilmente os laboratórios.

RESUMO

A fasciolose, causada pela *Fasciola hepatica*, é uma enfermidade com importância médica e veterinária, devido as perdas econômicas, que afetam diretamente a pecuária, e também por ser considerada uma zoonose. A doença afeta principalmente bovinos, ovinos e cabras, mas também pode ocorrer em outras espécies, entre elas os humanos, que se infectam ingerindo metacercárias dos parasitas presentes em vegetações e/ou alimentos. As técnicas coproparasitológicas usualmente empregadas na pesquisa de ovos, essenciais para a investigação da resistência aos anti-helmínticos, apresentam baixa sensibilidade ($\approx 30\%$). O objetivo desse trabalho foi avaliar a acurácia e a precisão de três técnicas de diagnóstico coproparasitológico para a detecção de ovos de *Fasciola hepatica*, em bovinos, em relação a intensidade parasitária. As amostras fecais ($n=282$) foram processadas pelas técnicas de Denis, Stone e Swanson (DSS), Quatro Tamises (QT) e Gordon e Witlock modificada (GWM) para a pesquisa de ovos do parasito. Os fígados, após a evisceração, foram utilizados para a pesquisa e quantificação dos parasitos adultos e/ou imaturos. Todas as amostras foram obtidas em dois frigoríficos com Sistema de Inspeção Estadual (SIE), nos municípios de Orleans e Pedras Grandes, SC. Os resultados foram tabulados e avaliada a acurácia pela análise da sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo/negativo e a concordância, de acordo com o índice Kappa, das técnicas empregadas. Dos 784 abates acompanhados, em 105 (13,39%) bovinos o parasitismo por adultos de *F. hepatica* foi observado. Das amostras de fígados condenadas, foram recuperados 1.423 parasitos adultos, com intensidade média de 13 exemplares por fígado (variando de 1 a 243/animal). A sensibilidade das técnicas de DSS, QT e GWM foi de 43,8%, 86,6% e 7,6%, respectivamente. De acordo com a escala de concordância de Kappa, as técnicas de QT e GWM apresentaram concordância fraca (0,20) entre si. Concordância regular foi verificada entre as técnicas de DSS e GWM (0,57) e entre DSS e QT (0,48). A intensidade parasitária não influenciou ($P>0,05$) na sensibilidade das técnicas DSS e QT.

Palavras-chave: *Fasciola hepatica*. Bovinos. Diagnóstico. Intensidade parasitária

ABSTRACT

Fasciolosis, caused by *Fasciola hepatica*, is a disease of medical and veterinary importance, due to economic losses, which directly affect livestock, and also because it is considered a zoonosis. The disease mainly affects cattle, sheep and goats, but it can also occur in other species, including humans, which become infected by ingesting parasites' metacercariae in vegetation and / or food. The coproparasitological techniques usually used in the research of eggs, essential for the investigation of resistance to anthelmintics, have low sensitivity ($\approx 30\%$). The objective of this work was to evaluate the accuracy and precision of three coproparasitological diagnostic techniques for the detection of *Fasciola hepatica* eggs, in cattle, in relation to parasitic intensity. Faecal samples ($n = 282$) were processed using the techniques of Denis, Stone and Swanson (DSS), Quatro Tamises (QT) and Gordon and modified Witlock (GWM) to search for parasite eggs. The livers, after evisceration, were used for research and quantification of adult and / or immature parasites. All samples were obtained in two refrigerators with a State Inspection System (SIE), in the municipalities of Orleans and Pedras Grandes, SC. The results were tabulated and the accuracy was assessed by analyzing the sensitivity, specificity, positive / negative predictive values and the agreement, according to the Kappa index, of the techniques employed. Of the 784 slaughterings followed, in 105 (13.39%) cattle, parasitism by adults of *F. hepatica* was observed. From the condemned liver samples, 1,423 adult parasites were recovered, with an average intensity of 13 specimens per liver (ranging from 1 to 243 / animal). The sensitivity of the DSS, QT and GWM techniques was 43.8%, 86.6% and 7.6%, respectively. According to the Kappa agreement scale, the QT and GWM techniques showed weak agreement (0.20) with each other. Regular agreement was found between the DSS and GWM techniques (0.57) and between DSS and QT (0.48). The parasitic intensity did not influence ($P > 0.05$) in the sensitivity of the DSS and QT techniques.

Keywords: *Fasciola hepatica*. Cattle. Diagnosis. Parasitic intensity

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Ciclo da <i>Fasciola hepatica</i>	17
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Associação entre raça, sexo e idade (anos) dos animais abatidos durante o estudo e a presença de ovos de *Fasciola hepatica* nas fezes. 26

Tabela 2: Prevalência de animais positivos para ovos de *F. hepatica* em amostras fecais de bovinos abatidos em Orleans, SC, de acordo com a técnica empregada. 2020. 27

Tabela 3: Sensibilidade dos exames coproparasitológico de bovinos naturalmente infectados com *Fasciola hepatica* obtidos através das técnicas de Dennis, Stone e Swanson, Quatro tamises e Gordon e Witlock modificada. ... 28

Tabela 4: Coeficiente Kappa para resultados da aplicação de três técnicas coproparasitológicas para o diagnóstico de *F. hepatica*..... 28

Tabela 5: Correlação entre número de parasitos adultos recuperados e resultados dos exames coproparasitológicos para pesquisa de ovos de *Fasciola hepatica* em bovinos naturalmente parasitados. 29

LISTA DE SIGLAS

a.C. – antes de Cristo

CAV – Centro de Ciências Agroveterinárias

cm – centímetros

DSS – Denis, Stone e Swanson

GWM – Gordon e Whitlock modificada

NaCl – Cloreto de Sódio

OIE – Organização Mundial da Saúde Animal

OPG – Ovos por grama de fezes

PPP – Período Pré Patente

QT – Quatro tamises

SIE – Sistema de Inspeção Federal

UDESC – Universidade do Estado de Santa Catarina

UNIBAVE – Centro Universitário Barriga Verde

VPN – Valor Preditivo Negativo

VPP – Valor Preditivo Positivo

ZnSO₄ – Sulfato de Zinco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1	TAXONOMIA.....	13
2.2	HISTÓRICO	13
2.3	CICLO	15
2.4	EPIDEMIOLOGIA.....	17
2.5	FISIOPATOLOGIA E SINAIS CLÍNICOS	19
2.6	DIAGNÓSTICO	21
3	OBJETIVOS	23
3.1	OBJETIVO GERAL	23
3.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	23
4	MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1	AMOSTRAS E LOCAL DE ESTUDO	24
4.2	TESTES DIAGNÓSTICOS	24
4.2.1	Técnica de Denis, Stone e Swanson (1954).....	24
4.2.2	Técnica dos Quatro Tamises de Girão e Ueno (1985)	24
4.2.3	Gordon e Witlock (1939) (OPG) modificada	25
4.3	COLETA DE PARASITOS ADULTOS.....	25
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	25
5	RESULTADOS	26
6	DISCUSSÃO	29
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	31
8	REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

A fasciolose é uma doença causada por duas espécies do gênero *Fasciola*, *F. hepatica* e *F. gigantica* (SOULSBY, 1987; BARROS, 2002). A *F. hepatica* pode ser encontrada na Europa, Américas, Oceania e em algumas zonas temperadas da África e Ásia. Já a *F. gigantica* é restrita a áreas tropicais da África, Oriente Médio e Ásia (ASHRAFI et al., 2014).

Esses parasitos possuem o corpo achatado dorsalmente, com dimensões que variam em 3-4 cm de comprimento e 1-2 cm de largura, tegumento revestido por espinhos voltados para trás e a região anterior é mais larga em relação à posterior, tendo a aparência de uma folha (FORTES, 2004; OLIVEIRA; FILHA, 2009).

Dos helmintos com importância médica e veterinária, a *F. hepatica* é responsável por perdas econômicas, que afetam diretamente a pecuária, tais como queda na produtividade e produção de leite, baixa fertilidade, condenação de fígados e gastos no controle das parasitoses (QUEIROZ et al., 2002). Além disso, essa doença está disseminada em grandes proporções nas diversas regiões do Brasil (ECHEVARRIA et al., 2004; MENDES, 2006).

A prevalência da fasciolose está relacionada com as condições ambientais que possam favorecer o desenvolvimento do agente etiológico e do hospedeiro intermediário, os moluscos gastrópodes da família Lymnaeidae (JIMÉNEZ-ROCHA et al., 2017).

A infecção e o desenvolvimento da doença estão ligados a fatores como: condições climáticas, solo, vegetação, sistema de exploração, idade e o tipo de pastagem. Raramente a fasciolose aguda provoca mortes em bovinos, sendo mais comum em ovinos. Os bovinos desenvolvem uma gradual resistência às infecções, desenvolvendo a forma crônica da doença, a mais comum e mais importante nessa espécie (ANTUNES, 2005)

O diagnóstico mais comum para *F. hepatica* são os exames coproparasitológicos de sedimentação e de quatro tamises, para a detecção de ovos do parasito. No entanto, a observação dessas estruturas está limitada a fase crônica da fasciolose (FOREYT, 2005), uma vez que a forma aguda é caracterizada pela migração dos parasitas imaturos no parênquima hepático e, nessa fase, não ocorre a liberação de ovos (APT et al., 1995).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 TAXONOMIA

A sua classificação conforme Solsby (1987) é a seguinte:

Reino: Animalia

Filo: Platyhelminthes

Subfilo: Cercomeria

Classe: Trematoda RUDOLPHI, 1808

Subclasse: Digenea VAN BENEDEN, 1858

Ordem: Fascioliformes

Família: Fasciolidae RAILLIET, 1895

Subfamília: Fasciolinae HASSAL, 1898

Gênero e Espécie: *Fasciola hepatica* LINNAEUS, 1758

2.2 HISTÓRICO

O primeiro registro de *F. hepatica* é datado do século IX, citando a ocorrência de uma “doença do fígado” em ovinos, descrita no Tratado de Saúde Animal do Mundo Árabe no ano de 865 (REZENDE, 1979).

