

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LEONARDO HERMES DUTRA

*Fasciola hepatica*: MONITORAMENTO PELO USO DE GEOPROCESSAMENTO E  
ESTUDO ECONÔMICO

CURITIBA  
2010

LEONARDO HERMES DUTRA

*Fasciola hepatica*: MONITORAMENTO PELO USO DE GEOPROCESSAMENTO E  
ESTUDO ECONÔMICO

Dissertação apresentada como requisito parcial  
à obtenção de grau de Mestre em Ciências  
Veterinárias, Programa de Pós-Graduação em  
Ciências Veterinárias, Setor de Ciências  
Agrárias, Área de Concentração: Doenças  
Parasitárias dos Animais, Universidade Federal  
do Paraná,

Orientador: Profº. Dr. Marcelo Beltrão Molento

CURITIBA  
2010

Dutra, Leonardo Hermes

*Fasciola hepática* : monitoramento pelo uso de geoprocessamento e estudo econômico / Leonardo Hermes Dutra. – Curitiba, 2010.

99 f. : il. : color

Orientador: Marcelo Beltrão Molento

Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, 2010

1. Fasciola hepática. 2. Bovinos – Doenças. 3. Parasitologia veterinária. 4. Epidemiologia veterinária – Geoprocessamento. I. Molento, Marcelo Beltrão. II. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título

CDU 619.6:636.2


PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada "**Fasciola hepatica: MONITORAMENTO PELO USO DE GEOPROCESSAMENTO E ESTUDO ECONÔMICO EM BOVINOS**" apresentado pelo Mestrando **Leonardo Hermes Dutra**, declara ante os méritos demonstrados pelo Candidato, e de acordo com o Art. 78 da Resolução nº 62/03-CEPE/UFPR, que considerou o candidato APTO para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 23 de fevereiro de 2010

  
Professor Dr. Marcelo Beltrão Molento  
Presidente/Orientador

  
Professor Dr. Antônio Pereira de Souza  
Membro

  
Professor Dr. Ivan Roque de Barros Filho  
Membro

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente ao professor Marcelo Beltrão Molento (Mestre) pela confiança depositada na orientação de meu mestrado. Obrigado por todos ensinamentos obtidos desde dos tempos da graduação em Santa Maria. És um dos principais responsáveis pelo meu crescimento intelectual e na carreira acadêmica. Espero que sempre possamos trabalhar juntos, unidos em interesses mútuos e na conquista de novos desafios, contanto com esta relação aberta e de companheirismo que temos.

Ao professor Alexander Welker Biondo, pelas inúmeras conversas, conselhos profissionais e pessoais, pela confiança e colaboração em meu mestrado. Estava ao meu lado sempre que precisei, nas horas boas e ruins. Obrigado pelos seus conselhos e sinceridade nas diversas questões da vida, mesmo ouvindo suas piadas de Gaúchos. Com certeza lhe reconheço pelo seu caráter e amizade que podemos confiar. Também espero que sempre possamos trabalhar juntos e continuar esta relação de confiança e crescimento.

À José Garibaldi Leite Viana por ter possibilitado desenvolver parte de meu projeto em sua propriedade (Estância). Obrigado pelos ensinamentos, conversas e conselhos. Foi acima de tudo um grande companheiro e amigo. Merece sempre meu agradecimento e desejo do melhor para toda sua família.

Ao professor John B. Malone (Jack) pelos ensinamentos em geoprocessamento, o qual hoje se tornou uma das principais linhas de pesquisas que desenvolvo e acima de tudo tenho prazer em fazer. Espero um dia poder lhe visitar na Louisiana (EUA) e trocarmos ideias e ensinamentos.

Ao professor Ivan Barros pelas conversas e observações feitas desde a disciplina de Práticas em Seminários. Foi um grande prazer conhecê-lo pelo seu caráter e sinceridade.

À minha mãe Helgue Hermes (*in memoriam*) que apesar de ter deixado esta vida terrena em 2009 sempre esteve e estará comigo nos mais diversos desafios. Faz parte de minhas orações e pensamentos e terá meu amor de filho para sempre. Esta conquista também é para você.

Ao meu pai Daltro Dutra, principalmente no primeiro ano de mestrado que confiou e me ajudou a vir para Curitiba. Gostaria que soubesse que o amo apesar das dificuldades e desculpe algo que não tenha lhe agradado.

À minha irmã Eliane Dutra pela grande e importante ajuda quando precisei em meus artigos. Obrigado pela paciência, companheirismo e encomendas dos EUA. Sempre vou te amar e desejo estarmos juntos, sabendo que pode contar comigo.

À Sabrina Orth, minha namorada, amiga e companheira. Desejo do fundo de meu coração que possamos traçar essa vida juntos. Obrigado por estar presente em minha vida e acima de tudo entender a minha vinda para Curitiba. Por ter me dado amor e me incentivado. Por ter me ajudado nas horas mais difíceis e ter me dado apoio. Suas atitudes e ser a pessoa que é me dá forças para continuar. Serei grato para sempre. Te amo muito!

À minha colega de mestrado Fernanda Fortes (Sr<sup>a</sup> Rickets) pelo companheirismo e conversas nas horas de dificuldade. Obrigado por me ajudar em meu projeto. Desejo sucesso em sua jornada do Doutorado.

Ao grande amigo e companheiro Rafael Vieira (minha chinoca nordestina). Foi uma grande pessoa em que pude confiar e ter o prazer em conhecer. Obrigado pela ajuda no meu mestrado, nas conversas, conselhos e brincadeiras. Não fique triste pela bandeira do seu estado, sei que tem orgulho de sua terra e aprendi muito com seu caráter e vontade de crescer na vida. Sei que podemos trabalhar e crescermos juntos, em uma parceria que desejo muito. Obrigado!

À Dona Rosa sempre presente no laboratório. Se não fosse a senhora não obteria o conhecimento que precisava para vencer o desafio do mestrado. Muito obrigado pelas conversas e ajuda nas horas difíceis. És uma grande pessoa que me incentivou e me deu confiança. Obrigado!

À Fernando e Andressa, pela amizade e companheirismo. Podemos dar boas risadas da vida. São pessoas em que posso confiar.

À todos que por fim colaboraram neste mestrado. Funcionários, professores, técnicos e alunos de graduação. Saibam que cada ajuda, cada conversa de alguma forma foram decisivos em minha vida. Serei grato para sempre.

Uma conquista sem riscos é um mérito frustrado,  
uma vez que no ímpeto da vida  
não se deve ter medo do caminho,  
mas sim de não poder caminhar.

Christopher Hitchen

## RESUMO

A fasciolose é uma doença parasitária que acomete principalmente ruminantes, equinos, suínos, animais silvestres e o homem. É causada pelo parasita Trematódeo, *Fasciola hepatica*, que ocorre em regiões temperadas de todo o mundo, onde há condições favoráveis para o desenvolvimento de seu hospedeiro intermediário, o caramujo do gênero *Lymnaea*. A *F. hepatica* adulta mede entre 20 a 50mm de comprimento e de 6 a 12 mm de largura, localizando-se nos ductos biliares de seus hospedeiros, desencadeando, principalmente, diminuição de peso, de produção leiteira, de fertilidade, fraqueza, anemia, hipoproteïnemia e edema subcutâneo. É uma doença que acarreta perdas econômicas em vários países, que podem chegar a U\$ 3 Bilhões. No Brasil, a fasciolose é uma preocupação crescente, nos rebanhos bovinos e ovinos e como zoonose. Em virtude das escassas informações sobre a epidemiologia da fasciolose bovina no Brasil, a crescente preocupação na sanidade do rebanho e a necessidade de novos estudos, este trabalho foi realizado com o objetivo de elucidar a incidência da fasciola correlacionado com fatores de clima e altitude no sul do Brasil, estimando os impactos econômicos e confeccionar, de forma inédita, mapas epidemiológicos sanitários com o uso da ferramenta de Geoprocessamento (SIG). Dados de abates bovinos sob Inspeção Federal foram coletados junto ao Serviço de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura para formar um banco de dados para inclusão no programa de SIG. Na experimentação com animais, nove bovinos positivos e outros nove negativos para fasciolose foram acompanhados durante nove meses para comparar a influência do parasito nos pesos dos mesmos, com o uso da análise de Monte Carlo. Ao final, foram coletados seis fígados destes animais que variavam de infecção leve a severa com o intuito de analisar os danos por meio da histopatologia. As incidências no Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná foram de 18,6%, 10,1% e 0,7% respectivamente. Houve correlação entre infecção por *F. hepatica* e baixas altitudes. Os pesos dos animais tiveram diferença significativa e tenderam ao crescimento em infecções crônicas, sendo o prejuízo estimado em R\$ 158,60. Os danos hepáticos foram típicos de lesões causadas em infecções crônicas, evidenciadas pelos marcadores de tecido conjuntivo de Tricrômico de Masson. Portanto o estudo da epidemiologia da *F. hepatica* com Geoprocessamento se torna uma ferramenta útil para sistemas de saúde e como tal, traz benefícios para o controle, prevenção e planejamento em áreas endêmicas. A evidência dos prejuízos e danos causados sua vasta epidemiologia em todo o mundo, a torna um importante agente nas doenças parasitárias.

Palavras chave: Fasciolose. Geoprocessamento. Mapas. Bovinos.

## ABSTRACT

The fasciolosis is a parasitic disease that affects mainly ruminants, horses, pigs, wild animals and man. It is caused by the parasitic trematode, *Fasciola hepatica*, which is characterized by occurring in temperate regions around the world, where conditions are favorable for the development of its intermediate host, the snail of the genus *Lymnaea*. The adult fluke is between 20 to 50 mm in length and 6 to 12 mm in width, situated in the bile ducts of their hosts, causing typical signs of liver disease. In most of the cases these signs are decreased weight, milk production, fertility, weakness, anemia, hypoproteinemia and subcutaneous edema. It is a disease that causes economic losses in several countries which can reach U\$ 3 billion. In Brazil, fasciolosis is a growing concern in cattle herds and sheep and it is characterised as a zoonosis. Because of the limited information on the epidemiology of bovine fascioliasis in Brazil, increased concerns with the health of the herd and the need for further research, the objective of this study was to elucidate the incidence of liver fluke in southern Brazil, while correlating it to the climate and altitude characteristics. In addition, economic impacts were estimated and, for the first time, sanitary epidemiological maps using a Geographic Information System tool (GIS) were created. Data from animals slaughtered under Federal Inspection were collected by the Federal Inspection Service of the Ministry of Agriculture to form a database for inclusion in the GIS. In the experiments with animals, nine animals fascioliasis positive and nine negative were observed for nine months to compare the influence of the parasite in the weight of the animals, using the Monte Carlo analysis. Finally, six livers of these animals with infections ranging from mild to severe were collected in order to analyze the damage by histopathology. The incidences in Rio Grande do Sul, Santa Catarina and Paraná were 18.6%, 10.1% and 0.7% respectively. It was observed a correlation between fluke infection and low altitudes. The weights of the animals had significant differences and tended to increase in chronic infections, with considerable damage estimate in R\$ 158,60. The liver damage was typical of lesions caused by chronic fluke infections, evidenced by markers of connective tissue using Masson's trichrome staining. Therefore the study of the epidemiology of *Fasciola hepatica* with GIS becomes a tool for health systems and as such, brings benefit to the control, prevention and planning in endemic areas. The evidence of loss and damage caused by fluke, like the vast epidemiology throughout the world, makes it an important agent in parasitic diseases.

Keywords: Fasciolosis. GIS. Maps. Bovine.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 –	MAPA DO BRASIL E PERCENTUAL (%) DE INCIDÊNCIA DE <i>FASCIOLA HEPATICA</i> ENCONTRADA NO FÍGADO DE BOVINOS ABATIDOS EM ESTADOS COM SERVIÇO DE INSPEÇÃO FEDERAL DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA, NO PERÍODO DE 2003 A 2008.....	41
FIGURA 2 –	DENSIDADE DE FÍGADOS INFECTADOS COM <i>FASCIOLA HEPATICA</i> UTILIZANDO A ANÁLISE DE KERNEL PROVENIENTE DO SERVIÇO DE INSPEÇÃO FEDERAL (MAPA) ENTRE OS ANOS DE A) 2003; B) 2004; C) 2005; D) 2006; E) 2007; F) 2008 PARA MUNICÍPIOS DO SUL DO BRASIL.....	42
FIGURA 3 –	ESTADOS BRASILEIROS INCLUÍDOS NO ESTUDO DA MÉDIA DE FÍGADOS INFECTADOS POR MEIO DA INSPEÇÃO FEDERAL.....	56
FIGURA 4 –	MÉDIA DE FÍGADOS BOVINOS INFECTADOS POR MEIO DO SISTEMA DE BANCO DE DADOS DO SERVIÇO DE INSPEÇÃO FEDERAL NA REGIÃO SUL DO BRASIL.....	57
FIGURA 5 –	OCORRÊNCIA MÉDIA DOS TRÊS ESTADOS DO SUL DO BRASIL PARA FÍGADOS INFECTADOS POR <i>FASCIOLA HEPATICA</i> ENTRE 2003 E 2008.....	58
FIGURA 6 –	CORTES HISTOLÓGICOS DOS FÍGADOS INFECTADOS POR <i>FASCIOLA HEPATICA</i> : a) MODERADO ESPEÇAMENTO DA PAREDE DO ESPAÇO PORTA; b) FIBROSE EM PONTE (FP); c) INFILTRADO DE CÉLULAS POLIMÓRFICAS NUCLEADAS/EOSINOFÍLICO; d) FIBROSE PERIportal MULTIFOCAL ACENTUADO; e) COLORAÇÃO DE TRICRÔMICO DE MASSON EVIDENCIANDO TECIDO CONJUNTIVO (TC), AUMENTO DE 10X; f) AUMENTO DE 40X.....	79
FIGURA 7 –	AMPLITUDE E PESO MÉDIO DE BOVINOS INFECTADOS POR <i>FASCIOLA HEPATICA</i> E GRUPO NEGATIVO POR MÊS DURANTE JANEIRO E SETEMBRO DE 2009.....	80
FIGURA 8 –	EVOLUÇÃO DO PESO MÉDIO DURANTE AS SEIS PESAGENS DO GRUPO COM INFECÇÃO POR <i>FASCIOLA HEPATICA</i> E NEGATIVO ENTRE JANEIRO E SETEMBRO DE 2009.....	81
FIGURA 9 –	HISTOGRAMA DA ANÁLISE DE MONTE CARLO, REFERENTE AO CÁLCULO TOTAL DE TODAS AS SEIS PESAGENS. VALOR DO TESTE -6.0535, CORRESPONDENDO AP=0,0001.....	82

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 –	NÚMERO DE BOVINOS ABATIDOS E NÚMERO DE FÍGADOS INFECTADOS COM <i>FASCIOLA HEPATICA</i> NO RIO GRANDE DO SUL, SANTA CATARINA E PARANÁ ENTRE 2003 E 2008.....	59
TABELA 2 –	TAXA DE FÍGADOS INFECTADOS POR <i>F.HEPATICA</i> E MÉDIA DE TEMPERATURA (°C) DOS MUNICÍPIOS DOS GRUPOS DE ALTO, MODERADO E BAIXO RISCO POR ANO.....	60
TABELA 3 –	DESCRIÇÃO DOS ACHADOS AO EXAME HISTOPATOLÓGICO DOS FÍGADOS INFECTADOS EM GRAU LEVE, MODERADO E ALTO POR <i>FASCIOLA HEPATICA</i> . (+) PRESENÇA LEVE; (++) PRESENÇA MODERADA; (+++) SEVERA PRESENÇA.....	76
TABELA 4 –	MÉDIA DE PESAGENS DE BOVINOS NATURALMENTE INFECTADOS POR <i>FASCIOLA HEPATICA</i> E NEGATIVOS DURANTE O PERÍODO DE JANEIRO E SETEMBRO DE 2009.....	77
TABELA 5 –	VALOR DE P PARA A ANÁLISE DE MONTE CARLO EM CADA UMA DAS SEIS PESAGENS ENTRE O GRUPO NATURALMENTE INFECTADO E O GRUPO NEGATIVO PARA FASCIULOSE ENTRE JANEIRO E SETEMBRO DE 2009.....	78