No ano de 1379 ocorre o registro de outra referência à *F. hepatica*. Em uma exploração numa propriedade na França, descreve-se uma doença em ovelhas na qual o fígado apodrece pelo consumo de plantas radiculares e que a consequência era o aparecimento de grandes vermes planos (CORDERO, 1990).

No século XVII, Francisco Redi, médico e pesquisador, descreveu a primeira ilustração na forma adulta, após a descoberta do parasito no fígado de um bovino, a qual foi publicada em 1668 (HATSCHBACH, 1995).

A primeira descrição do agente etiológico da *Fasciola hepatica* foi realizada por Linnaeus em 1758. Em 1831 ocorreu a próxima contribuição significativa, por Mehlis, que observou a saída do miracídeo através do opérculo dos ovos dos trematódeos (CORDERO; ROJO-VÁZQUEZ, 1999).

Weiland, em 1795, relaciona a *F. hepatica* com os estágios larvais encontrados no *Galba truncatula*, supondo também que as ovelhas se infectariam por meio da ingestão das metacercárias encistadas nas ervas (CORDERO; ROJO-VÁZQUEZ, 1999).

Foi o primeiro trematódeo a ter seu ciclo de vida descrito em 1882 na Alemanha (LEUCKART, 1882) e no qual foi relatada a participação de *Lymnaea truncatula* como seu hospedeiro intermediário. Desde então, a família Fasciolidae (RAILLIET, 1895) incorpora os parasitas que habitam os canais biliares de herbívoros domésticos e selvagens em diferentes partes do mundo (ROJO-VAZQUEZ et al., 2012).

Porém, a descoberta da fonte de infecção só ocorreu em 1914, a qual foi descrita que a doença ocorria após a ingestão de metacercárias e da migração do parasito até o fígado (GROVE, 1990; HATSCHBACH, 1995)

No século XIX, ovos de *F. hepatica* foram encontrados em coprólitos humanos e de animais em sítios arqueológicos datados em até 2.500 a.C. (DITTMAR; TEEGEN, 2003).

O primeiro caso de fasciolose no Brasil foi no Rio de Janeiro, sendo um bovino infectado cuja procedência não é relatada, mas acredita-se que o mesmo tenha sido criado no Rio Grande do Sul (LUTZ, 1921).

A partir do primeiro relato, diversas outras observações foram feitas, baseadas principalmente em dados sobre a ocorrência e/ou prevalência da fasciolose em bovinos em frigoríficos. No Brasil o sul do país é considerado a maior área enzoótica, ainda com uma extensão de grande importância na região centro sul, seguida da região Sudeste, o Vale do Paraíba (HONER, 1979).

Buscando avaliar a importância econômica da fasciolose, Ueno et al. (1982) registraram índices médios anuais de 13% para fígados bovinos, mencionando várias outras áreas endêmicas na região sul. Além disso, esses autores observaram a presença de *L. viatrix* e *P. columella*, distribuídas pelas regiões do Rio Grande do Sul, atuando como hospedeiros intermediários da *F. hepatica*.

Entre os anos de 1958 a 1963, o percentual de condenações de fígados aumentou gradativamente, de 8% para 11,5%, chegando em até 14,7% no ano de 1984. Nesse período cerca de 142.980 fígados bovinos foram condenados

por *F. hepatica*, resultando em enorme prejuízo para a indústria gaúcha (ECHEVARRIA, 1985).

Cunha et al. (2007), registraram uma prevalência de 8,87% de fígados condenados por fasciolose no estado do Rio Grande do Sul. Os autores afirmam que as características geográficas da região contribuem para a manutenção do hospedeiro intermediário.

Por meio da pesquisa de ovos em fezes bovinas, Back (1993) encontrou uma prevalência de 25% em uma população de 4.935.263 bovinos dos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais, sendo o Rio Grande do Sul o estado com maior taxa de ocorrência, seguido por Santa Catarina, São Paulo e Rio de Janeiro.

No Sudeste, Pile et al. (2001) observaram ovos de *F. hepatica*, por meio de exame de fezes (quatro tamises), em búfalos jovens e adultos. Esse trabalho relata o primeiro caso fasciolose bubalina no estado do Rio de Janeiro.

2.3 CICLO

A fasciolose ocorre principalmente em bovinos, ovinos, búfalos, cabras, suínos (RAMOS et al., 1993), equinos, cães e gatos (SOLSBY, 1987). Também já foram identificados casos em javalis (SARKARI et al., 2018) e capivaras (DRACZ et al., 2016). Além disso essa doença é considerada zoonose, sendo o ser humano o hospedeiro acidental, demonstrando um quadro clínico grave quando parasitado (Figura 1) (QUEIROZ et al., 2002).

Os parasitas adultos se localizam nos ductos biliares do hospedeiro definitivo. Nesse local os ovos são liberados, acumulam-se na vesícula biliar e por meio do ducto colédoco alcançam o intestino, se misturando com as fezes até chegarem ao meio externo. O desenvolvimento só ocorre quando estão livres na água, uma vez que as condições anaeróbicas da massa fecal inibem a sua evolução (OLIVEIRA; FILHA, 2009; DUTRA et al., 2010; CHARLIER et al., 2011).

Após 12-14 dias, na água com temperatura e condições favoráveis, o miracídeo levanta o opérculo do ovo e, graças a seu tegumento ciliado, desliza para fora, nadando ativamente e sendo atraído por substâncias químicas produzidas pelos hospedeiros intermediários, moluscos gastrópodes do gênero *Lymnaea* (KAPLAN, 2001; GUIMARÃES, 2011).

No molusco, os miracídios penetram pelas partes moles, perdem seu revestimento e em duas semanas se transformam em esporocistos (Figura 1, fase 4a). Esses esporocistos são ricos em células germinativas, que, produzirão em média 8 a 40 rédias em 2-4 semanas (Figura 1, fase 4b). Em sete semanas cada rédia dará origem a aproximadamente 20 cercárias (Figura 1, fase 4c), que deixarão os moluscos gastrópodes, e nadarão ativamente até encontrarem um substrato para se fixarem, normalmente capins ou plantas aquáticas (Figura 1, fase 5) (SOULSBY, 1987; FORTES, 2004).

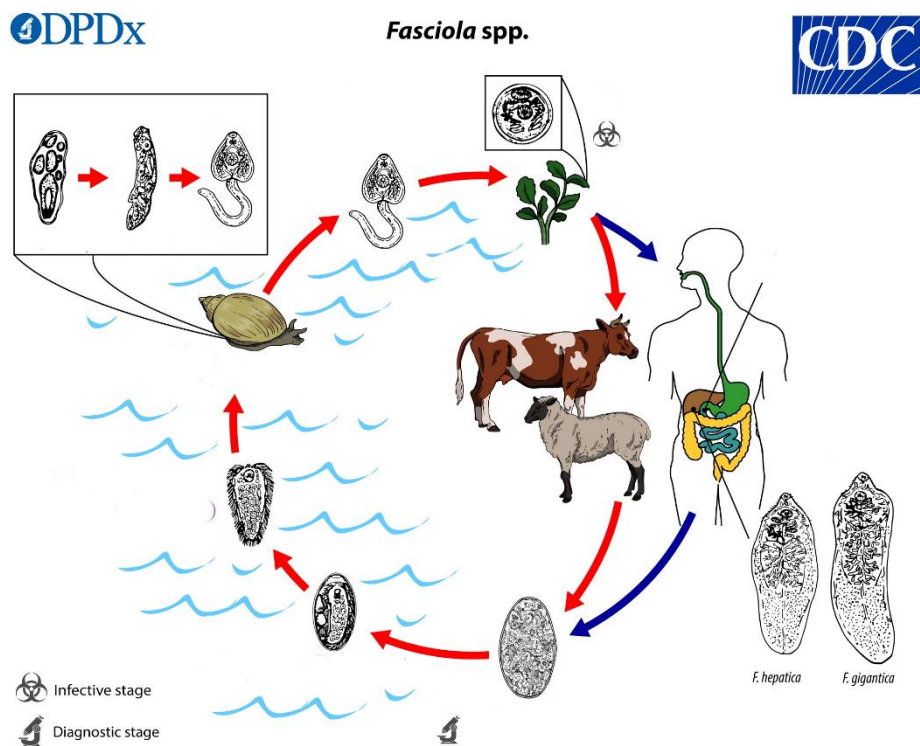
Quando fixada na vegetação, a cercária perde a cauda e libera o conteúdo das glândulas cistogênicas, produzindo uma camada cística que envolve e protege o parasito, assim formando a metacercária, que pode permanecer infectante por até um ano (Figura 1, fase 6) (GUIMARÃES, 2011).

A infecção dos hospedeiros definitivos ocorre quando ingerem pasto contaminado com metacercárias que, no intestino delgado, irão sofrer ação de enzimas biliares até a liberação das formas imaturas, que migrarão para o parênquima hepático a fim de se alimentar da sua mucosa. Após quatro ou cinco dias, a grande maioria das fascíolas atravessam a cápsula de Glisson, migram pelo parênquima e atingem os canais biliares, se fixando e tornando-se adultas (KAPLAN, 2001; FORTES, 2004; QUEIROZ et. al., 2002).

A infecção humana ocorre principalmente devido a ingestão de verduras aquáticas crus e/ou malcozidos e que estejam contaminados com as metacercárias, além de que na região deve-se ter a presença de hospedeiros definitivos contaminados com a *F. hepatica* (WHO, 2007; OLIVEIRA; FILHA, 2009). A fasciolose humana é caracterizada por dores abdominais, urticária, cefaleia e eosinofilia, estando a função hepática habitualmente normal (IGREJA; BARRETO; CORAL et al., 2007).

A doença não está inscrita na lista de doenças com notificação obrigatória pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) em 2021 (OIE, 2021), no entanto, em casos humanos, a mesma deve ser rapidamente notificada para os sistemas de vigilância de cada cidade (WHO, 2011). Estima-se que existam entre 2,4 a 17 milhões de pessoas sob condições de risco para fasciolose em diversos países (ALVES; MARTINS, 2013; BRAVO, 2007).

Figura 1: Ciclo da *Fasciola hepatica*



Fonte: Adaptado de CDC (2019).

2.4 EPIDEMIOLOGIA

No passado a infecção era endêmica em áreas geográficas específicas, no entanto está disseminada por todo o mundo (SERRA-FREIRE, 1999; WHO, 2007). Para que a doença se estabeleça, são necessárias condições ambientais favoráveis para o desenvolvimento parasitário (CHIEFFI; AMATO-NETO, 2003). A ocorrência da fasciolose está ligada a fatores como manejo, clima, topografia, e principalmente a presença de hospedeiros invertebrados, os quais são necessários para o desenvolvimento do ciclo parasitário (FOX et al., 2011; BENNEMA et al., 2014).

Na Europa a fasciolose tem uma distribuição espacial desigual e com grandes variações regionais de prevalência. Algumas pesquisas mostram a prevalência em nível de rebanho, que varia entre 7% na Suécia, 97% em fazendas de terras suíças (CHARLIER et al., 2014) e 4% no sul da Itália (RINALDI et al., 2015). No Nordeste da Espanha Roldán et al. (2020) identificaram prevalência de 6,1% nos rebanhos leiteiros.

A doença tem sido alvo de pesquisa em outros países europeus, como Irlanda do Norte (BYRNE et al., 2016), Turquia (BOSTANCI; OGUZ, 2017), Dinamarca (TAKEUCHI-STORM et al., 2017), Bélgica, Alemanha, Irlanda e Polônia (DUCHEYNE et al., 2015), Portugal (SANCHIS et al., 2015) e França (VIGNOLES; RONDELAUD; DREYFUSS, 2017).

Na Ásia e África, a doença já foi pesquisada em rebanhos na Costa do Marfim (KOUADIO et al., 2020), Nigéria (ELELU; EISLER, 2017), Argélia (CHOUGAR et al., 2020), África do Sul (CHIKOWORE; ZISHIRI; MUKARATIRWA, 2019; MALATJI; PFUKENYI; MUKARATIRWA, 2019), Egito (ABO-AZIZA et al., 2019), Paquistão (AYAZ et al., 2014), Tailândia (CHAICHANASAK et al., 2012), Japão (OHARI et al., 2020), China (ZHANG et al., 2019; AI et al., 2019) e Camboja (LOEURNG et al., 2019).

Nas Américas são relatados casos de fasciolose no Uruguai (SANCHIS et al., 2015), Bolívia (CORREA et al., 2016), Chile, Peru, Estados Unidos, (DUTRA et al., 2010) entre outros.

No Peru, a doença tem caráter endêmico, com acentuada sazonalidade e que se distribui principalmente nos vales interandinos, com uma prevalência de 79,7% e em Cajamarca (84,7%) (SENASA, 2019) e de acordo com Árias-Pacheco (2020), a perda direta pela redução do ganho de peso é de aproximadamente US\$ 354.570 em todo o território nacional.

No Brasil, a distribuição de *F. hepatica* é extensa na região sul, e sua presença atinge até a fronteira sul da região amazônica (BENNEMA et al., 2017; PRITSCH; MOLENTO, 2018).

No país já foram identificados casos de bovinos, caprinos e bubalinos parasitados por *F. hepatica* nas regiões Sudeste (SOUZA et al., 2017; ALBUQUERQUE, 2018), Centro Oeste (AQUINO, 2017; BENNEMA et al., 2014), Nordeste (SANTOS, 1967 apud PILE et al., 2001) e Norte (BENNEMA et al., 2014).

O Sul representa a região endêmica mais importante do Brasil com diversos casos da doença (ECHEVARRIA, 2004; BENNEMA et al., 2014; MARQUES; SCROFERNEKER, 2003). O Rio Grande do Sul é o estado com a maior prevalência média, chegando em 14,3% de infecção nos rebanhos (DUTRA et al., 2010). De acordo com Molento (2018) a maior perda econômica é no RS com

um total de até US\$ 147,4 milhões / ano. Santa Catarina tem perdas estimadas em US\$ 24,6 milhões / ano.

No estado de Santa Catarina, Mendes e Pilati (2007) avaliaram macro e microscopicamente fígados condenados em uma linha de inspeção, totalizando 18,5% e 16,1%, respectivamente, para condenação como causa principal, a fasciolose. Bennema et al. (2014) avaliaram 205 municípios no estado e a prevalência foi de 4,5%. No extremo sul catarinense, em análises de fezes em rebanhos bovinos, foi constatada prevalência de 49,1% (BOTELHO et al., 2002).

Os casos de fasciolose em humanos vêm sendo cada vez mais relatados na Europa, Américas e Oceania (*F. hepatica* é o mais comum) e na África, Ásia (as duas espécies se sobrepõem) (WHO, 2007).

Embora seja uma importante zoonose, estudos a respeito da fasciolose humana são negligenciados em vários países, incluindo o Brasil (ROBINSON; DALTON, 2009). Casos de fasciolose em humanos já foram registrados nos estados de Rio de Janeiro (PILE et al., 2000; IGREJA; BARRETO), Amazonas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005) e no Rio Grande do Sul (CORAL et al., 2007).

Um dos casos mais recentes de fasciolose em seres humanos no estado de Santa Catarina ocorreu em Balneário Piçarras. Uma mulher de 57 anos, com relatos de dores abdominais há quatro meses, foi submetida a exames de imagens que revelaram a presença de um cisto no parênquima hepático e o teste de ELISA revelou anticorpos contra *F. hepatica*, confirmando o diagnóstico (PRITSCH et al., 2019).

2.5 FISIOPATOLOGIA E SINAIS CLÍNICOS

A infecção de bovinos depende de fatores como condições climáticas, solo, vegetação, sistema de exploração, raça, idade do animal e o tipo de pastagem. Nas criações extensivas, animais são forçados ao pastejo sem seletividade, muitas vezes próximo de ambientes que favorecem o desenvolvimento do ciclo parasitário, aumentando o risco de contaminação (BIANCHIN, 2000).

As ações da *F. hepatica* incluem a ingestão e destruição de tecidos e sangue, já que durante a fase imatura se comportam como histiófagos e na fase adulta, como hematófagos. Devido ao seu tegumento espinhoso (SOLSBY, 1987; FORTES, 2004) produzem irritação das superfícies epiteliais com as quais entra em contato, além de provocar obstrução do fluxo biliar e facilitar a

multiplicação e patogenia de outros agentes (CORDERO; ROJO-VÁZQUEZ, 1999).

Quando os adultos atingem os ductos biliares, já ocorreu uma extensa proliferação do epitélio dos ductos e fibrose de sua parede. Além disso, esses parasitos dentro dos canalículos aceleram o desenvolvimento de colangite. A hemorragia agrava a anemia e a ação dos parasitas adultos causa destruição e necrose epitelial. A inflamação pericanalicular se espalha pelo parênquima hepático (QUIROZ, 2005).

A fasciolose pode ser classificada em aguda, subaguda ou crônica. A forma aguda raramente é observada em bovinos, geralmente acomete ovinos e, no Brasil, ocorre durante o outono e início do inverno (URQUHART, 1996; RADOSTISTS, 2000).

Difícilmente ocorrem mortes entre bovinos com fasciolose aguda, pois esses criam resistência gradual às novas infecções, além de que a resposta imune adquirida se desenvolve devido a repetidas exposições ao agente, ocorrendo diminuição do número de ovos produzidos pelos parasitas (OLIVEIRA; FILHA, 2009).

Nas infecções agudas, a perda diária de sangue por animal é em torno de 0,2 a 0,5 mL de sangue por parasita (KHAN et al., 2011). Isso se deve à grande invasão de parasitas jovens migrantes e a posterior agregação de células inflamatórias no tecido cicatricial, o que causa destruição do parênquima, insuficiência hepática e sangramento para a cavidade peritoneal, levando à hepatite hemorrágica. A atividade metabólica de hepatócitos quando expostos às proteínas da *F. hepatica* revelam que a viabilidade e a longevidade celular são diminuídas (TRIVILIN et al., 2014; TAIBI et al., 2019).

Na forma subaguda, as metacercárias são ingeridas por um tempo mais prolongado, e enquanto algumas já atingiram os ductos biliares, causando a colangite, outras ainda estão migrando e provocando lesões menos graves (URQUHART et al., 1996).

A forma crônica é a mais comum da doença (CHARLIER et al., 2007; FOREYT, 2005). As perdas de produção nessa fase são grandes e devem-se a condenação de grande número de fígados e carcaças dos animais em abatedouros, bem como na queda da produção e qualidade láctea, perda de

peso dos animais, baixa fertilidade e atraso no crescimento (AYAZ, 2014; QUEIROZ et al., 2002).

De acordo com Brown et al. (2007) a peritonite é decorrente da migração das formas imaturas do parasita para a cavidade abdominal. Essa inflamação pode envolver o peritônio parietal e o peritônio visceral, particularmente no fígado, baço e omento.

2.6 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico clínico se baseia nos sinais, na sazonalidade da doença, tipos de clima prevalentes e no histórico clínico. Além disso, é importante observar se no ambiente ocorre a presença dos hospedeiros intermediários e apresenta condições necessárias para o desenvolvimento das formas imaturas do parasita (URQUHART et al, 1996).

Nos ambientes onde coexistem animais e caramujos, é provável que haja fasciolose, tornando o hospedeiro intermediário como um importante fator para a suspeita (JACQUIET, 2008). Dessa forma, o reconhecimento do habitat dos caracóis, associado aos exames laboratoriais vão confirmar a presença dessa doença, que pode permanecer clinicamente silenciosa, mas economicamente ocasiona perdas significativas (SCHWEIZER et al, 2005).