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
1.1	OBJETIVO GERAL.....	16
1.2	OBJETIVO ESPECÍFICO.....	16
<b>2</b>	<b>FASCIOLA HEPATICA: PERSPECTIVAS NO DIAGNÓSTICO E PREDIÇÃO DE NOVOS CASOS COM USO DE GEOPROCESSAMENTO</b> .....	17
2.1	FASCIULOSE: EPIDEMIOLOGIA.....	19
2.2	IMPACTO ECONÔMICO.....	21
2.3	PATOGENIA E CONTROLE.....	21
2.4	FASCIULOSE COMO ZOONOSE.....	23
2.5	RESISTÊNCIA PARASITÁRIA.....	24
2.6	DIAGNÓSTICO MOLECULAR.....	26
2.7	TÉCNICA DE ELISA PARA ANIMAIS.....	27
2.8	SISTEMA DE INFORMAÇÕES GEOGRÁFICAS (SIG).....	28
2.9	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	31
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	32
<b>3</b>	<b>MAPEAMENTO DO RISCO DE FASCIULOSE BOVINA NO SUL DO BRASIL UTILIZANDO SISTEMA DE INFORMAÇÃO GEOGRÁFICA</b> .....	43
3.1	INTRODUÇÃO.....	45
3.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	47
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
3.4	CONCLUSÃO.....	51
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	52
<b>4</b>	<b>CORRELAÇÃO ENTRE O EXAME HISTOPATOLÓGICO E A ANÁLISE ECONÔMICA PARA INFECÇÃO DE FASCIOLA HEPATICA EM BOVINOS</b> .....	62
4.1	INTRODUÇÃO.....	64
4.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	65
4.2.1	<i>Área experimental e animais</i> .....	65
4.2.2	<i>Exames coproparasitológicos</i> .....	66
4.2.3	<i>Histopatologia</i> .....	66
4.2.4	<i>Estatística, análise de risco</i> .....	66
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
4.3.1	<i>Histopatologia</i> .....	67

4.3.2	<i>Análise e Impacto econômico</i> .....	68
4.4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	70
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	72
5	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	83
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	85
	<b>ANEXOS</b> .....	87

## 1 INTRODUÇÃO

A *Fasciola hepatica* é um parasito Trematódeo que parasita o fígado e é comumente encontrado em ruminantes, mas com a possibilidade de infectar o ser humano, equinos e suínos. Animais silvestres também são suscetíveis à infecção, podendo, inclusive, funcionar como reservatórios e disseminadores do agente. É o agente etiológico da Fasciolose, que ocorre principalmente em regiões temperadas onde o clima é favorável ao desenvolvimento. As principais condições climáticas incluem temperatura (entre 10 a 25°C) e umidade do solo (acima de 70%), que favorecem o crescimento do hospedeiro intermediário do parasito, o molusco do gênero *Lymnaea*, o qual apresenta três representantes no Brasil: *Lymnaea columella*, *L. viatrix* e *L. cubensis* (MAURE et al., 1998). O parasito adulto mede entre 20 e 50mm de comprimento e 6 e 12mm de largura, habitando os ductos biliares de seus hospedeiros.

Além de sua importância como zoonose, a fasciolose também é uma doença de grande importância econômica para a sanidade de rebanhos bovinos. É responsável por causar prejuízos econômicos em vários países, com prevalências que variam em torno de 60% nos EUA, 20% em países da Europa e a 10% na Oceania (TORGERSON et al, 1999) e perdas de até U\$ 3 bilhões anuais sobre a produtividade do rebanho (BORAY, 1994). No estado do Rio Grande do Sul, no Sul do Brasil, em dados oriundos do Ministério da Agricultura sobre a prevalência da *F. hepatica* em bovinos foi verificado uma média de 14,67% de fígados bovinos condenados (KLIMIONTE e MOLENTO, 2005), com enorme variabilidade entre os rebanhos. Dessa forma, é imprescindível buscar o maior conhecimento dessa enfermidade, tanto em estudos a campo, quanto em achados de frigoríficos. É de suma importância, também, buscar o melhoramento de técnicas no estudo da Fasciolose, para se obter uma maior eficiência e rapidez no diagnóstico desta doença. No caso do Rio Grande do Sul, que apresenta geografia e topografia propícias, as atividades agropecuárias (como, por exemplo, o plantio de arroz e o uso de pastagens alagadas) favorecem o desenvolvimento de hospedeiros intermediários, e a criação de animais infectados nessas áreas, propicia que *F. hepática* complete seu ciclo evolutivo.

Em bovinos com fasciolose verifica-se diminuição gradual de peso, fraqueza, anemia, hipoproteinemia e edema subcutâneo, particularmente na região submandibular e no abdômen (BOWMAN, 1995). Histologicamente, os hepatócitos mostram-se degenerados e preenchidos com sangue e detritos, além de pigmentos sanguíneos e eosinófilos. Na forma crônica da fasciolose, ocorre colangite ulcerativa, com exuberância fibrosa nas paredes dos ductos. Observam-se, também, infiltrados mono e polimorfonucleares (BORDIN, 1995).

O diagnóstico é realizado utilizando técnicas coproparasitológicas, em que o método de Quatro Tamises (GIRÃO E UENO, 1994) é o mais indicado devido a sua especificidade em detectar os ovos deste parasito. KLEIMAN et al. (2005) compararam a sensibilidade de dois métodos de diagnósticos parasitológicos (padrão de sedimentação fecal e Tamisação) e concluíram que pelo método padrão de sedimentação se subestima a contagem de ovos, sendo o método de Tamisação mais confiável.

Nos últimos anos, o número de seres humanos infectados por *Fasciola* spp. aumentou significativamente, e várias áreas geográficas agora são consideradas endêmicas para a doença (MAS-COMA et al., 1999). Estima-se que no mundo 17 milhões de seres humanos estejam infectados com *Fasciola* spp., e em alguns países, como Bolívia, Peru e Egito, a doença é considerada hiperendêmica (ROKNI et al. 2002), com alta patogenicidade e de grande impacto para seres humanos (CHEN e MOTT, 1990). Em áreas endêmicas, a doença ocorre frequentemente associada com a ingestão de agrião ou de outras plantas aquáticas (BORAY et al., 1997). Portanto, é importante que as áreas utilizadas para o cultivo, sejam as cercadas e irrigadas, de modo a impedir a contaminação das valas com fezes de animais (REY, 1991). Em países asiáticos, pratos especiais preparados com fígado cru são frequentemente consumidos e a infecção humana se dá justamente pela ingestão desses alimentos (SCHACHER et al., 1965).

O uso da ferramenta de Geoprocessamento ou Sistema de Informações Geográficas (SIG) pode ser muito útil e inovador no controle e monitoramento de doenças, inclusive da Fasciolose, tanto animal quanto humana. Para isso, utiliza-se o programa de Geoprocessamento, o qual correlaciona informações de uma determinada doença com a localização geográfica em diferentes áreas, criando, desta forma, mapas epidemiológicos para a pesquisa e um melhor visualização do problema.

Portanto, devido ao crescente número de casos de fasciolose animal e humana, o estudo da epidemiologia sanitária com o uso do Geoprocessamento se faz necessário como forma de auxiliar no controle e prevenção dessa doença.

### 1.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a frequência de *F. hepatica* em bovinos na região Sul do Brasil, considerando o impacto econômico para a bovinocultura, e confeccionar, mapas epidemiológicos com o uso do Geoprocessamento.

### 1.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Determinar a ocorrência da *F. hepatica* em bovinos de corte por meio de exames parasitológicos;
- Analisar as alterações histopatológicas de fígados bovinos infectados pela *F. hepatica*;
- Estudar os riscos de prejuízos causados pela fasciolose bovina. com o uso da análise estatística de Monte Carlo.

## 2 *Fasciola hepatica*: PERSPECTIVAS NO DIAGNÓSTICO E PREDIÇÃO DE NOVOS CASOS COM USO DE GEOPROCESSAMENTO

### RESUMO

*Fasciola hepatica* é um parasito que se localiza no fígado de ruminantes, podendo ser encontrado em várias espécies animais, entre elas, em equinos, suínos e humanos. O parasito pertence à classe Trematoda, sendo o agente responsável pela doença denominada fasciolose, a qual ocorre principalmente em regiões temperadas, com clima favorável para o desenvolvimento das formas imaturas no ciclo epidemiológico. Tais condições devem auxiliar no desenvolvimento do hospedeiro intermediário, o molusco do gênero *Lymnaea*. Existe uma crescente preocupação quanto ao número de casos humanos diagnosticados de regiões cujo saneamento básico é inadequado, da presença de animais infectados e da cultura em consumir hortaliças de áreas contaminadas cruas ou pouco cozidas. O parasitismo em animais domésticos pode levar a uma queda no desempenho animal e seu controle é realizado, principalmente, com o uso do medicamento triclabendazole. Entretanto, relatos quanto à resistência do patógeno a este produto vêm sendo descritos, inclusive no Brasil. O conhecimento da epidemiologia da fasciolose animal, incluindo sua ocorrência, distribuição e monitoramento estão sendo retomados, agora com a utilização do sistema de informação geográfica e com técnicas laboratoriais como o ELISA e a PCR. Este artigo aborda relatos recentes da *F. hepatica*, compilando avanços quanto a sua epidemiologia, diagnóstico e a interação como uma zoonose relevante.

Palavras chave: Fasciolose. Zoonose. Doenças parasitárias. Incidência.

## **FASCIOLA HEPATICA: PERSPECTIVES IN DIAGNOSIS AND PREDICTION OF NEW CASES WITH USE OF GEOGRAFIC INFORMATION SYSTEM**

### **ABSTRACT**

*Fasciola hepatica* is a parasite that is located in the liver of ruminants, with the possibility to infect horses, pigs and humans. The parasite belongs to the class Trematoda, and the agent causing the disease called fasciolosis. This disease occurs mainly in temperate regions, where the climate is favorable for the development of the organism. These conditions must favor the development of intermediate host, the snail of the genus *Lymnaea*. Currently, there is growing concern about the increase in the number of cases in humans from regions where sanitation is inadequate with the presence of infected animals and the consumption of contaminated vegetable crops at these sites. The infection in domestic animals can lead to the decrease in production, and accounts for resistance of the pathogen to the triclabendazole drug that is constantly being used. Knowledge of the epidemiology of animal fasciolosis, including their occurrence, distribution and monitoring, is getting a new progress, now with the usage of the Geographic Information System, and laboratory techniques such as PCR and ELISA. The objective is to predict and diagnose the disease as well as to develop a fast triclabendazole-resistance molecular marker and the evolution of animal and human cases. This study provides an overview of *Fasciola hepatica*, covering aspects of epidemiology, diagnosis and the interaction as an important zoonosis.

Keywords: Fasciolosis, zoonosis, parasitology diseases, diagnostic, incidence.

## 2.1 FASCILOSE: EPIDEMIOLOGIA

A fasciolose pode ser causada por duas espécies de trematódeos, *Fasciola hepatica* e *F. gigantica*. *F. hepatica* é encontrada predominantemente em regiões de clima temperado e nas Américas, sendo a única espécie de ocorrência comprovada no Brasil, enquanto a *F. gigantica* se localiza em regiões tropicais da África e Ásia. Existe a sobreposição na distribuição das duas espécies na região Central Asiática e no Leste Africano, onde formas híbridas do parasito foram isoladas (MAS-COMA, 2005). *F. hepatica* mede entre 20 a 50 mm de comprimento e 6 a 12 mm de largura, e na fase adulta, habita os ductos biliares de várias espécies de hospedeiros, entre eles; ruminantas, equínos, cervos, coelhos, lebres, ratos, camundongos, inclusive humanos (TAYLOR et al., 2007). Portanto, o sucesso da *F. hepatica* como parasito deve-se em parte da sua capacidade em infectar e completar seu ciclo no amplo leque de mamíferos hospedeiros.

A ocorrência dessa parasitose também está fundamentalmente associada à presença do molusco do gênero *Lymnaea*, que atua como hospedeiro intermediário do agente, eliminando a fase de cercária (MAS-COMA, 2005). Adicionalmente, a temperatura entre 10 a 25°C, a baixa altitude topográfica, a vasta hidrografia com presença de áreas alagadas e banhados, o cultivo de arroz irrigado e a criação animal extensiva, são fatores que contribuem para a manutenção do molusco e disseminação da fasciolose (ANDREW, 1999). Estes fatores são importantes para o desenvolvimento de grandes quantidades de metacercárias, necessárias para que ocorram altas taxas de infecção (TAYLOR et al., 2007). A reprodução dos caramujos, com o consequente desenvolvimento de *F. hepatica* em seu interior, ocorre quando a temperatura diurna/noturna está acima de 10°C. Entretanto, somente quando as temperaturas atingem 15°C e se mantêm acima deste nível é que ocorre significativa multiplicação de caramujos e desenvolvimento de estágios larvais do Trematoda, juntamente com as condições ambientais citadas acima.

Bowman (1995) enfatizou que mesmo após a estação de seca, alguns locais se mantêm parcialmente úmidos, suportando o pastejo dos animais. Nestes locais, as metacercárias, e sua consequente ingestão propicia o desenvolvimento da doença.

Em países como o Chile, Estados Unidos, Irlanda e Egito, os problemas endêmicos de fasciolose estão associados a regiões de baixa altitude, tendo em vista os fatores desfavoráveis que podem ser encontrados em regiões de alta altitude, como a maior taxa de evaporação da umidade do solo e as baixas temperaturas. Estas áreas também apresentam terrenos mais montanhosos, dificultando assim, o acúmulo de água e a formação de alagados e, conseqüentemente, a menor sobrevivência do hospedeiro intermediário. Na região Sul do Brasil, municípios os quais se encontram a níveis de até 154m acima do mar, apresentaram maiores índices de bovinos infectados com fasciola, demonstrando o fator altitude como propício para o desenvolvimento da doença (DUTRA et al., 2009). Entretanto, Dalton (1999) relatou áreas hiperendêmicas de fasciolose no altiplano Peruano, em altitudes de 1500 acima do nível do mar.

A fasciolose tem um grande impacto na economia mundial, devido a diminuição na produção de carne de ruminantes (MAS-COMA, 2005). A alta prevalência da fasciolose em bovinos tem sido relatada na maioria dos continentes e é um grave problema em países como Chile (94%), Estados Unidos (52,7% - Flórida 68%), Irlanda (45%), Espanha (29,5%), Turquia (29,3%), Peru (29%), Alemanha (10,7%), Marrocos (10,4%), Camboja (10%) e Nova Zelândia (8,5%) (TUM et al., 2007, TORGERSON et al., 1999). Klimionte et al. (2005) verificaram que os municípios de Boa Vista do Inca, Maquiné e Presidente Lucena no Rio Grande do Sul apresentam incidência de 68, 84, e 91%, respectivamente. De acordo com dados recentes da média de achado de parasitos no fígado de bovinos oriundos de estados que possuem Frigoríficos sob Inspeção Federal, (Figura 1) o Rio Grande Sul e Santa Catarina, taxas acima de 10% entre 2003 a 2008, seguidos de Rio de Janeiro e Paraná (DUTRA et al., 2009b). As informações foram obtidas no Banco de dados do Sistema de Informações Gerenciais do Serviço de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura (SIGSIF/MAPA) e então anexadas em planilha do programa Microsoft Excel. Todo esse procedimento serve para a correlação com o programa de Geoprocessamento, uma vez que quanto maior e mais completa as informações anexadas ao programa, mais completa será a confecção do mapa. No caso da figura 1, foi obtidas informações de todos os Estados Brasileiros, e na figura 2 de 1.188 municípios da Região Sul do Brasil, resultando em mapas com caráter epidemiológico mais completo e interessante.

## 2.2 IMPACTO ECONÔMICO

O impacto econômico é mais significativo quando a prevalência acima é de 25% e sinais clínicos são evidentes. Estima-se que mais de 300 milhões de bovinos e 250 milhões de ovinos do mundo pastoreiem em áreas onde *F. hepatica* está presente, ocasionando perdas anuais superiores a US\$ 3 bilhões, decorrente da fasciolose bovina em sua forma crônica (OLAECHEA, 2004; MAS-COMA et al., 2005). Foi determinado que os animais podem sofrer uma redução entre 8 e 28% de seu vivo quando infectados experimentalmente com 40 a 140 fasciolas, comparados com o grupo controle (MALONE e CRAIG, 1994).

Muito embora não exista uma avaliação neste sentido, Lima et al. (2009) verificaram que 70% dos animais (n=1.251) foram positivos para *F. hepatica* em testes coprológicos em 16 municípios (16/20) do Estado de Minas Gerais. Em dados oriundos do Ministério da Agricultura sobre a prevalência da *F. hepatica* em bovinos abatidos na região Sul do Brasil, Dutra et al. (2009a) verificaram uma taxa média de infecção em bovinos abatidos nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina de 18,66% e 10,14%, respectivamente entre os anos de 2003 a 2008.