O diagnóstico epidemiológico aborda os aspectos ambientais, assim, é importante observar se no ambiente ocorre a presença dos hospedeiros intermediários e apresenta condições necessárias para o desenvolvimento das formas imaturas do parasita (URQUHART et al, 1996). Nos ambientes onde coexistem animais e caracóis, é provável que haja fasciolose, tornando o hospedeiro intermediário como um importante fator para a suspeita (JACQUIET, 2008). Dessa forma, o reconhecimento do habitat dos caracóis, associado aos exames laboratoriais vão confirmar a presença dessa doença, que pode permanecer clinicamente silenciosa, mas economicamente ocasiona perdas significativas (SCHWEIZER et al, 2005).

O diagnóstico laboratorial está baseado na detecção direta do agente nos tecidos hepáticos e na detecção dos ovos nas fezes ou de forma indireta pelos métodos sorológicos.

Para o diagnóstico laboratorial direto existem várias técnicas coproparasitológicas para a detecção de ovos de *F. hepatica*, todavia, essas

apresentam baixa sensibilidade, dificultando o diagnóstico da doença. Além disso, a presença de poucos parasitas adultos no fígado diminui as chances de detecção de ovos nas fezes (BERNARDO et al., 2007).

Essas técnicas estão baseadas na identificação de ovos operculados, característicos do parasita, além da determinação quantitativa da infecção, especialmente nos casos crônicos e subagudos (QUIROZ, 2005). A maioria dos estudos indicam a técnica de quatro tamises (GIRÃO e UENO, 1985) como sendo a de eleição para o diagnóstico da fasciolose (PILE et al, 2000; GOMES et al., 2002; KLEIMAN et al., 2005).

A sedimentação espontânea proposta por Denis, Stone e Swanson (1954), quando com 10 gramas, possui uma sensibilidade de até 70% em apenas uma avaliação, no entanto, em observação seriada de três eventos a sensibilidade é aumentada para 93% (bovinos) e 90% (ovinos) (QUIROZ, 2005).

O diagnóstico é feito por meio da contagem dos ovos em testes de sedimentação (ANDERSON et al., 1999; RAPSCH et al., 2006) e por achados de helmintos adultos e lesões no fígado durante a inspeção em abatedouros (ELELU; EISLER, 2017).

Embora seja classificada como o momento o período mais ideal para a pesquisa de ovos nas fezes, na fase crônica da doença ocorre diminuição da contagem de ovos dos parasitas nas fezes devido à imunidade adquirida (OLIVEIRA; FILHA, 2009).

Na fase aguda da doença não é observada a presença de ovos nas fezes, porém as lesões patológicas características da infecção já são visíveis. Nessa etapa o diagnóstico é “post mortem”, sendo possível a visualização dos parasitas adultos no ambiente hepático (forma aguda) e nos ductos biliares (forma crônica) (MENDES; LIMA, 2006).

As técnicas coproparasitológicas só detectam ovos nas fezes a partir da 10^a – 11^a semana após a infecção e geralmente têm uma baixa sensibilidade (30%), o que pode dar origem a resultados falsos negativos (REICHEL, 2002). Estudos vêm demonstrando relação entre a sensibilidade dos métodos de detecção de ovos com o volume de fezes analisadas (CHARLIER et al., 2008). Em repetidos testes com $\geq 30g$ de fezes a sensibilidade aumentam em até 90%, uma vez que análises com apenas 10g de fezes demonstram sensibilidade de 69% para animais verdadeiramente infectados identificados em necropsias

(ANDERSON et al., 1999; RAPSCH et al., 2006). Entretanto a análise de uma quantidade de fezes de tal ordem é inviável pelas dificuldades inerentes, principalmente tempo e acuidade visual do examinador.

Embora a presença do parasito seja confirmada por meio da presença de ovos nas fezes, técnicas inovadoras de detecção de antígenos vêm sendo utilizadas para diagnosticar a parasitose, principalmente em seu estágio inicial. Porém, essas técnicas não devem substituir o diagnóstico por exame direto (KLEIMAN et al., 2005). Testes sorológicos também são aplicados para a detecção de anticorpos contra os antígenos do trematódeo, como teste de ELISA (URQUHART et al., 1996).

É importante salientar que cada forma de diagnóstico possui pontos positivos e negativos. As técnicas coproparasitológicas são incapazes de detectar infecções recentes, uma vez que os ovos dos parasitas não aparecem nas fezes antes do 70 dia pós infecção. Já uma vantagem do ELISA é a capacidade de detectar anticorpos IgG anti-*Fasciola hepatica* a partir da segunda semana pós-infecção (IBARRA et al., 1998; REICHEL, 2002).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a acurácia (sensibilidade, especificidade e valores preditivos) e concordância de três técnicas de diagnóstico coproparasitológico para a detecção de ovos de *Fasciola hepatica*, em bovinos, em relação a intensidade parasitária verificada em fígados na inspeção post mortem.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Identificar estruturas parasitárias nas amostras fecais e parasitos adultos em ductos e vesícula biliar..
- Determinar a sensibilidade, a especificidade e a concordância das técnicas empregadas para o diagnóstico de infecção por *F. hepatica*, em relação à intensidade parasitária.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAS E LOCAL DE ESTUDO

As amostras fecais foram colhidas da ampola retal dos animais (n=282), logo após a insensibilização, em dois frigoríficos com Sistema de Inspeção Estadual (SIE), nos municípios de Orleans e Pedras Grandes, no estado de SC, os quais recebem bovinos de áreas endêmicas para fasciolose bovina. Os frigoríficos selecionados para o estudo abatem aproximadamente 50 animais ao dia (\approx 1.000 animais/mês). As coletas foram realizadas entre 08/2019 e 02/2021.

Dos mesmos animais, os fígados parasitados por *F. hepatica*, diagnosticados na linha da inspeção, foram recolhidos para a determinação da intensidade parasitária (adultos).

As fezes e os fígados, devidamente identificados foram armazenadas (10°C), e posteriormente encaminhadas ao Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV-UDESC) e para o laboratório de Saúde, setor de parasitologia, do Centro Universitário Barriga Verde (UNIBAVE).

4.2. TESTES DIAGNÓSTICOS

4.2.1. Técnica de Dennis, Stone e Swanson (1954)

Para a técnica de sedimentação de Denis, Stone e Swanson (DSS), dois gramas de fezes foram diluídos em 30 mL de água e homogeneizados. Essa mistura foi tamisada para um cálice de sedimentação. Após 10 minutos de decantação, o sobrenadante foi desprezado.

Este procedimento foi repetido por, no mínimo, três vezes (três lavagens), ou até que o material estivesse límpido. Na sequência, o sedimento foi analisado entre lâmina e lamínula, ao microscópio óptico (100X). Foram analisadas três lâminas por amostra.

4.2.2. Técnica dos Quatro Tamises de Girão e Ueno (1985)

A técnica consiste em pesar um grama de fezes, colocar em um frasco com capacidade para 100mL e diluir com 30mL de água adicionadas de cinco gotas de detergente (Tween 20).

O conteúdo é homogeneizado por 1 ou 2 minutos e então passado pelo conjunto dos QT. Esses devem ser lavados em água corrente até que se recolha o material do último tamis (250 malhas/polegadas) em uma placa de petri (GIRÃO; UENO, 1985).

O material obtido foi analisado em estereomicroscópio para identificação e contagem dos ovos. Para adequada identificação, caso necessário, os ovos observados na placa de petri foram colhidos e analisados ao microscópio óptico (100X). O número de ovos por grama de fezes foi calculado pela soma do total de ovos observados em cada amostra.

4.2.3. Gordon e Whitlock (1939) (OPG) modificada

Para a técnica de Gordon e Witlock (1939) (OPG) modificada (GWM), quatro gramas de fezes foram homogeneizados em 56 mL de solução a 33% de sulfato de zinco (ZnSO₄). [O ZnSO₄ foi escolhido, pois proporciona uma solução de maior densidade (o que facilita a flutuação de ovos de alta densidade, como os de *F. hepatica*) do que as soluções de NaCl e/ou de açúcar, normalmente utilizadas em técnicas de OPG].

Em seguida as fezes diluídas foram tamisadas, para remoção de material particulado, e com esse material foi preenchida a câmara de MacMaster. O OPG foi calculado multiplicando-se por 50 o número total dos ovos contados na câmara, em ambos os lados.

4.2 COLETA DE PARASITOS ADULTOS

Os parasitos adultos recolhidos nos fígados e/ou ductos biliares foram contabilizados, de cada um dos animais, para correlacionar com o OPG obtido em cada uma das diferentes técnicas. A identificação dos parasitos obtidos dos fígados foi realizada de acordo com Soulsby (1987).

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram tabulados e a acuidade, isso é, a sensibilidade, a especificidade e os valores preditivo negativo e positivo, foram determinadas utilizando a presença de vermes adultos como padrão. Além disso, a precisão das técnicas, isso é, a concordância também foi calculada utilizando-se a escala de concordância do índice Kappa proposto por Kraemer e Bloch (1988).

Os testes exato de Fischer e do qui quadrado foram empregados para verificar se existe correlação ($P \leq 0,05$) entre o número de vermes adultos recuperados do fígado (intensidade parasitária) e a positividade (para as técnicas DSS e QT) assim como a quantidade de ovos por grama de fezes obtido por essas técnicas. Esses testes não foram aplicados para a técnica de GWM (devido ao baixo número de animais positivos nesta técnica).

5 RESULTADOS

Os animais, dos quais foram obtidas amostras (de fezes e fígado) eram provenientes dos municípios de Nova Veneza, Siderópolis, Forquilha, Treviso, Orleans e Bom Jardim da Serra, SC. Destes, 121 eram fêmeas (42,9%) e 161 machos (57,1%). Foram abatidos animais das raças Nelore, Red Angus, Brahman, Jersey e raças mistas (Tabela 1).

Tabela 1: Raça, sexo e idade (anos) dos animais abatidos durante o estudo e a presença de ovos de *Fasciola hepatica* nas fezes.

Categorias	Pesquisa ovos <i>Fasciola hepatica</i>		
	Positivo	Negativo	Total
Raça			
Nelore	18 (29%)	44 (71%)	62
Mista	49 (36,2)	86 (63,7%)	135
Red Angus	19 (48,7%)	20 (51,3%)	39
Brahman	11 (42,3%)	15 (57,6%)	26
Jersey	9 (45%)	11 (55%)	20
Sexo			
Machos	68 (42,2%)	93 (57,7%)	161
Fêmeas	35 (28,9%)	86 (71,1%)	121
Idade			
1-3	32 (34%)	62 (66%)	94
4-6	59 (37,6%)	98 (62,4%)	157
>7	14 (45,1%)	17 (54,9%)	31

Fonte: Própria do autor (2021).

Dos 784 abates bovinos acompanhados, 105 animais apresentaram-se parasitados por *F. hepatica*, sendo esses confirmados por meio da inspeção visual, o que correspondeu a 13,39% de condenações de hepáticas nesse período.

Das amostras de fígados parasitados com *F. hepatica* (n=105), foram recuperados 1.423 parasitos adultos, resultando numa intensidade parasitária média de 13 exemplares por animal (Variando de 1 a 243 parasitos/animal). Os parasitas foram recolhidos dos ductos biliares.

Em um fígado foram contados 243 exemplares de *Fasciola hepatica*, coletados entre os ductos biliares e na superfície do parênquima hepático. No interior dos ductos havia presença de exsudato escuro e viscoso, com o revestimento ductal descamado e parasitos adultos. O parênquima que envolviam os ductos estava substituído por um tecido fibroso, o qual se estabelecia o local de migração.

Foram positivas para a técnica de QT 33,7% das amostras (95/282), seguidas de 18,1% (51/282) para a técnica de DSS (1954) e 3,1% (9/282) na técnica de GWM (Tabela 2).

Tabela 2: Prevalência de animais positivos para ovos de *F. hepatica* em amostras fecais de bovinos abatidos em Orleans, SC, de acordo com a técnica empregada. 2020.

Técnica	Positivos	Negativos	Total
DSS	51 (18,1%)	231 (81,9%)	282 (100%)
QT	95 (33,7%)	187 (66,3%)	282 (100%)
GWM	9 (3,2%)	273 (96,8%)	282 (100%)

Fonte: Própria do autor (2021).

Nesse trabalho a sensibilidade e a especificidade dos testes foram calculadas tomando a presença de *F. hepatica* no fígado, observada na linha de inspeção, como padrão ouro para o diagnóstico de fasciolose. Dessa forma, para esses cálculos, foram empregados somente os resultados dos testes coparasitológicos de 105 animais nos quais se constaram a presença de *F. hepatica* no fígado.

Os resultados revelaram uma sensibilidade de 43,8% para a técnica DSS, enquanto pela técnica do QT foi de 86,6% e pelo método modificado de GWM foi de 7,6% (Tabela 3).

Tabela 3: Sensibilidade dos exames coproparasitológico de bovinos naturalmente infectados com *Fasciola hepatica* obtidos através das técnicas de Dennis, Stone e Swanson, Quatro tamises e Gordon e Withlock modificada.

	Amostras		
	Positivo	Negativo	Total
DSS	46 (43,8%)	59	105
QT	91 (86,6%)	14	105
GWM	8 (7,6%)	97	105

Fonte: própria do autor (2021).

A especificidade das técnicas variou entre 97,7%, 97,1% e 99,4% para QT, DSS e GWM, respectivamente. O valor preditivo positivo foi 90,1% para DSS, 95,7% para QT e 88,8% para a técnica modificada de GWM. O valor preditivo negativo foi calculado em 74,4% para DSS, 92,5% para QT e 64,4% para a técnica de GWM.

Quando comparadas as técnicas aplicadas, de acordo com a escala de concordância do Kappa, de Kraemer e Bloch (1988), os resultados (Tabela 4) foram:

- concordância fraca entre as técnicas de QT e GWM (0,20);
- concordância regular entre as técnicas de DSS e GWM (0,57) e DSS e QT (0,48).

Tabela 4: Coeficiente Kappa para resultados da aplicação de três técnicas coproparasitológicas para o diagnóstico de *F. hepatica*.

Técnicas	DSS	QT
QT	0,48	-
GWM	0,57	0,2

Fonte: própria do autor (2021).

Quando comparadas as técnicas aplicadas isoladamente com os fígados parasitados por *F. hepatica*, os resultados apontaram uma concordância fraca para a técnica de GWM (0,10), concordância regular para técnica de DSS (0,45) e excelente concordância para a técnica de QT (0,84).

A tabela 5 demonstra os resultados obtidos pelas técnicas de DSS e QT e a classificação quanto a quantidade de parasitas adultos recuperados dos fígados.

Tabela 5: Correlação entre número de parasitos adultos recuperados e resultados dos exames coproparasitológicos para pesquisa de ovos de *Fasciola hepatica* em bovinos naturalmente parasitados.

Helmintos adultos recuperados (n)	Total de animais	DSS		QT	
		Positivos	Negativos	Positivos	Negativos
01-05	37	18	19	28	09
06-10	22	06	16	19	03
11-20	30	12	18	28	02
21-30	10	06	04	10	0
31-40	04	0	04	04	0
≥40	02	01	01	02	0
Total	105	43	62	91	14

DSS: Dennis, Stone e Swanson

QT: Quatro Tamises

Os resultados dos testes exato de Fischer e do qui quadrado não demonstraram correlação ($P>0,05$) entre o número de parasitos adultos (intensidade parasitária) e a positividade nas técnicas de QT e DSS.

6 DISCUSSÃO

A sedimentação espontânea, proposto por Denis, Stone e Swanson (1954) teve uma baixa sensibilidade (43,8%) quando comparada aos quatro tamises (86,6%). Nesse caso, a diferença pode estar relacionada ao procedimento dos métodos e a complexidade de cada método (KLEIMAN et al., 2005).

A técnica de DSS utiliza uma pequena porção de todo o sedimento e mesmo que se repita a observação seriada, em até cinco vezes, a probabilidade da não obtenção de ovos, mesmo em um animal parasitado, é real. Por outro lado, a técnica de QT inclui um procedimento operacional que, em teoria, todos os ovos, caso presentes, são coletados na peneira de 250 malhas por polegada.

Essa afirmação é fundamentada para explicar os resultados obtidos por Kleiman et al. (2005) que também compararam as técnicas de sedimentação e a de quatro tamises, e relataram maior sensibilidade para a técnica dos QT (53%) em comparação com a sedimentação (DSS) (21%).

A sensibilidade observada nesse trabalho para a técnica de DSS foi inferior aos valores encontrados, em um estudo semelhante, por Tengasse, Kebede e Taqaba (2016), na Etiopia, que utilizaram o fígado de bovinos

inspecionados na linha de abate como teste padrão para avaliar a sensibilidade da técnica de DSS. Os autores relatam que a técnica apresentou sensibilidade de 71%, classificando-a como satisfatória para o diagnóstico. No entanto, é importante salientar que a espécie estudada foi a *F. gigantica*, a qual possui uma fase de liberação de ovos diferente da *F. hepatica* (HUSSEIN; HASSAN; KHALIFA, 2010).

Mattos (2009) comparou as taxas de sensibilidade entre as técnicas de DSS e de QT, ambas não modificadas, a partir de fezes de ovelhas. Os autores concluíram que a técnica de QT mostrou uma maior sensibilidade do que a técnica de DSS. Entretanto, vale salientar que a fasciolose bovina difere da ovina, uma vez que nos bovinos a liberação de ovos é mais baixa em comparação com ovelhas e roedores (CUNHA et al. 2007).

Em contrapartida, Gomes et al. (2002) encontraram baixa prevalência de ovos de *F. hepatica* em bovinos infectados numa propriedade confirmadamente infestada com os moluscos e metacercárias de *F. hepatica*. Além disso, os autores verificaram maior sensibilidade da técnica DSS (48,60%), enquanto a sensibilidade obtida pela técnica de QT foi de 15,30%.

Para Ward (1997) dentre os principais fatores que influenciam a detecção de ovos em testes coproparasitológicos estão: a duração e a intensidade da infecção, a dificuldade em obter amostras seriadas, além de variáveis dependentes do laboratório. Kleiman et al. (2005) inclusive citam o tempo e o cansaço dos observadores frente a longas análises como outro fator importante.

Dez amostras foram classificadas como falsas negativas, nos quais uma média de 4,1 exemplares de parasitas adultos foi encontrada nos fígados. Segundo Conceição et al. (2002), os resultados negativos em exames de fezes podem ocorrer quando a carga parasitária for muito baixa e nos casos em que os animais já tenham controlado os parasitas adultos.

Há poucos relatos de trabalhos que modificaram a técnica de Gordon e Withlock com a utilização de Sulfato de Zinco (ZnSO₄). Zajac, Johnson, King (2002) avaliaram a eficácia de métodos coproparasitológicos utilizando diferentes concentrações de Sulfato de Zinco, inclusive a 33%. Os autores relataram que a centrifugação pode melhorar significativamente a recuperação de ovos quando comparado com a flutuação normal. Esse fator pode ter

interferido nesse trabalho, uma vez que na técnica de Gordon e Witlock não ocorre a centrifugação das amostras.

No presente trabalho o objetivo da modificação da técnica de Gordon e Withlock, com a utilização da solução de ZnSO₄ a 33% ao invés da solução saturada de NaCl, se deu devido às diferenças nas densidades das soluções entre a técnica original e a técnica modificada, uma vez que o ovo da *F. hepatica*, de alta densidade, nem sempre flutua em solução saturada de NaCl. Dessa forma, considerando a densidade do ovo do platelminto em comparação com a solução de ZnSO₄, esperava-se que sua tendência era flutuar para a superfície da câmara de MacMaster, o que não ocorreu.