Gavinho et al. (2008) verificaram a prevalência de *F. hepatica* em fígado de bovinos abatidos entre agosto de 2007 a março de 2008, quando foram abatidos 281.366 animais no Paraná. Os autores revelaram que o município de Castro apresentou o maior número de animais positivos, representando 61,6%. Foi demonstrado que seis bovinos de corte moderadamente parasitados com *F. hepatica*, comparados a outros seis sadios de mesma origem destinados ao abate, obtiveram média de peso de 200Kg (+/-5,25) e 212,3Kg (+/-12,4) respectivamente. Esta diferença representou uma perda significativa de 5,8% (P=0,004) e um prejuízo de R\$ 74,00 por animal no período amostrado.

## 2.3 PATOGENIA E CONTROLE

Muito embora a fasciolose seja considerada a principal causa de cirrose hepática em ruminantes (SERRA-FREIRE, 1995), nem todos os estágios da infecção

são igualmente prejudiciais à saúde do rebanho. Síndromes clínicas severas podem estar associadas ao número de parasitos e ao seu estágio, bem como à presença ou ausência de *Clostridium novyi*. A fasciolose é mais grave em ovinos do que em bovinos, devido ao reduzido tamanho do fígado de ovinos e por estes não adquirirem uma resposta imune natural contra o parasito ao longo da idade (FORTES, 2004). Os principais sinais clínicos da enfermidade são a diminuição gradual de peso, fraqueza, anemia, hipoproteinemia e edema subcutâneo, particularmente na região submandibular e no abdômen (BOWMAN, 1995).

A abrasão causada pelas espinhas e a ação da pré-fixação das fasciolas parece representar a maioria dos danos causados no fígado, e a morte do hospedeiro ocorre em consequência da hemorragia induzida por tais lesões. O trematódeo normalmente é encontrado a partir de exame histopatológico *in situ* e exame do conteúdo fecal a procura de ovos (RIET-CORREA et al., 2001). Essas observações são importantes na dinâmica de eventos e estão abertas a muitas interpretações (DALTON, 1999).

O controle da *F. hepatica* em ruminantes é realizado por meio de programas de tratamentos preventivos e estratégicos, que geralmente são baseados em conhecimentos do ciclo de vida do hospedeiro intermediário (ROBERTS e SUHARDONO, 1996). Como a erradicação dos moluscos hospedeiros é impraticável, devido ao alto poder biótico dos mesmos, medidas de controle devem ser adotadas para diminuir a prevalência das metacercarias (DALTON, 1999). Entretanto, a indicação da drenagem de áreas em zonas endêmicas também pode ser dificultada quando essas se consistem de canais de irrigação em lavouras agrícolas (TORGERSON et al., 1999). Mesmo não sendo canais de irrigação, deve ser levado em conta o impacto ambiental. Em áreas úmidas de banhados, o controle de moluscos torna-se difícil, assim como a efetividade na aplicação massal de produtos químicos. A adição de sulfato de cobre pode ser tóxica para ovinos e para a ictiofauna de rios e córregos. A rotação de pastagens pode ser uma boa opção, porém, a rotação de diferentes espécies animais, como ovinos e bovinos, é ineficaz, visto que *F. hepatica* não é um parasito espécie-específico, e pode infectar ambas as espécies (TORGERSON et al., 1999).

O aprimoramento de técnicas para o estudo da fasciolose deve ter o objetivo de obter maior eficiência e rapidez. Neste contexto, o uso da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) e o ELISA estão sendo validadas para seu uso em

rotina no Brasil. Tais técnicas podem facilitar o aprimoramento das indicações de controle e tratamento, assim como a pesquisa da resistência do parasita aos medicamentos específicos. O Sistema de Informações Geográficas (SIG) ou Geoprocessamento permite interpretar dados de informação geográfica, na confecção de mapas de monitoramento, dando suporte as medidas de controle da fasciolose.

## 2.4 FASCIULOSE COMO ZOONOSE

*Fasciola* spp. é considerada uma importante zoonose, com vasta comprovação na literatura (MAS-COMA e BARGUES, 1997; CURTALE et al., 2005; MAS-COMA et al., 2009). Sua importância aumentou significativamente devido a um esforço internacional para elevar sua condição de doença negligenciada para a lista de enfermidades prioritárias da Organização Mundial da Saúde (OMS) (ROKNI et al., 2002). Com o aprimoramento no diagnóstico em seres humanos foi revelado que várias áreas geográficas são consideradas endêmicas para a doença (MAS-COMA, 2005).

A infecção em seres humanos pode ocorrer pelo consumo de pratos especiais preparados com fígado cru em países asiáticos (SCHACHER et al., 1965). Entretanto Boray et al. (1997) afirmaram que a fasciolose humana também está frequentemente associada com a ingestão de agrião ou de outras plantas aquáticas provenientes de áreas infectadas com metacercárias.

Estima-se que 17 milhões de seres humanos estejam infectados com *Fasciola* spp, no mundo, e em países como Bolívia, Peru e Egito, a doença é considerada hiperendêmica (ROKNI et al., 2002; MAS-COMA et al., 2009), diferente do antigo conceito das pessoas infectadas apenas esporadicamente em áreas endêmicas com animais. Nestas áreas endêmicas, altas prevalências nos humanos (mais de 70% em exames coprológicos e a 100% pela sorologia) não parecem necessariamente estar relacionadas à alta prevalência em animais domésticos, podendo estar ou não com a presença de animais infectados (MAS-COMA et al., 2008).

Em seres humanos a fasciolose afeta principalmente crianças e mulheres, infectando mesmo em idades muito precoces (crianças de 1 a 2 anos), geralmente

mostrando um pico por volta de 9 a 11 anos, declinando posteriormente. A alta prevalência pode ser mantida em adultos, sendo de até 40% em algumas comunidades (MAS-COMA et al., 2009). A ampla distribuição, que vai de abaixo do nível do mar (como na área do Mar Cáspio), até a grande altitude de 4.200m no Del Paso Condor, na Venezuela, é uma consequência da grande capacidade do parasito e seu hospedeiro intermediário colonizar novas áreas (GASNIER et al., 2000). Espécies de animais domésticos e silvestres além de ovinos e bovinos também podem desempenhar um papel importante como reservatórios para os seres humanos em diferentes áreas endêmicas, especialmente suínos, asininos e bubalinos, em função do local e do sistema sanitário de criação (MAS-COMA et al., 1997).

A patogenia em humanos pode ser observada com o exame de Ecografia e Tomografia abdominal computadorizada, sendo principalmente a hepatomegalia heterogênea, lesões focais nodulares, hipocaptantes e de aspecto ramificado periférico, com predomínio no lobo direito, ascite e derrame pleural. Na Europa e na América Latina, a terapêutica com triclabendazole, fármaco aprovado apenas para uso veterinário, é utilizado em seres humanos, com sucesso e sem efeitos colaterais significativos (OLIVEIRA et al., 2002). Vários aspectos da fasciolose humana só foram elucidados recentemente e a literatura sobre esta doença, todavia é escassa comparada com a ampla literatura sobre esta enfermidade em animais.

## 2.5 RESISTÊNCIA PARASITÁRIA

Boray (1999) testou a eficiência de vários anti-helmínticos no tratamento da fasciolose e o triclabendazole foi o que apresentou a melhor resposta, sendo o medicamento de escolha para animais infectados. O triclabendazole pertence à família dos benzimidazóis e atua seletivamente na  $\beta$ -tubulina, despolarizando os microtúbulos e causando perda de suas funções em helmintos (ROBINSON et al., 2001). A aplicação de antiparasitários, principalmente o triclabendazole, de forma preventiva vem sendo discutida quanto a sua eficácia, já que foram relatados casos de resistência do parasito na Austrália (BOWMAN, 1995), Irlanda, Reino Unido, Holanda e Espanha (FAIRWEATHER, 2005) e recentemente no Brasil (OLIVEIRA et

al., 2008). Oliveira et al. (2008) verificaram a redução da eficácia do triclabendazole após um surto de *F. hepatica* em criação de ovinos e caprinos em Almirante Tamandaré, PR. As avaliações coproparasitológicas comprovaram que o tratamento curativo com esta droga apresentou uma eficácia de 66,3 e 57,3% em ovinos e caprinos, respectivamente.

O triclabendazole é a única opção de tratamento da fasciolose em seres humanos. Entretanto, nenhum caso de resistência a essa droga foi documentado a partir de casos humanos, embora a ocorrência de tais casos, provavelmente deva ser decorrente do nível de resistência nos animais que servem como reservatório e como fonte de infecção para seres humanos (BRENNAN, 2007).

Mecanismos envolvidos no desenvolvimento da resistência podem resultar de mudanças no local de ação da droga, na captação/saída da molécula e em seu metabolismo. No que diz respeito às mudanças no local de ação da droga, o alvo presumido no parasita é o gene da  $\beta$ -tubulina (OUELLETTE, 2001). O fato da  $\beta$ -tubulina estar presente, não limita a possibilidade de que outro tipo de tubulina exista, e que possua íntrons importantes ou ainda proteínas que atuem conjuntamente no mecanismo de resistência (ROBINSON et al., 2001).

A resistência aos benzimidazóis por trematodas tem sido demonstrada pela simples substituição de aminoácido (fenilalanina por tirosina) na posição 200 da molécula da  $\beta$ -tubulina (ROBINSON et al., 2004). Foi estudado que sequências de  $\beta$ -tubulina cDNA de fasciolas triclabendazole susceptível e resistente não têm diferenças entre suas respectivas sequências primárias de aminoácidos (FAIRWEATHER, 2005).

Uma preocupação é que após o tratamento regular de ovinos com triclabendazole, em uma propriedade com criação conjunta de bovinos, seja possível selecionar genes para resistência, mesmo observando que a *F. hepatica* não é espécie-específica. Desse modo, bovinos que pastejam juntamente com ovinos em determinado local, possam possivelmente, ser infectados com parasitos resistentes oriundos dos ovinos (MOLL et al., 2000).

## 2.6 DIAGNÓSTICO MOLECULAR

Recentemente, várias aplicações tecnológicas utilizando técnicas de biologia molecular têm sido desenvolvidas para o estudo da genética, diagnóstico e resistência de medicamentos em parasitologia veterinária (PRICHARD, 2001; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA e BLACKHALL, 2005; GILLEARD e BEECH, 2007). A reação em cadeia da polimerase (PCR) é uma ferramenta que já foi utilizada na diferenciação das duas espécies de fasciolas no Egito (EL-GOZAMY et al., 2009). Esta diferenciação foi possível devido ao polimorfismo de nucleotídeos dos parasitos, bem como no uso na identificação de espécies intermediárias entre *F. hepatica* e *F. gigantica* (LI et al., 2009).

A PCR vem sendo utilizada para a identificação da *F. hepatica*, tornando possível determinar marcadores para diagnóstico de resistência (FAIRWEATHER, 2005). Robinson et al. (2001) observaram que a *F. hepatica* apresenta somente um gene da  $\beta$ -tubulina, entretanto, é necessário verificar a possível variabilidade do cDNA da  $\beta$ -tubulina entre vários isolados. Em relação a resistência a drogas, diversos isotipos da  $\alpha$  e  $\beta$ -tubulina, que são expressos no parasita adulto, foram identificados e suas regiões de codificação sequenciadas. Após comparação das sequências da  $\beta$ -tubulina de parasitas suscetíveis e resistentes, os isolados indicam que esses contêm a mutação dos ácidos nucleicos em posições implicadas na resistência aos benzimidazoles (200, 196 e 198). Entretanto, algumas diferenças foram determinadas em outras posições do genoma, porém essa mudança só foi relevante para isotipos resistentes (BRENNAN et al., 2007).

O desenvolvimento de protocolos moleculares com técnicas multiplex para identificação de espécies do molusco *Lymnaea* é essencial para estudos epidemiológicos. Carvalho et al. (2004) utilizaram PCR-RFLP direcionados para o primeiro e segundo espaçador interno transcrito (ITS1 e ITS2) do rDNA e do gene mitocondrial 16S ribossomal (rDNAm 16S), usando 12 enzimas de restrição para identificar *L. columella*, *L. viatrix* e *L. diaphana* de localidades do Brasil, Argentina e Uruguai. Esta análise revelou padrões característicos de *L. columella* e *L. diaphana* que foram concordantes com características morfológicas clássicas, mas populações de *L. viatrix* apresentaram até 6 perfis diferentes, dificultando a identificação da espécie. A PCR em tempo real provou ser uma estratégia mais confiável, rápida e

específica do que métodos convencionais para distinguir variantes morfológicamente semelhantes, de um amplo espectro de táxons, incluindo os patógenos bacterianos, protozoários parasitas, espécies de insetos e de ovos e larvas de peixes (WATANABE et al., 2004; ITOI et al., 2005).

## 2.7 TÉCNICA DE ELISA PARA ANIMAIS

A eficácia de fasciolicidas pode ser verificada por avaliação do fígado em exame post-mortem e por meio da contagem de ovos nas fezes (WOOD et al., 1995), porém esses métodos são caros ou trabalhosos em relação a mão de obra (MOLLOY et al., 2005). A sensibilidade da contagem de ovos nas fezes pelo método de Quatro Tamises também é significativamente reduzida quando um pequeno número de ovos é excretado pelo animal (HAPPICH e BORAY, 1969).

Os testes sorológicos para o diagnóstico da infecção por *F. hepatica*, foram recentemente desenvolvidos (SANCHEZ-ANDRADE et al., 2000) e podem fornecer uma ferramenta alternativa, quanto ao método indireto de avaliação da eficácia de fasciolicidas. Entretanto a utilização da sorologia para avaliar a eficácia da quimioterapia pode ser problemática e essas avaliações são realizadas geralmente com base no grau em que as contagens de ovos nas fezes se tornam reduzidas, já que o reconhecimento da IgG sérica específica da *Fasciola* spp pode persistir por longos períodos, mesmo após a remoção das mesmas do fígado (SANCHEZ-ANDRADE et al., 2002). Porém as vantagens do exame sorológico são marcantes, uma vez que a intervenção precoce de quimioterápicos reduz os danos do tecido causados pela migração das formas imaturas do parasito e a excreção fecal de ovos do hospedeiro (MOLLOY et al., 2005).

O diagnóstico precoce da fasciolose, durante o período pré-patente, usando testes para a detecção de anticorpos, pode ser essencial para evitar o impacto negativo da doença sobre a produtividade (SANCHEZ-ANDRADE et al., 2000; DIXIT et al., 2004). Dentre os testes de imunodiagnósticos disponíveis, destaca-se o teste imunoenzimático indireto (ELISA) sendo amplamente indicado para estudos epidemiológicos (BOSSAERT et al., 2000).

O uso do leite para o diagnóstico e vigilância de doenças em bovinos se tornou rotina nos últimos anos (*Ostertagia* sp., *Dictyocaulus* sp., *Cooperia* spp.) e o teste de anticorpos do leite desempenha um papel importante para a implantação de estratégias de controle e tratamento, inclusive para programas de erradicação da fasciolose em muitos países (PRITCHARD, 2001; PRITCHARD et al., 2002). Foi demonstrado que existe uma boa correlação entre o diagnóstico no leite e os títulos de anticorpos séricos nos animais (MOLLOY et al., 2005; PRITCHARD, 2001) inclusive em diferentes épocas do ano. Charlier et al. (2009) encontraram diferenças intersazonais nos níveis de anticorpos específicos para *F. hepatica*, mas não para *Ostertagia*. Para a *F. hepatica* os níveis de anticorpos específicos foram maiores na primavera e outono e esse padrão é o esperado devido a epidemiologia dos trematódeos, onde os vermes adultos são mais presentes no período de inverno, induzindo a níveis mais altos de anticorpos específicos durante o inverno e primavera.

A falta de diferenças intersazonais de anticorpos específicos para *Ostertagia* sp. é surpreendente e não está de acordo com observações anteriores em vacas leiteiras, onde altos níveis de anticorpos específicos foram consistentemente observadas no outono do que primavera (CHARLIER et al., 2009). A grande vantagem da amostragem pelo leite é a facilidade de obtenção da amostra em comparação com a forma invasiva que é a colheita de sangue e/ou de fezes. Na Inglaterra e no País de Gales, o número de casos diagnosticados da fasciolose em bovinos aumentou significativamente, principalmente no gado leiteiro, apesar de a maioria das infecções crônicas terem sido diagnosticadas pelo método de contagem de ovos nas fezes (SALIMI-BEJESTANI et al., 2005).

## 2.8 SISTEMA DE INFORMAÇÕES GEOGRÁFICAS (SIG)

O Sistema de Informações Geográficas (SIG) permite realizar análises de informações complexas, ao integrar dados de diversas fontes, criando um banco de dados georeferenciados. Em um País de dimensões continentais como o Brasil, com carências de informações adequadas para auxiliar na tomada de decisão quanto ao

controle de doenças (leishmaniose, esquistossomose, fasciolose) o SIG apresenta um potencial expressivo de apoio (CARNEIRO et al., 2007).

Os programas que executam as tarefas de geoprocessamento têm o objetivo de correlacionar informações de um determinado evento (doença) com a localização geográfica da área desejada, criando mapas epidemiológicos para melhor visualização do problema e pesquisa de fatores de risco. A tecnologia de softwares apresenta custo relativamente baixo, sendo um dos principais problemas o acesso a um banco de dados confiável, como IBGE, MCT, MAPA, MS e EMBRAPA. As imagens também podem ser adquiridas de fonte gratuita ou pagas, permitindo sua diferenciação de definição e aproximação dos detalhes como temperatura, umidade, topografia, hidrologia e as formas de ocupação, agrícola ou humana (IBGE, 2009).

O SIG tem sido utilizado para produzir modelos para prever o risco e avaliar a Fasciolose na África Oriental (MALONE et al., 1998), Etiópia (YILMA e MALONE, 1998), Estados Unidos (ZUKOWSKI et al., 1993) e mais recentemente no Brasil (DUTRA et al., 2009). Cringoli et al. (1996, 2000 e 2001) utilizaram o SIG em vistorias parasitológicas territoriais para planejar os procedimentos de amostragem em uma área geográfica limitada, e, de forma clara e rápida, criar mapas da distribuição dos parasitos.

Na Itália, estudos com SIG (CRINGOLI et al., 2002) mostraram a distribuição espacial da infecção por fasciolas na região Sul, em três municípios desta região: Campania, Puglia e Basilicata, uma área principalmente montanhosa e que se estende de 100 a 1000m acima do nível do mar. Não há nenhum lago. Entretanto, alguns rios e córregos estão presentes na área. Apenas houve positividade em uma das zonas com pouca concentração de caramujos da área de estudo que tinha bovinos e ovinos infectados nas fazendas.

Malone et al. (1998) e Tum et al. (2007), validaram mapas de risco da *F. hepatica* no Camboja, levando em conta fatores ambientais favoráveis para o ciclo de vida do hospedeiro intermediário, determinando o risco de doença. As fronteiras desses ambientes não são estritamente fixos e podem variar consideravelmente com o clima e outros componentes do ambiente. Isto é esperado quando ocorrerem pequenas mudanças no ambiente, tais como a variação anual das condições meteorológicas (MALONE, 1998). Assim, o uso desta ferramenta traz vários benefícios que agregam informações para melhor tomada de decisões, e pode ser

expandida para pesquisa em rotina de outras doenças de caráter importante e emergente em animais e humanos.

A análise de Kernel ou estimador de intensidade Kernel, é uma ferramenta vinculada aos programas de geoprocessamento que permite estimar a quantidade de eventos por unidade de área em cada célula de uma grade regular que recobre a região estudada (BAILEY e GATRELL, 1995). Esta técnica promove uma suavização estatística, reduzindo a variabilidade dos dados, porém retém as características essenciais do local (ARAÚJO et al., 2007). O grau de alisamento é controlado mediante a escolha de um parâmetro conhecido como 'largura da banda', que indica a área a ser considerada no cálculo e que deverá refletir a escala geográfica da hipótese de interesse (SOUZA et al., 2000).

Na Figura 2 observa-se a utilização desta análise na epidemiologia da fasciolose, durante os anos de 2003 a 2008 no Sul do Brasil. Nestes mapas foi conduzindo o mesmo procedimento para a obtenção dos dados e correlação com o programa como o mapa da Figura 1, porém com a utilização da ferramenta da análise de Kernel. Notadamente, algumas regiões como o Litoral de Santa Catarina, Centro e Extremo Sul do Rio Grande do Sul, permanecem com considerável infecção durante todos os anos. Em Santa Catarina, na área Central do Litoral ocorreu uma diminuição da infecção de 2003 a 2007, porém com um aumento em 2008. Em geral, não há grande mudança no foco da infecção durante todo o período, fato que sugere habitats praticamente fixos e favoráveis para o ciclo da *F. hepática*, mudando apenas seus limites, o que está de acordo com Malone (1998).

Apesar da epidemiologia dos mapas serem com dados de bovinos, o controle e a predileção dos riscos de infecção humana podem ser determinadas primeiramente a partir deles. Uma área endêmica para fasciolose em animais remete ao fato de que há presença de condições favoráveis para o desenvolvimento da mesma, e sistemas de saúde podem correlacionar estas regiões com a concentração e condições sanitárias de populações humanas, bem como acompanhar sua prevalência ao longo dos anos com a análise de Kernel. Consideravelmente, necessita-se de maiores estudos e então correlação com infecções humanas de fasciolose nestas áreas, e então determinar se há ou não relação com infecções nos animais (MAS-COMA et al., 2008) nessas regiões.

## 2.9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Muito embora exista vasta literatura referente ao diagnóstico e controle da fasciolose animal e sua relação com o hospedeiro intermediário, relatos recentes quanto a importância dessa enfermidade como zoonose, tem despertado grande atenção mundial. A grande preocupação, entretanto é o número de casos em seres humanos não notificados ou diagnosticados.

As novas técnicas de biologia molecular como os equipamentos de genotipagem de massa e o uso de imagens de satélite, que permitem o conhecimento da variação espacial e temporal da incidência da doença, demonstram claramente uma importante mudança no planejamento de ações de prevenção e controle.

No Brasil, e em outros países, o maior conhecimento em relação a ocorrência da infecção em animais permitirá que se incorpore a fasciolose no conceito de Saúde Única, englobando a saúde humana, animal e as condições ambientais, monitorando sua dispersão e distribuição espacial.

## REFERÊNCIAS

ANDREWS, S.J. The life cycle of *Fasciola hepatica*. In: **Fasciolosis**. J. DALTON Ed. CAB International, 1999, 543p.

ARAÚJO, K. C. G. M.; RESENDES, A. P. C.; SOUZA-SANTOS, R.; JÚNIOR, J. C. S.; BARBOSA, C. S. Análise espacial dos focos de *Biomphalaria glabrata* e de casos humanos de esquistossomose mansônica em Porto de Galinhas, Pernambuco, Brasil, no ano 2000. **Cadernos de Saúde Pública**. v.23, n.2, p.409-417, 2007.

BAILEY, T.C.; GATRELL, A.C. Interactive spatial data analysis. **International journal of remote sensing**. v.17, n.16, p.3291-3304, 1995.

BORAY, J.C.; FAIRWEATHER I. Fasciolicides: Efficacy, Actions, Resistance and its Management. **Veterinary Journal**. v.158, p.88-91, 1999.

BORAY, J. C.; TAIRA, N.; YOSHIFUJI, H. Zoonotic Potencial of Infection with *Fasciola ssp.* by consumption of Freshly Prepared Raw Liver Containing Immature Flukes. **International Journal for Parasitology**. v.27, p.775-779, 1997.

BOSSAERT, K. ; FARNIR, F. ; LECLIPTEUX, T. ; PROTZ, M. ; LONNEUX, J. ; LOSSON, B. Humoral immune response in calves to single-dose, trickle and challenge infections with *Fasciola hepatica*. **Veterinary Parasitology**. v.87, p.103–123, 2000.

BOWMAN, D.D. **Parasitology for Veterinarians**. 6th ed. Philadelphia, EUA, W.B. Saunders, 1995, 430p.

BRENNAN, G.P.; FAIRWEATHER, I.; TRUDGETT, A.; HOEY, E.; MCCOY, M.; MEANEY, M.; ROBINSON, M.; MCFERRAN, N.; RYAN, L.; LANUSSE, C.; MOTTIER, L.; ALVAREZ, L.; SOLANA, H.; VIRKEL, G.; BROPHY, P.M. Understanding triclabendazole resistance. **Experimental and molecular pathology**. v.82, p.104–109, 2007.

CARLTON, W.W.; MCGAVIN, M.D. **Patologia Especial Veterinária de Thomson**. 2nd ed. Artmed. Porto Alegre, 1998, 672p.

CARNEIRO, D.D.; BAVIA, M.E.; ROCHA, W.J.; TAVARES, A.C.; CARDIM, L.L.; ALEMAYEHU, B. Application of spatio-temporal scan statistics for the detection of areas with increased risk for American visceral leishmaniasis in the state of Bahia, Brazil. **Geospatial Health**. v.2, n.1, p.113-26, 2007.

CARVALHO, O.S.; CARDOSO, P.C.; LIRA, P.M.; RUMI, A.; ROCHE, A.; BERNE, E.; MÜLLER, G.; CALDEIRA, R.L. The use of the polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism technique associated with the classical morphology for characterization of *Lymnaea columella*, *L. viatrix*, and *L. diaphana* (Mollusca: Lymnaeidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v.99, p.503–507, 2004.

CHARLIER, J.; CAT, A.D.; FORBES, A.; VERCRUYSSSE, J. Measurement of antibodies to gastrointestinal nematodes and liver fluke in meat juice of beef cattle and associations with carcass parameters. **Veterinary Parasitology**. v.166, p.235–240, 2009.

CRINGOLI, G.; DEL VECCHIO, U.; CAPUANO, F.; VENEZIANO, V. Application of geographical information systems (GIS) to parasitology: a case study in southern Italy. **Parassitology**. v.38, p.282, 1996.

CRINGOLI, G.; CAPUANO, F.; VENEZIANO, V.; RINALDI, L. Territorial maps of helminths in cattle bred in the Avellino area (southern Italy). **Parassitology**. v.42, n.1, p.86, 2000.

CRINGOLI, G.; RINALDI, L.; VENEZIANO, V.; CAPELLI, G. A prevalence survey and risk analysis of filariasis in dogs from the Mount Vesuvius area of southern Italy. **Veterinary Parasitology**. v.102, p.243–252, 2001.

CRINGOLI, G.; RINALDI, L.; VENEZIANO, V.; CAPELLI, G.; MALONE, J.B. A cross-sectional coprological survey of liver flukes in cattle and sheep from an area of the southern Italian Apennines. **Veterinary Parasitology**. v.108, p.137–143, 2002.

CURTALE, F.; HASSANEIN, Y. A. W.; SAVIOLI, L. Control of human fascioliasis by selective chemotherapy: Design, cost and effect of the first public health, school-based intervention implemented in endemic areas of the Nile Delta, **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v.99: p.599 – 609, 2005.

DALTON, J.P. **Fasciolosis**. Londres. Cab International, 1999, 543p.

DIXIT, A.K. ; YADAV, S.C. ; SHARMA, R.L. Experimental bubaline fasciolosis: kinetics of antibody response using 28 kDa *Fasciola gigantica* cysteine proteinase as antigen. **Tropical animal health and production**. v.36, p.49–54, 2004.

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**. 2009a, *In press*.

DUTRA, L.H.; MOLENTO, M.B.; NAUMANN, C.R.C.; FORTES, F.S.; SAVIO, D.; MALONE, J.B. Epidemiologia da fasciolose bovina com auxílio do sistema de informação geográfica na região sul. **Anais XXI Congresso Brasileiro de Parasitologia**, Foz do Iguaçu. 2009b. (Resumo)

EL-GOZAMY, B.R.; SHOUKRY, N.M. Identification of Egyptian *Fasciola* species by PCR and restriction endonucleases digestion of the nuclear small subunit ribosomal RNA gene. **Journal of Egyptian Society for Parasitology**. v.39, n.2, p.429-438, 2009.

FAIRWEATHER, I. Triclabendazole: new skills to unravel an old(ish) enigma. **Journal of Helminthology**. v.79, p.227-234, 2005.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. 4<sup>o</sup> ed. São Paulo, 2004, 607p.

GASNIER, N.; RONDELAUD, D.; ABROUS, M.; CARRERAS, F.; BOULARD, C.; DIEZ-BANHOS, P. Allopatric combination of *Fasciola hepatica* and *Lymnaea truncatula* is more efficient than sympatric ones. **International Journal for Parasitology**. v.30, p.573–578, 2000.

GAVINHO, B.; KULEK, A.C.G.; MOLENTO, M.B. Determinação quantitativa e distribuição geográfica de *Fasciola hepatica* em bovídeos abatidos no frigorífico Argus, São José dos Pinhais, PR. **Relatório técnico**, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, Outubro, CD-Rom. 2008. 46pp.

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

HAPPICH, F.A.; BORAY, J.C. Quantitative diagnosis of chronic fascioliasis: Comparative studies on quantitative faecal examinations for chronic *Fasciola hepatica* infection in sheep. **Australian Veterinary Journal**. v.45, p.326–328, 1969.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE), Banco de Dados Agregados – SIDRA, 2009, disponível em <http://www.sidra.ibge.gov.br/>. Acesso em: 10 de Novembro de 2009.

ITOI, S.; NAKAYA, M.; KANEKO, G.; KONDO, H.; SEZAKI, K.; WATABE, S. Rapid identification of eels *Anguilla japonica* and *Anguilla anguilla* by polymerase chain reaction with single nucleotide polymorphism-based specific probes. **Fisheries science**. v.71, p.1356–1364, 2005.

KLEIMAN, F.; PIETROKOVSKY, S.; GIL, S.; WISNIVESKY-COLLI, C. Comparison of two coprological methods for the veterinary diagnosis of fasciolosis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.57, p.181-185, 2005.

KLIMIONTE, R.; MOLENTO, M.B.; TIELET, C.; GAVIÃO, A.A. Ocorrência de *Fasciola hepatica* no fígado de bovinos abatidos no Rio Grande do Sul, RS, Brasil. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia, XXI, **Anais**, Porto Alegre, CD-Rom. 2005.

LI, Q.Y.; DONG, S.J.; ZHANG, W.Y.; LIN, R.Q.; WANG, C.R.; QIAN, D.X.; LUN, Z.R.; SONG, H.Q.; ZHU, X.Q. Sequence-related amplified polymorphism, an effective molecular approach for studying genetic variation in *Fasciola spp.* of human and animal health significance. **Electrophoresis**. v.30, n.2, p.403-409, 2009.

LIMA, W. S.; SOARES, L. R. M.; BARÇANTE, T. A.; GUIMARAES, M. P.; BARÇANTE, J. M. P. Occurrence of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) infection in Brazilian cattle of Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.18, n.2, p.27-30, 2009.

MALONE, J.B.; CRAIG, T.M. Cattle Liver Flukes: Risk Assessment and Control. The Compendium – **Food Animal Parasitology**, 1<sup>st</sup> ed, Canyon, Texas, p.747-753, 1994.

MALONE, J.B.; GOMMES, R.; HANSEN, J.; YILMA, J.M.; SLINGENBERG, J.; SNIJDERS, F.; NACHTERGAELE, F.; ATAMAN, E. A geographic information system on the potential distribution and abundance of *Fasciola hepatica* and *F. gigantica* in east Africa based on food and agriculture organization databases. **Veterinary Parasitology**. v.78, p.87-101, 1998.

MAS-COMA, S.; BARGUES, M.D. Human liver flukes: A review. **Research Review of Parasitology**. v.57, p.145–218, 1997.

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

MAS-COMA, S.; VALERO, M.A.; BARGUES, M.D. Climate change effects on trematodiasis, with emphasis on zoonotic fascioliasis and schistosomiasis. **Veterinary Parasitology**. v.3, p.24-30, 2008.

MAS-COMA, S.; VALERO, M. A.; BARGUES, M. D. Fasciola, Lymnaeids and Human Fascioliasis, with a Global Overview on Disease Transmission, Epidemiology, Evolutionary Genetics, Molecular Epidemiology and Control. **Advances in Parasitology**. v.69, p.44-68, 2009.

MOLL, L.; COR, P.H.; GAASENBEEK, C.P.H.; VELLEMA, P.; BORGSTEEDE, F.H.M. Resistance of *Fasciola hepatica* against Triclabendazole in cattle and sheep in The Netherlands. **Veterinary Parasitology**. v.91, p.153–158, 2000.

MOLLOY, J.B.; ANDERSON, G.R.; FLETCHER, T.I.; LANDMANN, J.; KNIGHT, B.C. Evaluation of a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay for detecting antibodies to *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* in cattle, sheep and buffaloes in Australia. **Veterinary Parasitology**. v.130, p.207–212, 2005.