Acreditava-se que o número de parasitos adultos poderia estar relacionado com a sensibilidade das técnicas avaliadas e/ou com a contagem de OPG, entretanto, esta hipótese não foi confirmada no presente estudo, possivelmente pelo fato da oviposição de *F. hepatica* em bovinos ser menor em comparação com ovelhas e roedores (CUNHA et al. 2007), dessa forma, o baixo OPG das amostras não possibilitou estabelecer uma correlação estatística entre carga parasitária e a sensibilidade das técnicas empregadas.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos no presente estudos apontaram que a técnica de QT foi a mais sensível dentre os métodos coproparasitológicos avaliados.

A técnica de DSS apresentou sensibilidade de 43,8% e concordância regular com QT e GWM. Vale salientar que inúmeros fatores são levantados como influenciadores de resultados falsos negativos/falsos positivos nessa técnica.

Embora plausível o embasamento para a utilização do ZnSO₄ na técnica de GWM, tal modificação não apresentou resultados esperados, resultando em fraca concordância com a técnica de QT.

Ao contrário do esperado, a intensidade parasitária não influenciou ($P>0,05$) na sensibilidade das técnicas DSS e QT.

8 REFERÊNCIAS

ABO-AZIZA, F.A.M.; ODA, S.S.; ABOELSOUED, D.; FARAG, T.K.; ALMUZAINI, A.M. Variabilities of hydatidosis in domestic animals slaughtered at

Cairo and Giza abattoirs, Egypt. **July-2019**, [S.L.], v. 12, n. 7, p. 998-1007, jul. 2019.

AI, L.; CHEN, J.X.; CAI, Y.C.; LU, Y.; CHU, Y.H.; CHEN, S.H.; LI, H.; SONG, P.; CHEN, M.X.; ZHOU, X.N. Prevalence and risk factors of Fascioliasis in China. **Acta Tropica**, [S.L.], v. 196, p. 180-188, ago. 2019.

ALBUQUERQUE, R.B.F. **Análise da distribuição temporal da fasciolose bovina no município Miracema, RJ, entre os anos de 2011 e 2016**. 2018. 41 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2018.

ALVES, D. P.; MARTINS, I. V. F. Atualizações no controle parasitário da fasciolíase em bovinos. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia**, v.9, n.16; p 323-351, 2013.

ANDERSON, N., LUONG, T.T., VO, N.G., BUI, K.L., SMOOKER, P.M., SPITHILL, T.W. The sensitivity and specificity of two methods for detecting *Fasciola* infections in cattle. **Vet. Parasitol.** 83, 15–24. 1999.

ANTUNES, G. M. Inimigo Oculto. **Revista Cultivar Bovinos**, V.15, p.1-4, 2005.

APT, W.; AGUILERA, X.; VEGA, F.; MIRANDA, C.; ZULANTAY, I.; PEREZ, C.; GABOR, M.; APT, P. Treatment of human chronic fascioliasis with triclabendazole: drug efficacy and serologic response. **Am J Trop Med Hyg** 52: 532–535. 1995.

AQUINO, F. **Prevalência e distribuição espacial da cisticercose e fasciolose bovina no estado de Goiás**. 2017. 113 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária, Sanidade Animal, Higiene e Tecnologia de Alimentos (sanhta), Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2017.

ARIAS-PACHECO, C.; LUCAS, J.R.; RODRÍGUEZ, A.; CÓRDOBA, D.; LUX-HOPPE, E.G. Economic impact of the liver condemnation of cattle infected with *Fasciola hepatica* in the Peruvian Andes. **Tropical Animal Health and Production**. 52, 1927–1932. 2020.

ASHRAFI, K.; BARGUES, M.D.; O'NEILL, S.; MAS-COMA, S. Fascioliasis: a worldwide parasitic disease of importance in travel medicine. **Travel Med Infect Dis**. 12:636-49. 2014.

AYAZ, S.; ULLAH, R.; NASER, M. ABDEL-SALAM; SHAMS, S. NIAZ, SADAF. *Fasciola hepatica* in Some Buffaloes and Cattle by PCR and Microscopy. **The Scientific World Journal**, [s.l.], v. 2014, p.1-5, 2014.

BARROS, J.S.L; PILE, E.A.M; VASCONCELLOS, M.C; et al. Experimental infection of *Physa cubensis* Pfeiffer, 1839 and *Lymnaea columella* with *Fasciola hepatica* miracidiae Linnaeus, 1758. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n.3, p.121- 123, 2002.

BENNEMA, S. C.; SCHOLTE R. G. C.; MOLENTO, Marcelo Beltrão; MEDEIROS, C.; CARVALHO O. S. *Fasciola hepatica* in bovines in brazil: data

availability and spatial distribution. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, [s.l.], v. 56, n. 1, p.35-41, jan. 2014.

BENNEMA, S.C.; MOLENTO, M.B.; SCHOLTE, R.G.; CARVALHO, O.S.; PRITSCH, I. Modelling the spatial distribution of *Fasciola hepatica* in bovines using decision tree, logistic regression and GIS query approaches for Brazil. **Parasitology**. 144, 1677–1685. 2017.

BERNARDO, C.C. et al. Avaliação comparativa entre a técnica de sedimentação fecal e achados de *F. hepatica* em fígados bovinos. **Anais da XXXIV Semana Capixaba do Médico Veterinário**. Guarapari – ES, 2007.

BIANCHIN, I. **O controle da verminose de bovinos nelore no cerrado**. 2000. Disponível em: http://www.neloresantamaria.com.br/artigo_9.htm, acessado em 23 de outubro de 2020.

BOSTANCI, A.; OGUZ, B. Copro-ELISA Prevalence of *Fasciola hepatica* in Cattle in Van, Turkey. **Acta Scientiae Veterinariae**, [s.l.], v. 45, n. 1, p.1-7, 15 ago. 2017. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

BOTELHO, G.J.; SOUZA, A.P.; BELLATO, V.; SARTOR, A.A. Prevalence of *Fasciola hepatica* in five counties of the extreme south of Santa Catarina. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, V. 39, n. 3, p.121-123, 2002.

BRAVO, T. C. *Fasciola hepatica*: ciclo biológico y potencial biótico. **Rev Mex Patol Clin**, v.54, n. 1, p. 21-27, jan-mar, 2007.

BROWN C.C.; BAKER D.C.; BARKER I.K. Alimentary system, In: Maxie M.G. (Ed.), Jubb K.V.F., Kennedy P.C., Palmer N.C., **Pathology of Domestic Animals**. Elsevier Saunders, London. Vol.2. p.279-296. 2007.

BYRNE, A.W.; MCBRIDE, S.; LAHUERTA-MARIN, A.; GUEL BENZU, M.; MCNAIR, J.; SKUCE, Robin A.; MCDOWELL, Stanley W.J. Liver fluke (*Fasciola hepatica*) infection in cattle in Northern Ireland: a large-scale epidemiological investigation utilising surveillance data. **Parasites & Vectors**, [s.l.], v. 9, n. 1, p.2-14, 14 abr. 2016.

CHAICHANASAK, P.; ICHIKAWA, M.; SOBHON, P.; ITAGAKI, T. Identification of *Fasciola* flukes in Thailand based on their spermatogenesis and nuclear ribosomal DNA, and their intraspecific relationships based on mitochondrial DNA. **Parasitology International**, [s.l.], v. 61, n. 4, p.545-549, dez. 2012.

CHARLIER, J., DE MEULEMEESTER, L., CLAEREBOUT, E., WILLIAMS, D.; VERCRUYSSSE, J. Qualitative and quantitative evaluation of coprological and serological techniques for the diagnosis of fasciolosis in cattle. **Veterinary Parasitology** 153, 44–51. doi: 10.1016/j.vetpar.2008.01.035. 2008.

CHARLIER, J., VERCRUYSSSE, J., MORGAN, E., VAN DIJK, J., & WILLIAMS, D. J. Recent advances in the diagnosis, impact on production and prediction of *Fasciola hepatica* in cattle. **Parasitology**, 141, 326–335. 2014.

CHARLIER, J.; BENNEMA, S. C.; CARON, Y.; COUNOTTE, M.; DUCHEYNE, E.; HENDRICKX, G.; VERCRUYSSSE, J. Towards assessing fine-scale indicators for the spatial transmission risk of *Fasciola hepatica* in cattle. **Geospat Health** (5). p. 239-245. 2011.

CHARLIER, J.; DUCHATEAU, L.; CLAEREBOU, E.; WILLIAMS, D.; VERCRUYSSSE, J. Associations between anti-*Fasciola hepatica* antibody levels in bulk-tank milk samples and production parameters in dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**. v.78, p.57–66, 2007.

CHIEFFI PP, AMATO NV. Vermes, Verminoses e a Saúde Pública **Cienc. Cult.** 55(1), São Paulo, Jan./Mar, 2003.

CHIKOWORE, Tatenda J.; ZISHIRI, Oliver T.; MUKARATIRWA, Samson. Phylogenetic analysis of *Fasciola* spp. isolated from slaughtered cattle in KwaZulu-Natal and Mpumalanga provinces of South Africa based on the cytochrome c oxidase subunit I mitochondrial marker. **Onderstepoort Journal Of Veterinary Research**, [S.L.], v. 86, n. 1, p. 1-11, 18 jun. 2019.

CHOUGAR, L., AMOR, N., FARJALLAH, S. *et al.* New insight into genetic variation and haplotype diversity of *Fasciola hepatica* from Algeria. **Parasitol. Res.** v. 118, 1179–1192. 2019.

CONCEIÇÃO, M.A.P.; DURÃO, R.M.; COSTA, I.H. *et al.* Evaluation of a simple sedimentation method (modified McMaster) for diagnosis of bovine fasciolosis. **Vet. Parasitol.**, v.105, p.337-343, 2002.

CORAL, R.P.; MASTALIR, E.T.; MASTALIR, F.P. Retirada de *Fasciola hepatica* da via biliar principal por coledocoscopia. **Rev Col Bras Cir.** 2007;34:70-1.

CORDERO DEL CAMPILLO, M.; ROJO VÁZQUEZ, F. **Parasitología Veterinaria** (1st ed). Madrid: McGraw-Hill. 1999.

CORDERO, C.M. Fasciolosis: revisión de alguns aspectos. **Información Veterinarias**. 87: 32 - 40. 1990. Disponível em: <<https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/3569/Informacion%20Veterinaria%28Fasciolosis%29%28N%c2%ba%2087%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> Acesso em: 29 nov. 2020.

CORREA, S.; MARTÍNEZ, Y.L.; LÓPEZ, J.L.; VELÁSQUEZ, L.E. Evaluación de la técnica parasitológica Dennis modificada para el diagnóstico de fasciolosis bovina. **Biomédica**, [s.l.], v. 36, p.64-68, 23 fev. 2016.

CUNHA, F.O.V.; MARQUES, S.M.T.; MATTOS, M.J.T. Prevalence of slaughter and liver condemnation due to *Fasciola hepatica* among sheep in the state of Rio Grande do Sul, Brazil 2000 and 2005. **Parasitologia Latinoamericana**. v.62, p.188 - 191, 2007.

DENNIS, W.R.; STONE, W.M.; SWANSON, LE. A new laboratory and field diagnostic test for fluke ova, in feces. **J. Amer. Vet Med. Am.**, v.124, p.47-50, 1954.

DITTMAR, K; TEEGEN, Wr. The presence of *Fasciola hepatica* (Liver-fluke) in humans and cattle from a 4,500 Year old archaeological site in the Saale-Unstrut Valley, Germany. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 98, n. 1, p. 141-143, 2003.

DRACZ, R.M.; RIBEIRO, V.M.A.; PEREIRA, C.A.J.; LIMA, W.S. Occurrence of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) in capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) (Linnaeus, 1766) in Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [s.l.], v. 25, n. 3, p.364-367, 12 abr. 2016.

DUCHEYNE, E.; CHARLIER, J.; VERCRUYSSSE, J.; RINALDI, L.; BIGGERI, A.; DEMELER, J.; BRANDT, C.; WALL, T.; SELEMETAS, N.; HÖGLUND, J.; KABA, J.; KOWALCZYK, S. J.; HENDRICKX, G. Modelling the spatial distribution of *Fasciola hepatica* in dairy cattle in Europe. **Geospatial Health**, [s.i.], v. 9, n. 2, p.261-270, 2015.

DUTRA, L.H.; MOLENTO, M.B.; NAUMANN, C.R.C.; BIONDO, A.W.; FORTES, F.S.; SAVIO, D.; MALONE, J.B. Mapping risk of bovine fasciolosis in the south of Brazil using Geographic Information Systems. **Veterinary Parasitology**, [s.i.], v. 169, p.76-81, 2010.

ECHEVARRIA, F. A. M. Fasciolose: ocorrência, diagnóstico e controle. **Agroquímica**, n. 27, p. 4 - 9, 1985.

ECHEVARRIA, F. Fasciolose. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.13, suplemento 1, p. 100-102, 2004.

ELELU, N.; EISLER, M.c.. A review of bovine fasciolosis and other trematode infections in Nigeria. **Journal Of Helminthology**, [s.l.], v. 92, n. 02, p.128-141, 22 maio 2017.

FOREYT, W. J. **Parasitologia veterinária: manual de referência**. São Paulo: Roca, p. 4. 2005.

FORTES, Elinor. **Parasitologia Veterinária**. 4. ed. [s.i]: Ícone, 607 p. 2004.

FOX, N.J.; WHITE, P.C.L.; MCCLEAN, C.J.; MARION, G.; EVANS, A. HUTCHINGS, M.R. Predicting impacts of climate change on *Fasciola hepatica* risk. **PLoS ONE**, v.6, n.1, p.e16126, 2011.

GIRÃO, E.; UENO, H. Técnica dos quatro tamises para o diagnóstico coprológico quantitativo da Fasciolose dos ruminantes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.20, n. 8, p.905-912, 1985.

GOMES, F.F.; OLIVEIRA, F.C.R.; PILE, E.A.; LOPES, C.W.G. Estabelecimento de foco de fasciolose hepática em propriedade do município

de Campos dos Goytacazes no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.11, n.2, p.53-56, 2002.

GUIMARÃES, M. P. *Fasciola hepatica*. In: NEVES, D. P. (Org). **Parasitologia Humana**. 12. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2011. p. 241 – 244.

HATSCHBACH, P. I. A *Fasciola hepatica* e sua história. **Hora Veterinária**, 1 (Edição extra): 10-12. 1995.

HONER, M. R. Aspectos da epidemiologia da fasciolose. In: **SEMINÁRIO NACIONAL SOBRE PARASITOSSES DE BOVINOS**, 1., 1979, Campo Grande. Anais. Brasília: EMBRAPA/CNPQC, p. 151 - 65. 1979.

HUSSEIN, A.-N. A., HASSAN, I. M., & KHALIFA, R. M. A. Development and hatching mechanism of *Fasciola* eggs, light and scanning electron microscopic studies. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 17(3), 247–251. 2010.

IBARRA, F.; MONTENEGRO, N.; VERA, Y.; BOULARD, C.; QUIROZ, H.; FLORES, J.; OCHOA, P. Comparison of three ELISA tests for seroepidemiology of bovine fasciolosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.77, p.229-236, 1998.

JACQUIET, P. La fasciolose à *Fasciola hepatica*: physiopathologie, dépistage et prévention. **Le nouveau Practicien Vétérinaire**, pag. 43-51. 2008.

JIMÉNEZ-ROCHA, A.E.; ARGÜELLO-VARGAS, S.; ROMERO-ZUÑIGA, J.J.; SEQUEIRA-AVALOS, J.A.; DOLZ, G.; MONTENEGRO-HIDALGO, V.; Environmental factors associated with *Dictyocaulus viviparus* and *Fasciola hepatica* prevalence in dairy herds from Costa Rica. **Vet Parasitol Reg Stud Rep**; 9: 115-121. 2017.

KAPLAN, R. M. *Fasciola hepatica*: A review of the economist impact in cattle and considerations for control. **Veterinary Therapeutics**, v. 2, n.1, 2001.

KHAN, M.K.; SAJID, M.S.; KHAN, M.N.; IQBAL, Z.; ARSHAD, M.; HUSSAIN, A. Point prevalence of bovine fasciolosis and the influence of chemotherapy on the milk yield in a lactating bovine population from the district of Toba Tek Singh. **Pakistan Journal of Helminthology**. 85, 334–338. 2011.

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

KOUADIO, J.N.; GIOVANOLI EVACK, J.; ACHI, L.Y.; FRITSCHÉ, D.; OUATTARA, M.; SULIÉ, K.D.; BONFOH, B.; HATTENDORF, J. UTZINGER, J. ZINSSTAG, J. BALMER, O.; N'GORAN, E.K. Prevalence and distribution of livestock schistosomiasis and fascioliasis in Côte d'Ivoire: results from a cross-sectional survey. **BMC Vet Res**, v.446. pág. 1-10. 2020.

KRAEMER, H.C.; BLOCH, D.A. Kappa coefficients in epidemiology: na appraisal of a reappraisal. **J. Clin. Epidemiolol.** 41(10); 959-68. 1988.

LEUCKART, R. Zur Entkicklungsgeschichte des Lebergels (*Distomum hepaticum*). **Archiv fur Naturgeschichte**, n.48, p. 80-119, 1882.

LOEURNG, V.; ICHIKAWA-SEKI, M.; WANNASAN, A.; SOTHYRA, T.; CHAISOWWONG, W.; TIWANANTHAGORN, S. Genetic Characterization of Cambodian *Fasciola gigantica* and Dispersal Direction of the Species in Asia. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 273, p. 45-51, set. 2019.

MALATJI, M.P.; PFUKENYI, D.M.; MUKARATIRWA, S. *Fasciola* species and their vertebrate and snail intermediate hosts in East and Southern Africa: a review. **Journal of Helminthology**. Pag. 1–11. 2019.

MARQUES, S.M.T.; SCROFERNEKER, M.L. *Fasciola hepatica* infection in cattle and buffaloes in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Parasitologia Latinoamericana**, [s.i.], v. 58, p.169-172, 2003.

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

MEHMOOD, K.; ZHANG, H.; SABIR, A. J.; ABBAS, R. Z.; IJAZ, M.; DURRANI, A. Z.; LI, J. A review on epidemiology, global prevalence and economical losses of fasciolosis in ruminants. **Microbial Pathogenesis**, 109, 253–262. 2017.

MENDES, E. A. **Comportamento e desenvolvimento de *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) de bovinos naturalmente infectados em sagui (*Callithrix penicillata*) e gerbil (*Meriones unguiculatus*)**. 2006. 132 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

MENDES, R. E.; PILATI, C. Estudo morfológico de fígado de bovinos abatidos em frigoríficos industriais sob inspeção estadual no Oeste e no Planalto de Santa Catarina, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 6, p.1728-1734, 2007.

MINISTRO DA SAÚDE, **DETECÇÃO DE CASOS HUMANOS DE *Fasciola hepatica* NO ESTADO DO AMAZONAS**. 2005. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/periodicos/boletim_eletronico_ano05_05.pdf>. Acesso em: 01 abr. 2019.

MOLENTO, M.B.; BENNEMA, S.A.; BERTOT, J.; PRITSCH, I.C.; ARENAL, A. Bovine fascioliasis in Brazil: economic impact and forecasting. **Vet Parasitol Reg Stud Rep**, 12: 1-3. 2018.

OHARI, Y.; HAYASHI, K.; MOHANTA, U.K.; OSHIDA, T.; ITAGAKI, T. Phylogenetic relationships between Lymnaeidae in relation to infection with *Fasciola* sp. in Hokkaido, Japan. **Molluscan Research**, [S.L.], v. 40, n. 2, p. 160-168, 23 jan. 2020.