OLAECHEA, F.V. *Fasciola hepatica*. Redacción de Helmintología de FAO para América Latina y el Caribe. **Conferencia Electronica**. 2004.

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

OLIVEIRA, L.; CORREDOURA, A.S.; BEATO, V.; MORAES, F.; SOUZA, S.; PINHEIRO, N.; GRAÇA, J. P.; ABECASIS, P. Fasciolíase hepática humana tratada com triclabendazol. **Medicina Interna**. v.9, n.1, p.39-42, 2002.

OUELLETTE, M. Biochemical and molecular mechanisms of drug resistance in parasites. **Tropical medicine and international health**. v.6, p.874–882. 2001.

PRICHARD, R.; TAIT, A. The Role of Molecular Biology in Veterinary Parasitology. **Veterinary Parasitology**. v.98, p.169-194, 2001.

PRITCHARD, G.C. Milk antibody testing in cattle. **In practice**. v.23, p.542–549, 2001.

PRITCHARD, G.C.; KIRKWOOD, G.M.; SAYERS, A.R. Detecting antibodies to infectious bovine rhinotracheitis and BVD virus samples from individual cows. **Veterinary Record**. v.150, p.182–183, 2002.

REY, L. **Parasitologia**. 2<sup>o</sup> ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 1991, 731p.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MÉNDEZ, M.C.; LEMOS, R.A.A. **Doenças de Ruminantes e Eqüinos**. 2<sup>a</sup> ed. Varela. São Paulo. 2001, 658p.

ROBERTS, J.A.; SUHARDONO. Approaches to the Control of Fasciolosis in Ruminants. **International Journal for Parasitology**. v.26, n.9, p.971-981, 1996.

ROBINSON, M.W.; TRUDGETT, A.; HOEY, E.M.; FAIRWEATHER, I. Triclabendazole-resistant *Fasciola hepatica*: b-tubulin and response to *in vitro* treatment with triclabendazole. **Parasitology**. v.124, p.325-338, 2001.

ROBINSON, M.W.; LAWSON, J.; TRUDGETT, A.; HOEY, E.M.; FAIRWEATHER, I. The comparative metabolism of triclabendazole sulphoxide by triclabendazole-susceptible and triclabendazole-resistant *Fasciola hepatica*. **Parasitology Research**. v.92, p.205–210, 2004.

ROKNI, M.B.; MASSOUD, J.; O'NEILL, S.M.; PARKINSON, M.; DALTON, J.P. Diagnosis of Human fasciolosis in the Gilan providence of Northern Iran: application of cathepsin L\_ELISA. **Parasitology**. v.44, p.175-179, 2002.

SALIMI-BEJESTANI, M.R.; DANIEL, R.G.; FELSTEAD, S.M.; CRIPPS, P.J.; MAHMOODY, H.; WILLIAMS, D.J. Prevalence of *Fasciola hepatica* in dairy herds in England and Wales measured with an ELISA applied to bulk-tank milk. **Veterinary Record**. v.156, p.729–731, 2005.

SANCHEZ-ANDRADE, R.; PAZ-SILVA, A.; SUÁREZ, J.; PANADERO, R.; DÍEZ-BANOS, P.; MORRONDO, P. Use of sandwich enzyme linked immunosorbent assay for the diagnosis of natural *Fasciola hepatica* infection in cattle, Galicia (NW Spain). **Veterinary Parasitology**. v.93, p.39–46, 2000.

SANCHEZ-ANDRADE, R.; PAZ-SILVA, A.; SUÁREZ, J.L.; PANADERO, R.; PEDREIRA, J.; LÓPEZ, C.; DÍEZ-BANOS, P.; MORRONDO, P. Influence of age and breed on natural bovine fascioliasis in an endemic area (Galicia, NW Spain). **Veterinary Research**. v.26, p.361–370, 2002.

SANTOS, J.A. **Patologia Especial dos Animais Domésticos**. 2nd Ed. Ed. Guanabara. Rio de Janeiro. 1986, 576p.

SERRA-FREIRE, N.M.; BORDIN, E.L.; LESSA, C.S.; SCHERER, P.O.; FARIAS, M.A.; MALACCO, T.C.; CORRÊA, T.C.; TSCHUMI, J.A. Reinvestigação sobre a distribuição da *Fasciola hepatica* no Brasil. **A Hora Veterinária**. v.1, p.23-34, 1995.

SCHACHER, J.F.; KHALIL, G.M.; SALMAN, S. A field study on Halzoun (parasitic pharyngitis) in Lebanon. **The American journal of tropical medicine and hygiene**. v.68, p.226-237, 1965.

SOUZA, S.R.; CARVALHO, M.S. Análise da distribuição espacial de larvas de *Aedes aegypti* na Ilha do Governador, Rio de Janeiro, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**. v.16, p.31-42, 2000.

TAYLOR, M.A.; COOP, R.L.; WALL, R.L. **Veterinary Parasitology**. 3rd ed. Blackwell Publishing. Oxford. 2007, 874p.

THOMAS, A.P.W. The life history of the liver fluke (*Fasciola hepatica*). **Records of Microbiology Society Transactions**. v.23, p.99-133, 1883.

TORGERSON, P.; CLAXTON, J. Epidemiology and Control, p.113-139. In: DALTON J.P. **Fasciolosis**. Londres. Cab international. 1999, 543p.

TUM, S.; PUOTINEN, M.L.; SKERRATT, L.F.; CHAN, B.; SOTHOEUN, S. Validation of a geographic information system model for mapping the risk of fasciolosis in cattle and buffaloes in Cambodia. **Veterinary Parasitology**. v.143, p.364–367, 2007.

UENO, H.; GUTIERRES, V.C.; MATTOS, M.J.; MÜLLER, G. Fasciolosis problems in ruminants in Rio Grande do Sul, Brazil. **Veterinary Parasitology**. v.11, p.185-191, 1982.

VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; BLACKHALL, W. Will technology provide solutions for drug resistance in veterinary helminths? **Veterinary Parasitology**. v.132, p.223-239, 2005.

YILMA, J.M.; MALONE, J.B. A geographic information system forecast model for strategic control of fasciolosis in Ethiopia. **Veterinary Parasitology**. v.78, p.103–127, 1998.

ZUKOWSKI, S.H.; WILKERSON, G.W.; MALONE, J.B. Fasciolosis in cattle in Louisiana. Development of a system to use soil maps in a geographic information

system to estimate disease risk on Louisiana coastal marsh rangeland. **Veterinary Parasitology**. v.47, p.51–65, 1993.

WATANABE, S.; MINEGISHI, Y.; YOSHINAGA, T.; AOYAMA, J.; TSUKAMOTO, K. A quick method for species identification of Japanese eel (*Anguilla japonica*) using real-time PCR: an onboard application for use during sampling surveys. **Marine Biotechnology**. v.6, p.566–574. 2004.

WOOD, I.B.; AMARAL, N.K.; BAIRDEN, K.; DUNCAN, J.L.; KASSAI, T.; MALONE, J.B.; PANKAVICH, J.A.; REINECKE, R.K.; SLOCOMBE, O.; TAYLOR, S.M.; VERCRUYSSSE, J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). **Veterinary Parasitology**. v.58, p.181–213, 1995.

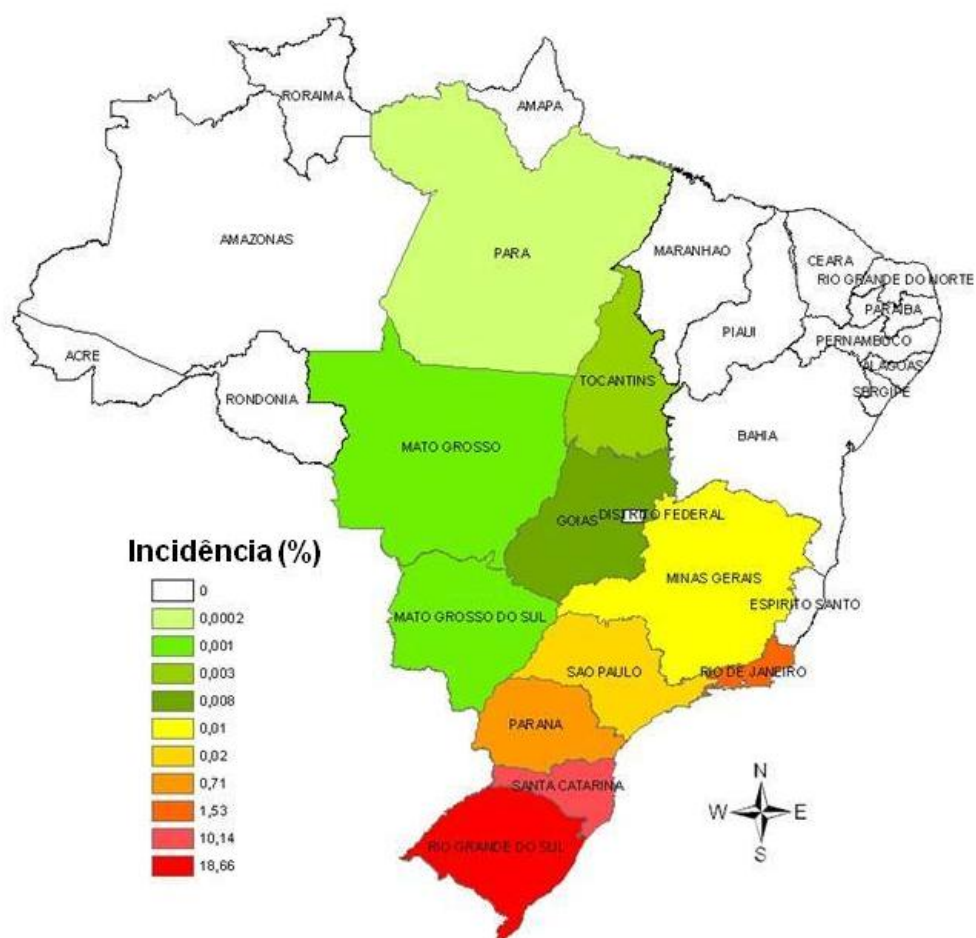


FIGURA 1 - MAPA DO BRASIL E PERCENTUAL (%) DE INCIDÊNCIA DE *FASCIOLA HEPATICA* ENCONTRADA NO FÍGADO DE BOVINOS ABATIDOS EM ESTADOS COM SERVIÇO DE INSPEÇÃO FEDERAL DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA, NO PERÍODO DE 2003 A 2008.

FONTE: O autor (2009)

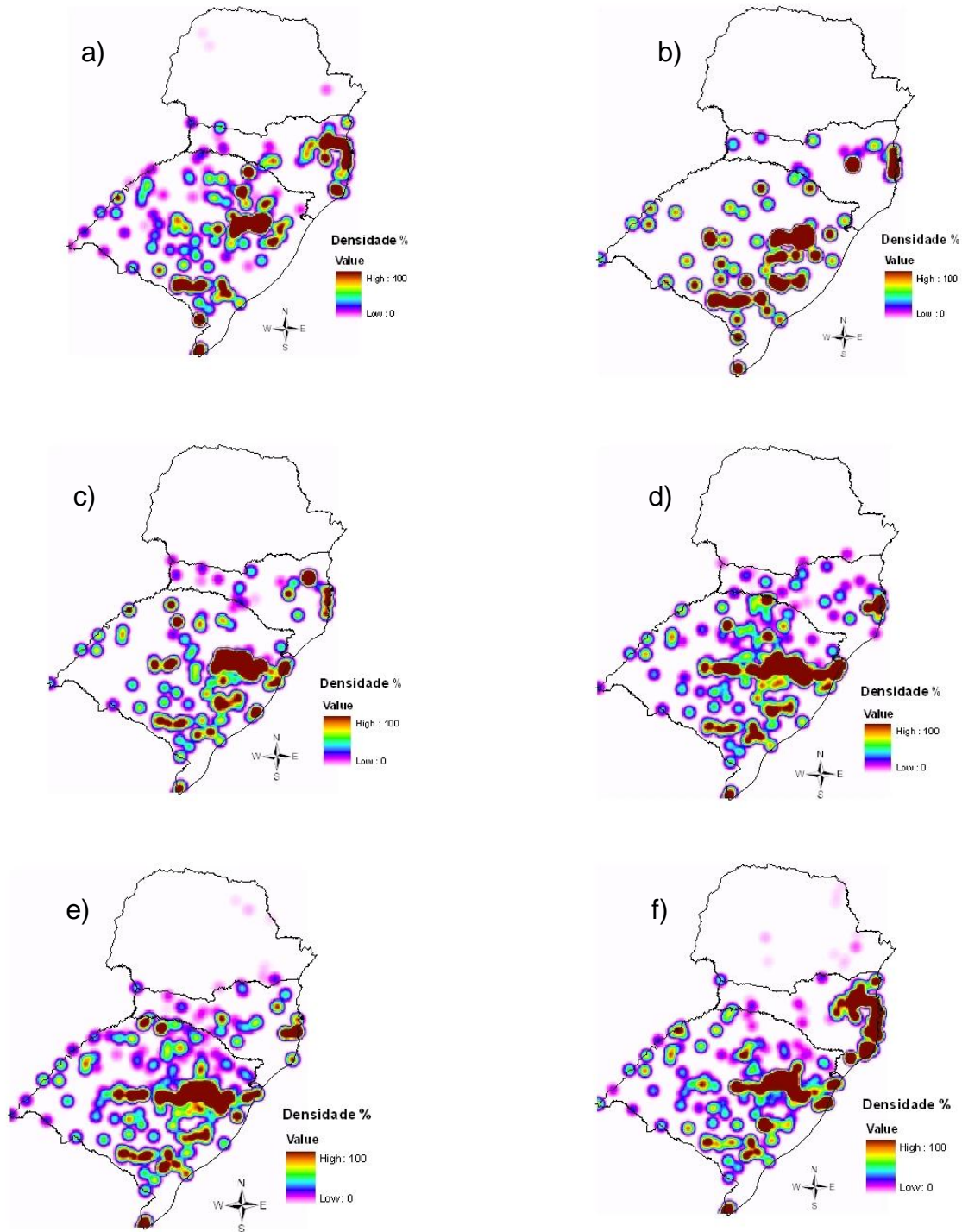


FIGURA 2 - DENSIDADE DE FÍGADOS DE BOVINOS INFECTADOS COM *FASCIOLA HEPATICA* PROVENIENTE DO SERVIÇO DE INSPEÇÃO FEDERAL (MAPA) UTILIZANDO A ANÁLISE DE KERNEL PARA MUNICÍPIOS DO SUL DO BRASIL ENTRE OS ANOS DE a) 2003; b) 2004; c) 2005; d) 2006; e) 2007; f) 2008  
 FONTE: O autor (2009)

### 3 MAPEAMENTO DO RISCO DE FASCIULOSE BOVINA NO SUL DO BRASIL UTILIZANDO SISTEMA DE INFORMAÇÃO GEOGRÁFICA

#### RESUMO

A Fasciolose, causada pela *Fasciola hepatica*, é uma doença endêmica dos ruminantes que ocorre em vários países da América do Sul onde pode levar à diminuição da produção e da fertilidade e, em casos graves, morte de animais. Apesar de muito prevalente, informações sobre a epidemiologia da doença no Brasil é incompleto. O presente estudo foi realizado com o objetivo de determinar a prevalência de *F. hepatica* no fígado de bovinos em matadouros e correlacionar os dados com a origem do animal (clima e altitude), usando o Sistema de Informação Geográfica (SIG). Os dados foram usados para criar um mapa epidemiológico da fasciolose por estado (Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná), por município (n = 530) e por ano (2003 a 2008). As informações foram analisadas usando um banco de dados de matadouros com Serviço de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura. A maior taxa de infecção bovina foi encontrada em dois estados do Sul do País: Rio Grande do Sul (18,7%) e Santa Catarina (10,1%). Os animais provenientes da região da Campanha do Rio Grande do Sul e da região Central do Litoral de Santa Catarina apresentaram prevalências superiores a 40%. Os bovinos dos municípios de baixa altitude tiveram significativamente maiores taxas da doença ( $p < 0,05$ ). Não foram encontradas diferenças significativas entre alta ou baixa prevalência e temperatura ambiente. Os mapas de riscos decorrentes do presente estudo fornecem informações sobre a epidemiologia e transmissão de *F. hepatica* no Sul do Brasil necessária para a concepção de medidas de controle adequadas para controlar os impactos econômicos. A *F. hepatica* pode representar um importante agente de infecção zoonótica para os seres humanos. Portanto estes resultados podem ser complementados por estudos futuros sobre a infecção humana em áreas de alto risco.

Palavras chave: Mapas. Epidemiologia. Bovinos. *Fasciola hepatica*. Incidência. Zoonoses. Áreas de risco.

## MAPPING RISK OF BOVINE FASCIOLOSIS IN THE SOUTH OF BRAZIL USING GEOGRAPHIC INFORMATION SYSTEMS

### ABSTRACT

Fasciolosis, caused by *Fasciola hepatica*, is an endemic disease of ruminants that occurs in several countries of South America where it can lead to decreased production and fertility and, in severe cases, animal death. Although very prevalent, information on the epidemiology of the disease is incomplete in Brazil. The objective of the present study was to define the prevalence of *F. hepatica* in the livers of cattle from slaughterhouses and correlate the data with the animal's origin (climate and altitude) using a Geographic Information System (GIS). The data was used to create an epidemiological map of fasciolosis by state (Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná), by city (n=530) and by year (2003 to 2008). Information was analyzed using a databank from slaughterhouses with Federal Inspection Services of the Ministry of Agriculture. The highest cattle infection rate was found in the two most Southern states of Rio Grande do Sul (18.7%) and Santa Catarina (10.1%). Animals from the Campanha region of Rio Grande do Sul and from the central coast area of Santa Catarina had prevalences of greater than 40%. Cattle from low altitudes cities were significantly more likely to have the disease ( $p < 0.05$ ). No significant differences were found between high or low prevalence and ambient temperatures. Risk maps resulting from this study provide information on the epidemiology and transmission of *F. hepatica* in Southern Brazil needed for design of appropriate control measures to control economic impacts. *Fasciola hepatica* may represent an important source of zoonotic infection of humans as well; therefore these findings may be complemented by future studies on human infections in high risk areas.

keywords: Maps. Epidemiology. Cattle. *Fasciola hepatica*. Incidence. Zoonosis. risk areas.

### 3.1 INTRODUÇÃO

*Fasciola hepatica* é um parasito do fígado de ruminantes, que pode também infectar equínos, suínos, animais selvagens e seres humanos (TORGERSON et al., 1999). A fasciolose tem um grande impacto econômico mundial devido à diminuição primária na produção de carne de ruminantes infectados (MAS-COMA, 2005). Gavinho et al. (2008) relataram que a fasciolose poderia representar uma significativa redução de 5,8% ( $p = 0,004$ ) no peso de carcaça entre bovinos infectados e não infectados no Brasil, representando uma redução de U\$ 35,00 de receita por cabeça infectada. As perdas econômicas globais podem exceder U\$ 200 milhões por ano, com cerca de 300 milhões de bovinos infectados (MAS-COMA et al., 2005).

A fasciolose ocorre principalmente em regiões onde as condições climáticas favorecem o desenvolvimento da *F. hepatica*, com temperaturas variando de 10 a 25°C. Outros fatores como altitude, solos molhados, a presença de extensas áreas hidrográficas inundadas ou pântanos, o cultivo de arroz e a pecuária também contribuem fortemente para a manutenção dos caramujos hospedeiros intermediários do gênero *Lymnaea* (UENO et al., 1982; MÜLLER et al., 1997).

A prevalência da fasciolose em bovinos tem sido relatada em áreas endêmicas do Chile (94%), E.U.A. (Califórnia 52,7%, 68% Flórida, Louisiana 25%), Irlanda (45%), Espanha (29,5%), Turquia (29,3 %), Peru (29%), Alemanha (10,7%), Marrocos (10,4%), Camboja (10%) e Nova Zelândia (8,5%) (TORGERSON et al., 1999; TUM et al. 2007). Estudos de prevalência de fasciolose no Brasil variam de 64,8% em Santa Catarina (SERRA-FREIRE et al., 1995), 15,8% no Rio de Janeiro (GOMES et al., 2002), 14,7% no Rio Grande do Sul (KLIMIONTE et al. de 2005), 10,59% em Minas Gerais (FARIA et al., 2005) e tem sido encontrada em algumas áreas de São Paulo (UENO et al., 1982; SERRA-FREIRE et al., 1995). Em Minas Gerais, foi possível detectar bovinos infectados em 70% das propriedades rurais visitadas nos municípios de Itajubá (LIMA et al., 2009). O tratamento dos animais infectados não podem impedir altas taxas de mortalidade em ovinos e caprinos se parasitos resistentes aos medicamentos mantiverem altas taxas (OLIVEIRA et al., 2008).

A ferramenta de Sistemas de Informação Geográfica (SIG) é útil para estabelecer relações entre dados de doenças e características ambientais, onde associações significativas podem ser extrapoladas para áreas onde não há dados para produzir mapas de risco epidemiológico da doença. (MALONE et al., 1998; FUENTES, 2006). Dados ambientais de sensoriamento remoto podem ser incorporados dentro de um SIG e usado para programas de gestão de saúde de rotina, incluindo o controle e prevenção de *F. hepatica* (TORGERSON e CLAXTON, 1999). Yilma e Malone (1998) desenvolveram um modelo de SIG para avaliar o risco de *F. hepatica* na Etiópia, onde índices de risco foram então usados para projetar padrões de transmissão e estratégias de controle quimioterápico. A transmissão foi mais elevada em áreas úmidas e foram desenvolvidas estratégias regionais de quimioterapia para a Etiópia de dois ou três tratamentos por ano. Os autores sugerem que o modelo pode ser usado no controle de vetores de outras doenças de importância econômica e de saúde pública.

Embora a fasciolose seja uma zoonose importante, o estudo deste aspecto tem sido negligenciado em muitos países (ROBINSON e DALTON, 2009), incluindo o Brasil. Fuentes (2006) relatou que a *F. hepatica* tem sido reconhecida como um importante problema de saúde pública em vários países sul-americanos. Peru e Bolívia são considerados como hiperendêmicos, assim como áreas no Chile, Equador, Colômbia e Venezuela. Métodos de geoprocessamento foram usados para estudar a epidemiologia da fasciolose humana e animal na região Sul da América Andina, com base em dados climáticos, previsão de índices climáticos e dados de sensoriamento remoto. Os mapas de risco resultaram no delineamento da fasciolose em conhecidas áreas endêmicas para humanos do altiplano peruano, Cajamarca e vales Mantaro peruano, e alguns vales da província equatoriana de Cotopaxi.

Devido ao fato de que não há nenhum estudo epidemiológico abrangente disponível de fasciolose no Brasil, o presente estudo foi realizado com objetivo de utilizar o SIG para analisar a prevalência de *F. hepatica* no fígado de bovinos de frigoríficos no Sul do Brasil, e correlacionar diferenças no risco para o clima e altitude.

### 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os fígados de 12,3 milhões de bovinos abatidos no Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná no Brasil foram examinados para determinar as taxas de infecção por *F. hepatica* em estabelecimentos que foram registrados com Serviço de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (SIF/ MAPA).

A região Sul do Brasil é composta por três estados (Figura 3): Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, e um total de 1.188 municípios. Um banco de dados foi criado, incluindo as coordenadas geográficas (latitude e longitude), o número total de bovinos abatidos de 530 municípios e o número total de fígados infectados, , Além disso, informações sobre clima e altitude fornecida pelo Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE - Ministério da Ciência e Tecnologia), foram obtidas para análise. Os 530 municípios foram divididas em três grupos de prevalência de *F. hepatica*: Grupo 1, com maior prevalência (> 36%), Grupo 2, com prevalência intermediária (5% a 18%) e Grupo 3 com baixa prevalência (<2%).

Estes dados foram então analisados usando o programa ArcGIS 9, versão 9.2 do software, para georeferenciar as coordenadas de cada cidade para as camadas dos mapa sobre os recursos ambientais no sul do Brasil. A prevalência de fígados infectados com *F. hepatica* a cada ano (2003-2008) foi o atributo selecionado no programa para criar os mapas epidemiológicos iniciais. O mapa de risco final foi gerado utilizando a função da ferramenta Spatial Analyst do ArcGIS para definir as áreas de risco epidemiológico da doença. A margem de erro (d) foi calculada por meio da fórmula:

$$d = t [(N-n)/(N-1)] \cdot \frac{1}{2} [(P \times Q/n) \cdot \frac{1}{2}]$$

Onde:

t = Taxa constante usada no cálculo do erro (4,96)

N = Total de municípios

n = Municípios com casos positivos

P x Q = Probabilidade de eventos (2500)

A correlação entre a prevalência da infecção e temperatura climática e da prevalência da infecção e da altitude dos municípios de cada um dos 3 grupos de prevalência foi calculada usando o coeficiente de correlação de Spearman (Analyze-se 2,21, 2009).

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Rio Grande do Sul (RS) e Santa Catarina (SC) observou-se as maiores prevalências de fígados bovinos condenados por *F. hepatica*, com taxas de condenação de 18,66% e 10,14%, respectivamente (Tabela 1). Estes resultados estão de acordo com estudos anteriores no RS em que uma média de 14,7% de taxa de condenação de fígado foi relatada (KLIMIONTE et al., 2005), mas significativamente diferente da taxa de 64,82% relatada anteriormente em áreas costeiras de baixa altitude, que são propensas a inundações em SC (SERRA-FREIRE et al., 1995).

Observando os resultados ilustrados na Figura 4 verifica-se que a prevalência de fasciolose foi marcadamente maior na região da Campanha do RS e na região Central da Costa de SC; áreas de menor altitude de ambos os estados. A taxa de infecção significativamente mais baixa foi observada acima da latitude 26 ° 39 '00"S, no estado do Paraná (PR). A margem de erro calculada para os 530 municípios estudados, do total de 1188 cidades, foi de 3,24.

A epidemiologia da infecção por *F. hepatica* em bovinos é influenciada pela geografia do terreno (TORGERSON et al., 1999). Os bovinos de municípios incluídos nos grupos de alto impacto, impacto moderado e baixo impacto tiveram médias de taxas de infecção de 40,81% ( $\pm 3,47$ ), 10,6% (+4,07) e 1,51% ( $\pm 0,44$ ), respectivamente (Tabela 2). Os municípios incluídos no grupo de alto impacto foram em sua maioria localizados em áreas de baixa altitude entre 5 e 154m acima do nível do mar no RS, perto da fronteira do Uruguai, e na região Central do Litoral de SC, entre 2 e 100m (INPE, 2009). Municípios do grupo de baixo risco estavam localizados principalmente no Oeste e Norte de SC, com altitudes que variam de 470 a 1042m, bem como todo o estado do PR, com altitudes entre 317 e 920m (INPE, 2009). O grupo de risco moderado foi localizado no Norte do RS, com altitude entre

230 e 590m e no Oeste, Sul e Nordeste de SC, com altitude entre 79 e 834m. O coeficiente de correlação entre a taxa de infecção e altitude para todos os municípios dos três grupos foi de -0,80. Municípios de baixo risco foram encontrados em altitudes mais elevadas no estado do Paraná, onde o impacto econômico da doença é mínimo porque o ambiente é inadequado para a sobrevivência do hospedeiro intermediário (MAS-COMA et al., 2001). Isto pode ser associado com altas taxas de evaporação da umidade do solo, baixas temperaturas e geralmente mais terreno montanhoso que impede o acúmulo de água e inundações locais e, conseqüentemente, a sobrevivência do hospedeiro intermediário (MAS-COMA et al., 2001).

Quanto à influência da temperatura ambiente, as cidades do grupo de alto risco tiveram uma temperatura média de 19,5°C ( $\pm$  0,30); do grupo de risco moderado, média de 19,7°C (+ 0,25); e do grupo de baixo risco, média de 18,1°C ( $\pm$  0,78) (INPE, 2009). A correlação da taxa de infecção e temperatura em todos os municípios foi de 0,24. A prevalência foi simultaneamente mais elevada (2,03%) nos três estados do Sul em 2006 (Figura 5), sugerindo uma variação anual significativa efeito climático sobre a taxa de infecção pelo parasito neste ano devido ao aumento da precipitação, uma vez que a temperatura não revelaram mudanças significativas.

Os regimes de temperaturas encontrados no Sul do Brasil são adequados para o desenvolvimento do caramujo (*Lymnaea viatrix*). Para a sobrevivência do hospedeiro intermediário, uma temperatura mínima de 10 ° C e máximas entre 18 e 27°C é necessária (KENDALL, 1953). Sob condições ambientais adequadas, o caramujo *Lymnaea truncatula* pode crescer até a maturidade sexual em três a quatro semanas, dependendo da quantidade de alimentos disponíveis e o número de parasitos (KENDALL e OLLERENSHAW, 1963). Boray e Enigk (1964) demonstraram que cistos de *Lymnaea tomentosa* na Austrália podem permanecer viáveis por apenas três dias a 20°C e uma umidade relativa de 75 - 80%, enquanto a 10°C e umidade de 90% podem sobreviver 122 dias. A principal causa da diminuição da infecciosidade na pastagem está relacionada à morte de metacercárias (OLLERENSHAW, 1971). A produção de bovinos de corte em associação com ovinos, na presença de hospedeiros intermediários, principalmente no RS, pode predispor a propagação da doença e pode ser um fator importante a ser considerado nas condições do sul do Brasil. Embora a prevalência de *F. hepatica* pode ser influenciada pelo uso de tratamento e métodos de controle em hospedeiros animais.

Verificou-se que a prevalência de *F. hepatica* em bovinos está intimamente relacionado com a topografia, como descrito anteriormente por Dalton (1999).

Este estudo resultou em um mapa de risco para a fasciolose nos estados do Sul do Brasil, mostrando a distribuição geoespacial de uma doença que provoca significativas perdas econômicas, com baixa produção de carne, leite e lã, diminuição da fertilidade e aumento dos gastos em medicamentos antiparasitários (MÜLLER, 1999). A temperatura ambiente observada em áreas de alto risco e as cidades estão dentro da faixa de temperatura ideal para o ciclo da fasciolose. A altitude foi um fator significativo na prevalência de *F. hepatica*.

Embora o mapa de risco tenha sido gerado com uma baixa margem de erro, é relevante que os dados representam apenas o número total de animais abatidos sob inspeção federal. Não considerou-se dados adicionais a partir de animais abatidos sob inspeção estadual, de serviços de inspeção municipal e as consideráveis taxas de abates ilegais. As taxas de condenação federal utilizada para este estudo para o Rio Grande do Sul foram de 50,61% dos fígados (4.958.749/9.798.195 bovinos abatidos), 61,23% para Santa Catarina (1.104.161/1.803.308) e 42,01% para o Paraná (4.874.044/11.601.503) (IBGE, 2009).

Atualmente, os casos humanos de fasciolose não são considerados de grande importância dentro da área estudada. O sul do Brasil foi colonizado por pessoas de diversas origens (portuguêses, alemães e italianos) que podem consumir vegetais crus de ambientes propícios para o ciclo da *F. hepatica*, mas estima-se que muitas dessas áreas não tenham animais infectados. Há grande heterogeneidade da prevalência da fasciolose humana em diferentes cenários epidemiológicos, com diferentes padrões de transmissão em todo o mundo (MASCOMA et al., 2009). Embora a fasciolose seja uma doença comum associada com animais domésticos, é hoje reconhecida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como um grave problema de saúde pública em humanos (ROKNI et al., 2002) e pode-se concluir que situações conhecidas e padrões de fasciolose nem sempre pode explicar as características da doença em uma determinada área. Assim, quando se tratar de uma zona endêmica não estudada anteriormente, os cenários e os padrões de infecções humanas acima devem ser sempre considerados apenas como ponto de partida. Uma vez que a epidemiologia e características de transmissão de uma nova área, como o Sul do Brasil, forem avaliadas

adequadamente, medidas de controle adequadas podem ser projetadas para controlar os impactos econômicos (MAS-COMA et al., 2009).

### 3.4 CONCLUSÃO

Os bovinos dos estados do RS e SC apresentaram as maiores incidências de fígados com *F. hepatica* sob Inspeção Federal no Sul do Brasil. A área de Campanha no RS e na região Central do Litoral de SC foram identificadas como áreas de alto risco para *F. hepatica* que devem ser direcionados para o controle de perdas econômicas na pecuária e uma maior vigilância para infecção potencial zoonótico.

## REFERÊNCIAS

BORAY, J.C.; ENIGK, K. Laboratory studies on the survival and infectivity of *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* metacercariae. **Z Tropenmed Parasitology**. v.15, p.324-331, 1964.

DALTON, J.P. **Fasciolosis**. Oxford, Londres, 1999., 543p.

FARIA, R.N.; CURY, M.C.; LIMA, W.S. Prevalence and dynamics of natural infection with *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) in Brazilian cattles. **Revista de Medicina Veterinária**. v.156, n.2, p.85-86, 2005.