OLIVEIRA, S.M.; FILHA, E.S. FASCIIOLOSE HEPÁTICA. **Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 1, p. 5-7, 2009.

PILE, E.; GAZETA, G.; SANTOS, J. A. A. Ocorrência de fasciolosis humana no município de Volta Redonda, RJ, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v.34, n.4, p.413-414, 2000.

PILE, E.; SANTOS, J.A.A.; PASTORELLO, T.; VASCONCELLOS, M. *Fasciola hepatica* em búfalos (*Bubalus bubalis*) no município de Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. **J. Vet. Res. Anim. Sci**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 1, p.42-43, 2001.

PRITSCH, I. C.; STANULA, E.C.A.; ANJOS, A.; BERTOT, J.A.; MOLENTO, M. B. Fascioliasis in buffaloes: A 5-year forecast analysis of the disease based on a 15-year survey in Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** vol.28 no.3 Jaboticabal July/Sept. 2019.

PRITSCH, I.C.; MOLENTO, M.B. Recount of reported cases of human fascioliasis in Brazil over the last 60 years. **Journal of Tropical Pathology** 47, 1–11. 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**, [S.L.], v. 52, p. 1-3, 2019. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0070-2019>.

QUEIROZ, V.S; LUZ, E.; LEITE, L.C. & CÍRIO, S.M. *Fasciola hepatica* (Trematoda, Fasciolidae): estudo epidemiológico nos municípios de Bocaiúva do Sul e Tunas do Paraná (Brasil). **Acta Biol. Paranaense**, Curitiba, v. 31, n. 1-2-3-4, p.99-111, 2002.

QUIROZ, H. **Parasitologia y enfermedades parasitarias de animales domesticos**. 2. Ed. México: LIMUSA. 200 P. 2005.

RADOSTITS, O.M. **Veterinary medicine. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses**, 9 ed. EDITION. 2000.

RAMOS, A. M.; ROMERO, H. Q.; MOLINA, C. G.; MARTÍNEZ, H.. Frecuencia de fasciolosis a través de cuatro técnicas de diagnóstico en toros sacrificados en la plaza México. **Veto Méx**, [s/i.], v. 24, n. 3, p.239-241, 1993.

RAPSCH, C., SCHWEIZER, G., GRIMM, F., KOHLER, L., BAUER, C., DEPLAZES, P., BRAUN, U.; TORGERSON, P. R. Estimating the true prevalence of *Fasciola hepatica* in cattle slaughtered in Switzerland in the absence of an absolute diagnostic test. **International Journal for Parasitology** 36, 1153–1158. 2006.

REICHEL, M.P. Performance characteristics of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of liver fluke (*Fasciola hepatica*) infection in sheep and cattle. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.1107, p.65-72, 2002.

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

RINALDI, L.; BIGGERI, A.; MUSELLA, V.; DE WAAL, T.; HERTZBERG, H.; MAVROT, F.; CATELAN, D. Sheep and *Fasciola hepatica* in Europe: The GLOWORM experience. **Geospatial Health**, 9, 309. 2015.

ROBINSON, M. W.; DALTON, J. P. Zoonotic helminth infections with particular emphasis on fasciolosis and other trematodiasis. **Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.** (364). p. 2763–2776. 2009.

ROJO-VÁZQUEZ, F. A. et al. Update on Trematode Infections in Sheep. **Vet. Parasitol.**, [s. l.], v.189, p.15-38, 2012.

ROLDÁN, C.; BEGOVOEVA, M.; LÓPEZ-OLVERA, J. R.; VELARDE, R.; CABEZÓN, Ó.; MOLINAR MIN, A. R.; ROSSI, L. Endemic occurrence of *Fasciola hepatica* in an alpine ecosystem, Pyrenees, Northeastern Spain. *Transboundary and Emerging Diseases*. **Transboundary And Emerging Diseases**, [S.L.], p. 1-6, 14 out. 2020.

SANCHÍS, J.; HILLYER, G.V.; CARVALHO, L.M. ; MACCHIB, M.I.; GOMES, C.; MALDINI, G.; VENZAL, J.M.; PAZ-SILVA, A.; SÁNCHEZ-ANDRADEA, R.; ARIAS, MS. Riesgo de exposición a *Fasciola hepatica* en ganado vacuno en extensivo de Uruguay y Portugal determinado mediante ELISA y un antígeno recombinante. **Arch Med Vet**, [s.i.], v. 47, n. 2, p.201-208, 2015.

SARKARI, B.; MANSOURI, M.; GHADIMI, S.N.; ABDOLAH KHABISI, S.; DOSHMANZIARI, A. Molecular Evaluation of a Case of *Fasciola hepatica* in Wild Boar in Southwestern Iran: A Case Report. **Iran J Parasitol**, [s.i.], v. 13, n. 1, p.149-155, 2018.

SCHWEIZER, G.; BRAUN, U.; DEPLAZES, P.; TORGERSON, P.R. Estimating the financial losses due to bovine fasciolosis in Switzerland. **The Veterinary Record**, 157: 188-193. 2005.

SENASA – Servicio Nacional de Sanidad Agraria. 2019. Prevalencia e incidencia de la fasciolosis en el Perú-2016. [Internet]. Disponível em: <https://www.senasa.gob.pe/senasa/acceso-a-la-informacion/>. Acesso em: 05. Março. 2021.

SERRA-FREIRE, N. M. Fasciolose hepatica no Brasil: Análise Retrospectiva e Prospectiva. **Caderno Técnico Científico da Escola de Medicina Veterinária**, ano 1, n. 1, p. 9 - 70, jul-dez, 1999.

ŞİMŞEK, S. KOROGLU, E. UTUK, A.E. & ALTAY, K. (2006). Use of indirect excretory/secretory enzyme-linked immunosorbent assay (ES-ELISA) for the diagnosis of natural *Fasciola hepatica* infection in eosinophilic and non-eosinophilic cattle from eastern Turkey. **Turkish Journal Veterinary Animal Science**, 30: 411-415.

SOULSBY, E.J.L. **Parasitología y enfermedades parasitarias em los animales domésticos**. 7 ed. Cidade do México: Interamericana, 1987. 823 p.

SOUZA, S.P.; KLEM, M.C.A.; COSTA, K.P.; SILVA, L.F. Principais causas de condenação de fígado bovino em estabelecimento sob Serviço de Inspeção Federal na Zona da Mata mineira. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s.l.], v. 69, n. 4, p.1054-1061, ago. 2017.

TAIBI, A.; AISSI, M.; HARHOURA, K.; ZENIA, S.; ZAIT, H.; HAMRIOUI, B. Evaluation of *Fasciola hepatica* infections in cattle in Northeastern Algeria and the effects on both enzyme and hepatic damage, confirmed by scanning electron microscopy. **Acta Parasitology** v. 64, pag.112–128. 2019.

TAKEUCHI-STORM, N.; DENWOOD, M.; HANSEN, T.V.A.; HALASA, T.; RATTENBORG, E.; BOES, J.; ENEMARK, H.L.; THAMSBORG, S.M. Farm-level risk factors for *Fasciola hepatica* infection in Danish dairy cattle as evaluated by two diagnostic methods. **Parasites & Vectors**, [s.l.], v. 10, n. 1, p.2-11, 9 nov. 2017.

TENGASSE, D.; KEBEDE. A.; TAQABA, E. Comparison on Sensitivity of Coprological and Post Mortem Examination in Diagnosis of Bovine Fasciolosis: Prevalence of the Disease in Bedele Municipal Abattoir. **International Journal of Basic & Applied Sciences**. 8. 63-72. 2016.

TRIVILIN, L.O.; SOUSA, D.R.; CARVALHO NUNES, L.; SOUSA ROCHA, N. MARTINS, I.V.F. Histopathology aspects and fibrosis evaluation of bovine naturally infected livers by *Fasciola hepatica*. **Archives of Veterinary Science**, v. 19, pag. 61–69. 2014.

UENO, H.; GUTIERRES, V. C.; MATTOS, M. J. T.; MULLER, G. Fascioliasis problems in ruminants in Rio Grande do Sul, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 11, n. 2 - 3, p. 185 - 191, 1982.

URQUHART, G.M., et al. **Parasitologia Veterinária**. Editora Guanabara Koogan, 2ª ed. p.81-97. 1996. Rio de Janeiro.

VIGNOLES, P.; RONDELAUD, D.; DREYFUSS, G. Determination of zones at risk for fasciolosis in the department of Haute-Vienne, central France: A retrospective study on natural infections detected in 108,481 *Galba truncatula* for 37 years. **Parasite**, Parasite, [S.L.], v. 24, p. 55-67, 2017.

WARD, M.P.; LYNDAL-MURPHY, M.; BALDOCK, F.C. Evaluation of a composite method for counting helminth eggs in cattle faeces. **Vet. Parasitol.**, v.73, p.181-187, 1997.

WHO - World Health Organisation. **Report of the WHO expert consultation on foodborne trematode infections and taeniasis/cysticercosis**. Geneva: WHO; 2011.

WHO - World Health Organisation. **Report of the WHO Informal Meeting on use of triclabendazole in fascioliasis control**. WHO headquarters, Geneva, Switzerland 22: 154. 2007.

WHO – World Organisation for animal health. **OIE-Listed diseases, infections and infestations in force in 2019**. 2019. Disponível em: <<http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2019/>>. Acesso em: 06 mar. 2021.

ZAJAC, A. M.; JOHNSON, J.; KING, S. E. Evaluation of the Importance of Centrifugation as a Component of Zinc Sulfate Fecal Flotation Examinations. **Journal of the American Animal Hospital Association**, 38(3), 221–224. 2002.

ZHANG, J.L.; SI, H.F.; ZHOU, X.Z.; SHANG, X.F.; LI, B.; ZHANG, J.Y. High prevalence of fasciolosis and evaluation of the efficacy of anthelmintics against *Fasciola hepatica* in buffaloes in Guangxi, China. **International Journal For Parasitology: Parasites and Wildlife**, [S.L.], v. 8, p. 82-87, abr. 2019.