FUENTES, M.V. Remote sensing and climate data as a key for understanding fasciolosis transmission in the Andes: review and update of an ongoing interdisciplinary project. **Geospatial Health**. v.1, n.1, p.59-70, 2006.

GAVINHO, B.; KULEK, A.C.G.; MOLENTO, M.B. Quantitative determination and geographic distribution of *Fasciola hepatica* in bovines slaughtered in São José dos Pinhais, PR. **Anais**, XVI Encontro de Iniciação Científica da UFPR. Curitiba, CD-Rom. 2008.

GOMES, F.F.; OLIVEIRA, F.C.R.; PILE, E.A.; LOPES, C.W.G. Estabelecimento de foco de fasciose hepática em propriedade do município de campos dos goytacazes no estado do rio de janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.11, n.1, p.53-56, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE), Banco de Dados Agregados – SIDRA, 2009, disponível em <http://www.sidra.ibge.gov.br/>. Acesso em: 18 de Maio de 2009.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS (INPE), disponível em <http://www.inpe.br/>. Acesso em: 7 de Maio de 2009.

KENDALL, S.B. The life-history of *Limnaea trunculata* under laboratory conditions. **Journal of Helminthology**. v.34, p.17-28, 1953.

KENDALL, S.B.; OLLERENSHAW, C.B. The effect of nutrition on the growth of *Fasciola hepatica* in its snail host. **Proceedings of the Nutrition Society**. v.22, p.41-46, 1963.

KLIMIONTE, R.; MOLENTO, M.B.; TIELET, C.; GAVIÃO, A. Ocorrência da *Fasciola hepatica* no fígado de Bovinos abatidos no Rio Grande do Sul, RS – Brasil. **Revista de Patologia Tropical**. v.34, p.14-21, 2005.

LIMA, W.S.; SOARES, L.R.M.; BARÇANTE, T.A.; GUIMARAES, M.P.; BARÇANTE, J.M.P. Occurrence of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) infection in Brazilian cattle of Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.18, n.2, p.27-30, 2009.

MALONE, J.B.; GOMMESB,R.; HANSEN, J.M.; YILMA, C, J.; SLINGENBERG, F.; SNIJDESB, F.; NACHTERGAELEB, E. A geographic information system on the potential distribution and abundance of *Fasciola hepatica* and *F. gigantica* in east Africa based on Food and Agriculture Organization databases. **Veterinary Parasitology**. v.78, p.87-101, 1998.

MAS-COMA, S.; FUNATSU, I. R.; BARGUES, M. D. *Fasciola hepatica* and lymnaeid snails occurring at very high altitude in South America. **Parasitology**. v.123, p.115-127, 2001.

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

MAS-COMA, S.; VALERO, M. A.; BARGUES, M. D. *Fasciola*, Lymnaeids and Human Fascioliasis, with a Global Overview on Disease Transmission, Epidemiology, Evolutionary Genetics, Molecular Epidemiology and Control. **Advances in Parasitology**. v.69, p.44-68, 2009.

MÜLLER, G.; JESUS, L.P.; PAULSEN, R.M.M.; SOUZA, C.A. Prevalência de fasciolose na região sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Anais In: Congresso Brasileiro de Veterinária**, Gramado – RS, p.186, 1997.

MÜLLER, G.; BERNE, M.E.A.; RAFFI, L. L.; JESUS, L. P.; PAULSEN, R. M. M.; SINKOC, A. L. Influência da temperatura na longevidade infectiva de metacercárias de *Fasciola hepatica*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. v.5, n.2, p.164-165, 1999.

OLIVEIRA, D.R.; FERREIRA, D.M.; KLOSS, A.; STIVAL, C.C.; ROMERO, F.; OLLERENSHAW, C.B. Some aspects of the epidemiology of fasciolosis on Britain. **Proceedings of the Royal Society**. v.39, p.238-243, 2008.

OLLERENSHAW, C.B. Some observations on the epidemiology of fasciolosis in relation to the timing of molluscicide applications in the control of the disease. **Veterinary Record**. v.88, p.152-164, 1971.

ROBINSON, M.W.; DALTON, J.P. Zoonotic helminth infections with particular emphasis on fasciolosis and other trematodiasis. **Philosophical transactions of the Royal Society of London, Biological sciences**. v.364, p.2763-2776, 2009.

ROKNI, M.B.; MASSOUD, J.; O'NEILL, S.M.; PARKINSON, M.; DALTON, J.P. Diagnosis of Human fasciolosis in the Gilan province of Northern Iran: application of cathepsin L\_ELISA. **Parasitology**. v.44, p.175-179, 2002.

SERRA-FREIRE, N.M.; BORDIN, E.L.; LESSA, C.S.S.; SCHERER, P.O.; FARIAS, M.T.; MALACCO, M.A.; CORRÊA, T.C.; TSCHUMI, J.A. Reinvestigação sobre a distribuição da *Fasciola hepatica* no Brasil. **A Hora Veterinária**. v.1, p.19-21. 1995.

TORGERSON, P., CLAXTON, J., Epidemiology and Control, In: DALTON, J.P. **Fasciolosis**, Oxford, Londres, 1999, 543p.

TUM, S.; PUOTINEN, M.L.; SKERRATT, L.F.; CHAN, B.; SOTHOEUN, S. Validation of a geographic information system model for mapping the risk of fasciolosis in cattle and buffaloes in Cambodia. **Veterinary Parasitology**. v.143, p.364–367, 2007.

UENO, H.; GUTIERRES, V.C.; MATTOS, M.J.; MÜLLER, G. Fasciolosis problems in ruminants in Rio Grande do Sul, Brazil. **Veterinary Parasitology**. v.11, p.185-91, 1982.

YILMA, J.M.; MALONE, J.B. A geographic information system forecast model for strategic control of fasciolosis in Ethiopia. **Veterinary Parasitology**. v.78, p.103–127, 1998.



FIGURA 3 – ESTADOS BRASILEIROS INCLUÍDOS NO ESTUDO DA MÉDIA DE FÍGADOS BOVINOS INFECTADOS POR *FASCIOLA HEPATICA*, EXAMINADOS POR MEIO DA INSPEÇÃO FEDERAL

Fonte: Autor (2009)

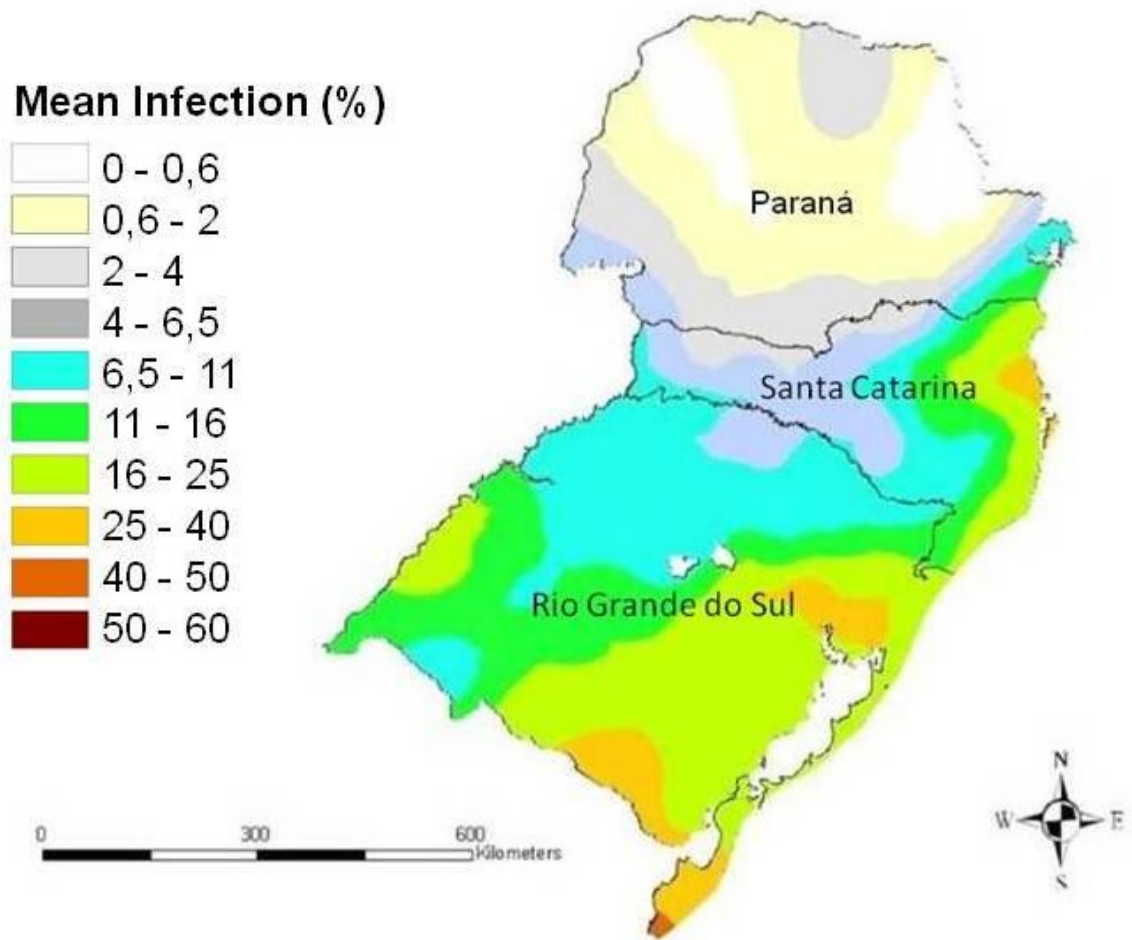


FIGURA 4 – MÉDIA DE FÍGADOS BOVINOS INFECTADOS POR MEIO DO SISTEMA DE BANCO DE DADOS DO SERVIÇO DE INSPEÇÃO FEDERAL NA REGIÃO SUL DO BRASIL

Fonte: Autor (2009)

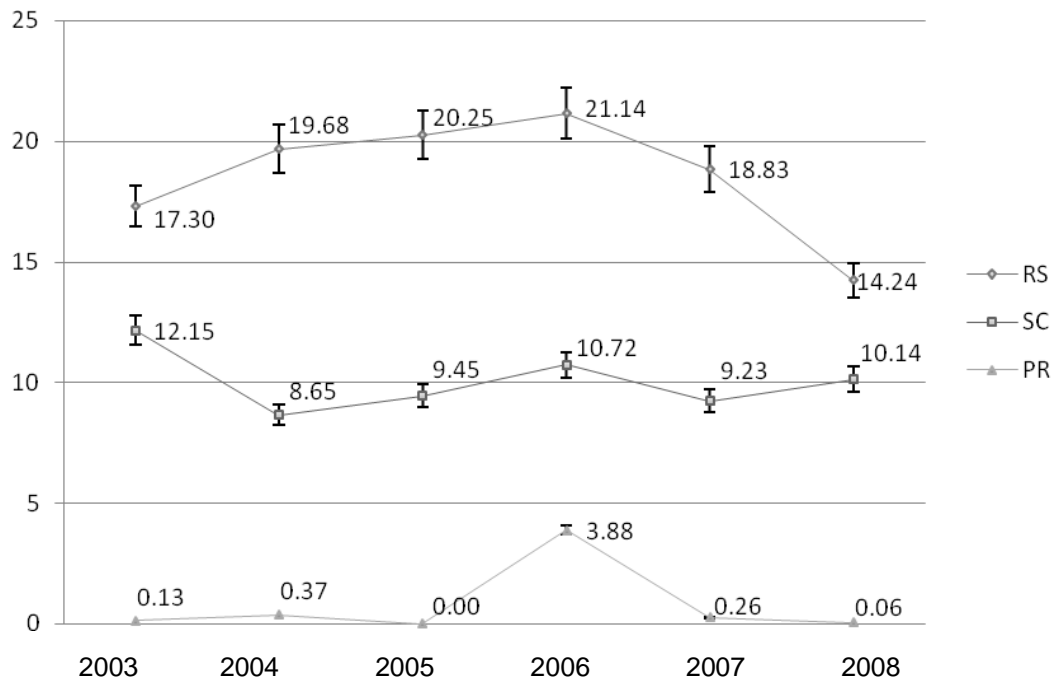


FIGURA 5 – OCORRÊNCIA MÉDIA DOS TRÊS ESTADOS DO SUL DO BRASIL PARA FÍGADO DE BOVINOS INFECTADOS POR *FASCIOLA HEPATICA* ENTRE 2003 E 2008

Fonte: Autor (2009)

TABELA 1 - NÚMERO DE BOVINOS ABATIDOS E NÚMERO DE FÍGADOS INFECTADOS COM *FASCIOLA HEPATICA* NO RIO GRANDE DO SUL, SANTA CATARINA E PARANÁ ENTRE 2003 E 2008

Estado	Número total de bovinos abatidos	Número de infectados	%
Paraná	6.727.459	48.235	0,71
Rio Grande do Sul	4.839.446	903.040	18,66
Santa Catarina	699.147	70.928	10,14
Total	12.266.052	1.022.203	29,51

Source: SIF/MAPA  
Fonte: Autor (2009)

TABELA 2 - TAXA DE FÍGADOS INFECTADOS POR *FASCIOLA HEPATICA* E MÉDIA DE TEMPERATURA (°C) DOS MUNICÍPIOS DOS GRUPOS DE ALTO, MODERADO E BAIXO RISCO POR ANO

Municípios	2003		2004		2005		2006		2007		2008	
	%	T°C*	%	T°C*	%	T°C*	%	T°C*	%	T°C*	%	T°C*
<b>Grupo 1, Alto Risco</b>												
Aceguá (RS)	41,4	17	40,6	17,2	32,8	16,2	33,3	16,6	24,9	16,1	25,7	16,3
Chuí (RS)	62,5	16,1	33,2	16,3	29,4	15,9	45,3	15,5	63,9	16	72,4	15,9
Gaspar (SC)	34,49	23,2	51,9	23,3	45,6	22,6	31,7	22,9	25,9	22,6	35,1	22,9
Dom Pedrito (RS)	26,4	16,7	23	16,9	27	15,4	24,7	16	21,8	15,1	17,0	15,5
Ihota (SC)	22,91	22,4	32,9	22,6	25,1	21,8	22,2	22	2,68	21,8	14,1	22,4
Itapema (SC)	46,9	22,5	65,1	22,6	37,9	21,8	77,2	22,1	40,1	21,9	69,5	22,5
St. Vitória Palmar (RS)	37,4	18,2	38,9	18,5	34,3	18	41,6	18,4	42,0	17,6	38,9	17,9
Tijucas (SC)	69,65	22,7	65,1	23	62,0	22,4	78,6	22,6	70,7	22,3	54,5	22,9
<b>Média</b>	<b>42,7</b>	<b>19,8</b>	<b>43,8</b>	<b>20</b>	<b>36,7</b>	<b>19,3</b>	<b>44,3</b>	<b>19,5</b>	<b>36,5</b>	<b>19,2</b>	<b>40,9</b>	<b>19,5</b>

**Grupo 2, Risco moderado**

Água Doce (SC)	4,9	16,6	7,5	17,5	6,8	17,3	9,2	18,0	8,4	17,7	9,1	17,2
Capinzal (SC)	15,4	20,1	17,3	23,2	12,5	23,8	5,0	25,4	25,6	23,3	11,7	24,7
Entre Ijuís (RS)	12,1	21,3	10,6	22,5	7,5	19,8	15,4	20,6	1,36	21,3	22,9	19,6
Ibirubá (RS)	8,9	25,9	12,0	22,5	7,2	24,7	2,4	22,3	13,7	21,8	10,0	22,9
Jaborá (SC)	8,8	18,4	10,4	18,7	10,5	19,9	6,1	19,5	12,5	18,7	9,7	18,9
Rio dos Cedros (SC)	25,6	17,7	31,7	18,8	24,1	18,1	7,1	17,9	5,5	18,0	14,5	17,6
São José do Cedro (SC)	8,4	16,3	5,8	15,1	4,8	16,5	3,1	15,1	4,5	15,9	5,4	16,1
Nonoai (RS)	9,8	19,2	10,5	19,4	8,8	20,1	7,5	19,9	12,1	19,8	4,2	20,7
<b>Média</b>	<b>11,7</b>	<b>19,4</b>	<b>13,2</b>	<b>19,7</b>	<b>10,2</b>	<b>20,0</b>	<b>6,9</b>	<b>18,1</b>	<b>10,4</b>	<b>18,8</b>	<b>10,9</b>	<b>19,7</b>

**Grupo 3, Baixo risco**

Cerro Azul (PR)	0,1	22,1	0,2	25,2	0,5	23,4	0,1	25,4	0,3	26,3	0,1	25,9
Formosa do Sul (SC)	4,5	19,3	5,1	18,4	3,3	18,9	3,7	18,6	4,1	19,5	4,2	19,1
Japira (PR)	0,1	22,9	0,1	23,5	0,1	23,7	0,2	22,7	0,1	23,8	0,1	23,6
Lapa (PR)	0,1	17,2	0,2	18,2	0,1	17,9	0,3	17,5	0,1	17,7	0,1	18,1
Otacílio Costa (SC)	3,4	16,7	4,6	16,8	3,9	16,1	9,2	16,9	11,1	17	3,7	16,6
Palmital (PR)	0,1	15,3	0,1	15,9	0,1	15,8	0,1	16,2	0,2	16,1	0,1	16
Passos Maia (SC)	0,6	16,2	1,2	16,4	0,4	16,2	0,5	16,9	1	16,3	0,2	16,5
Ponte Serrada(SC)	0,5	16,1	0,8	15,4	0,6	15,9	1,4	16,4	1,1	16,1	1,3	16,3
<b>Média</b>	<b>1,2</b>	<b>18,2</b>	<b>1,5</b>	<b>18,7</b>	<b>1,1</b>	<b>18,4</b>	<b>1,9</b>	<b>16,8</b>	<b>2,2</b>	<b>17,8</b>	<b>1,2</b>	<b>19</b>

\*Dados das medias de temperature (°C) obtidos do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE).

Fonte: Autor (2009)

#### 4 CORRELAÇÃO ENTRE O EXAME HISTOPATOLÓGICO E A ANÁLISE ECONÔMICA PARA INFECÇÃO DE *FASCIOLA HEPATICA* EM BOVINOS

##### RESUMO

A fasciolose é uma doença de grande importância devido ao seu amplo espectro de hospedeiros definitivos, sendo considerada uma zoonose re-emergente, causando infecções agudas e crônicas. A doença é causada pelo parasita *Fasciola hepatica* e está entre os parasitos de maior importância em ruminantes, devido a redução da produtividade desses animais. Entretanto é necessário se estudar o grau das lesões e como isto pode ser a causa dos prejuízos causados. Este trabalho foi realizado com objetivo de correlacionar os danos hepáticos causados com a infecção natural de *F. hepatica* em bovinos por meio de exames histopatológicos e determinar a perda de peso destes com o impacto econômico. Foram utilizados 18 bovinos, todos de mesma raça e idade, sendo nove positivos para fasciolose e nove negativos. Os animais foram avaliados com seis pesagens e avaliações da determinação de ovos de *Fasciola* spp (entre janeiro e setembro de 2009). Os dados de pesos foram analisados pelo teste de Monte Carlo. Ao final do experimento, os animais foram abatidos e os fígados com diferentes graus de infecção por *Fasciola* foram coletados e analisados por exame de histopatologia. Verificou-se diferença significativa ( $p=0,0001$ ) no peso entre os dois grupos, sendo que esta diferença tendeu a se agravar com a progressiva infecção crônica ao longo do tempo. Foi estimado um prejuízo de R\$ 158,60 por animal. As lesões hepáticas foram típicas de doença crônica, com presença de tecido fibroso e inclusão de infiltrado eosinofílico. Estes dados são inéditos e revelam a importância dessa enfermidade para a pecuária brasileira, especificamente nos estados onde a doença tem caráter endêmico.

Palavras chave: *Fasciola hepatica*. Bovinos. Impacto econômico. Histopatologia. Monte Carlo.

## **CORRELATION BETWEEN HISTOPATHOLOGY AND ECONOMIC ANALYSIS FOR *FASCIOLA HEPATICA* INFECTION IN CATTLE**

### **ABSTRACT**

The fasciolosis is a disease of great importance due to broad spectrum of definitive hosts, and is considered a re-emerging zoonosis, causing acute and chronic infections. The disease is caused by the parasite *Fasciola hepatica* and is among the most important parasites in ruminants, due to reduced productivity of these animals. However it is necessary to study the degree of injury and how this can be the cause of damage. The objective of this study was to correlate the liver damage caused by the natural infection of *F. hepatica* in cattle by histopathology and determine the weight loss of the economic impact. We used 18 animals, all of the same race and age, nine positive and nine negative for fasciolosis. The animals were evaluated with six weighings and assessments of the determination of *Fasciola* eggs (between January and September 2009). Data weights were analyzed using the Monte Carlo. At the end of the experiment, the animals were sacrificed and livers with different degrees of liver fluke infection were collected and analyzed by histopathology. The analysis showed a significant difference ( $p = 0.0001$ ) in weight of the two groups, and this difference tended to worsen with progressive chronic infection over time. Was estimated a loss of R\$ 158.60 per animal. The hepatic lesions were typical of chronic disease, the presence of fibrous tissue and eosinophilic infiltration. This data are novel and reveal the importance of this disease to cattle in Brazil, specifically in states where the disease is endemic.

Keywords. *Fasciola hepatica*. Bovine. Economic impact. Histopatology. Monte Carlo

## 4.1 INTRODUÇÃO

As doenças parasitárias são um dos maiores problemas de redução da produtividade pecuária mundial (VERCRUYSSSE e CLAEREBOUT, 2001). Dentre as infecções por helmintos, a fasciolose é de suma importância devido ao seu amplo espectro de hospedeiros definitivos causando infecções agudas e crônicas (SAMPAIO-SILVA et al., 1996) que são predominantemente causadas pelo parasito *F. hepatica* (Trematoda: Fasciolidae) e/ou *F. gigantica* (SOULSBY, 1987). A fasciolose tem sido relatada em todos os continentes, com prevalências que vão de 8,5% na Austrália a 94% no Chile (TUM et al. 2007; TORGERSON et al. 1999), com prejuízos que podem exceder os 3 bilhões de dólares anuais em cerca de 300 milhões de bovinos infectados. No Brasil, em áreas propícias para o desenvolvimento da doença, prevalências de 0,71% (Paraná), 1,53% (Rio de Janeiro), 10,14% (Santa Catarina) e 18,66% (Rio Grande do Sul) foram relatados por DUTRA et al. (2009).

A fasciolose aguda pode causar grandes perdas devido a anemia, pois um parasito tem a capacidade de sugar 0,2 a 0,5 ml de sangue, entre ingestão e perda, por dia por animal, gerando ainda uma severa diminuição de proteínas totais, especificamente albumina (DAWES e HUGHES, 1970). Isto é causado pela invasão de grande número de trematodas imaturos, ocasionando destruição do parênquima em função da migração dos parasitos, insuficiência hepática e hemorragia na cavidade peritoneal, levando à hepatite aguda hemorrágica. A doença crônica pode reduzir a taxa de crescimento e taxa de conversão alimentar (OAKLEY et al., 1979) com a presença de lesões migratórias traumáticas e componente necrótico coagulativo importante. Na fasciolose a ação do parasito sobre o tecido do hospedeiro é evidenciada por danos hepatobiliares e a resposta do hospedeiro é determinada por reações fibrocelulares. Todos esses fatores resultam principalmente em perda de peso a campo e perda de aproveitamento de carcaça no frigorífico.

A análise econômica das perdas devido à fasciolose para a pecuária tem um elevado grau de incerteza devido a outras possíveis causas de lesões nos animais. Para superar estas dificuldades, técnicas de análise de risco de Monte Carlo, têm sido utilizados para modelar a variabilidade dos parâmetros de produção. Nesta análise, amostragem e processos aleatórios são simulados usando números

aleatórios para decidir se aceita ou não a ocorrência de um evento (SCHWEIZER, et al., 2005). As técnicas são aplicadas principalmente a cálculos em que a probabilidade de um evento é difícil ou impossível de calcular por métodos algébricos. Os efeitos multifatoriais da *F. hepatica* na produção animal sugerem que essa abordagem possa ser útil para a análise econômica em bovinos (SCHWEIZER, et al., 2005).

Yokananth et al. (2005) sugeriram que a demanda por alimentos de origem animal nos países em desenvolvimento tenha um aumento de 2,8% ao ano até 2020. Sendo assim, acredita-se que um melhor entendimento do impacto da fasciolose em bovinos possa contribuir significativamente para melhorar a produção animal (LIMA et al., 2009). Desta forma, este trabalho foi realizado com o objetivo de correlacionar o grau de infecção por *F. hepatica* com o peso entre bovinos contaminados ou não, e estimar o impacto econômico.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1 Área Experimental e animais

O experimento foi realizado na Fazenda São João, no município de Dom Pedrito, RS (30°58'56"S e 54°40'91"O), distante 447 km de Porto Alegre. A fazenda está localizada na região da Campanha Meridional do Rio Grande do Sul, onde há a predominância de vegetação de gramíneas compostas e leguminosas, caracterizado os chamados de Campos da Campanha. A região apresenta altitude até 300m acima do nível do mar. Foram utilizados 18 bovinos, da raça Polled Hereford com idades entre oito a 10 anos, fêmeas e submetidos a manejos semelhantes. Destes, nove eram positivos a infecção de *F. hepatica* e nove livres da infecção. Todos os bovinos foram mantidos em área de 50ha, com a presença de água e alimentação *ad libitum*, sem a presença de caramujos do gênero *Lymnaea*. O experimento foi realizado entre os meses de janeiro a setembro de 2009.

#### 4.2.2 Exames coproparasitológicos

A infecção por *F. hepatica* foi realizada por exame coproparasitológico com o método de Quatro Tamises (GIRÃO E UENO, 1994) em intervalos de 30 dias. A contagem de ovos por grama de fezes (OPG) (GORDON E WHITLOCK, 1939) foi realizada para a pesquisa de demais helmintos, em intervalos semelhantes.

#### 4.2.3 Histopatologia

Ao final do período experimental, todos os animais foram sacrificados em Frigorífico com Inspeção Federal. Foram colhidas amostras de fígados dos animais, avaliando o grau de lesão (leve, moderado e severo) para avaliar a extensão das lesões causadas pelo parasito. Os cortes histológicos dos fígados foram submetidos à coloração de Hematoxilina eozina. Para a determinação do grau de fibroses e tecido conjuntivo nos fígados, os cortes histológicos foram corados com marcadores Tricrômico de Masson.

#### 4.2.4 Estatística, análise de risco

Foram feitas pesagens dos animais nos meses de janeiro, fevereiro, abril, maio, julho e setembro. O teste realizado entre os dois grupos de animais foi o Teste t Student, com distribuição normal a  $p < 0,05$  utilizando o programa BioEstat 5.0. Para a análise do risco de prejuízos pela perda de peso causada pela *Fasciola*, em função do tamanho da amostra e o período em que os bovinos foram observados, foi utilizada a análise de Monte Carlo (R Development Core Team, 2009).

## 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.3.1 Histopatologia

Nos cortes histológicos verificou-se evidentes lesões consideradas como fasciolose crônica, apresentando angiocolite crônica, espessamento da parede do espaço porta e infiltração eosinofílica, além de presença de tecido fibrótico disseminado. Na Tabela 3 observa-se os achados histopatológicos em fígados encontrados com diferentes graus de infecção por *F. hepatica*.

Foi evidenciada, através de corte histológico, a presença de exemplares adultos de *F. hepatica* nos ductos biliares de fígados dos bovinos do grupo positivo. Estes achados também foram observados por outros autores (SINCLAIR, 1967; FREIRE, 1967; DOW et al., 1968; BARNOUIN et al., 1981; PESSÔA e MARTINS, 1982; RICKARD e FOREYT, 1992; RAMOS et al., 1993; BORDIN, 1995) causando angiocolite crônica, com dilatação da luz e fibrose da parede (PESSÔA e MARTINS, 1982; SERRA-FREIRE, 1995; CARLTON e McGAVIN, 1990).

Neste estudo, a fibrose de espaço porta foi observada em três amostras do fígado (figura 6). A hiperplasia de ductos biliares, em espaços porta, trata-se de uma alteração proeminente na fasciolose crônica. Tais observações são compatíveis com as descritas por Dow (1968), Siqueira et al. (1970; 1971), Santos (1979), Rickard e Foreyt (1992), Sadjadi et al. (1997). A colangite crônica e a obstrução levam à ectasia e estenose dos ductos biliares, bem como a uma fibrose periductular que produz espessamento das paredes ductais (CARLTON e McGAVIN, 1990). RICKARD e FOREYT (1992) por meio de experimento em lhamas e ovinos relatou semelhanças com relação ao grau de hiperplasia de ductos biliares em fígados dessas duas espécies, o qual era similar ao descrito para fasciolose crônica em ovinos e bovinos. Nesta última espécie ela foi mais evidente a partir da 8ª semana pós-infecção (ROSS et al., 1966). Em infecção experimental de ovinos por *F. hepatica*, Dow et al. (1967) afirmam que a hiperplasia de ductos biliares ocorreu a partir de 24 a 30 semanas pós-infecção, sendo mais acentuada com aproximadamente 11 semanas pós-infecção.

Ross et al. (1966) descreveram lesões nos ductos biliares calibrosos de bovino pela *F. hepatica* a partir da 9<sup>o</sup> semana pós infecção, onde observaram aumento da espessura da parede, com formação de estruturas acinares irregulares na porção interna e revestida por epitélio colunar alto, além de infiltração eosinofílica da porção média externa. Nos bovinos estudados, são evidentes numerosos ductos biliares com lesões semelhantes, havendo diferença apenas na localização das formações acinares que estariam dispostas ao longo do terço médio das paredes, com infiltração nos linfócitos, plasmócitos e eosinófilos (figura 5). Também foi observado calcificação da parede de ducto em fígado de dois bovinos. Este tipo de lesão crônica foi descrito por Ross (1966) a partir de 23 semanas pós infecção.

#### 4.3.2 *Análise e Impacto econômico*

O peso dos dois grupos esta descrita na Tabela 4. Foi observada diferença significativa ( $p=0,0096$  e  $t = 2,938$ ) com grau de liberdade de 16, sendo esta não ao acaso. O intervalo de confiança a 95% foi entre 0,3197 a 74,8655 (Figura 7). O peso dos animais diminuiu no período de abril a julho, provavelmente pela redução de pastos verdes ocasionado justamente pelo período de inverno e escassez de chuvas. Nos meses de maio, junho e julho a pluviosidade registrada foi de 5, 10 e 6 mm respectivamente. O peso dos bovinos, no primeiro período, foi entre 410 e 450kg. Observou-se também que a variação de peso, no período inicial, foi maior nos bovinos sem infecção. Em média, os bovinos livres de fasciolose obtiveram aumento de peso e os bovinos com a doença tenderam a perder peso (Figura 8).

Por meio da análise de Monte Carlo comparou-se as duas amostras, permitindo inferir sobre às possíveis diferenças existentes entre as amostras (Figura 9). Foi retirado aleatoriamente um dado de cada grupo e calculado a diferença, este procedimento foi repetido diversas vezes para encontrar a mesma média para os dois grupos. Neste caso, se assumiu que caso os dois grupos possuíssem média e/ou distribuição diferente teria sido causada pela doença. Foram realizadas 1000 repetições em sorteios (Bootstrap). A estatística do teste foi -6.1003, o que corresponde a um p-valor de 0.0001. Portanto a probabilidade de que as médias dos pesos dos bovinos durante o período sejam iguais é muito baixa, possuindo fortes

evidências estatísticas para acreditar que existe diferença entre os grupos de tratamento dos bovinos.

Analisando o p-valor do teste de Monte Carlo em cada pesagem (Tabela 5), observou-se que na primeira avaliação já existe uma diferença entre o peso dos dois grupos. Embora esta diferença ocorreu anterior ao experimento, isto foi devido a seleção dos animais adultos. Sabendo que o teste de Monte Carlo mostrará um p-valor diferente cada vez que for aplicado, por ser um teste com base em um sorteio, e sabendo que este valor será muito aproximado do obtido (MANLY, 2006) é notável que nas primeiras avaliações a diferença entre infectados pela fasciola e não infectados é menos expressiva que nas últimas avaliações, já que o p-valor vai diminuindo, conferindo maior certeza de há diferença nos pesos dos grupos. Assim temos uma evidência de que, além do peso dos bovinos ser diferente para os dois grupos, existe uma tendência de que esta diferença aumente no decorrer do tempo.

TORGERSON et al. (1999) afirmaram que em bovinos de corte a maior redução no ganho de peso ocorre nas primeiras 16 semanas de infecção, embora ainda haja uma diminuição significativa no ganho de peso durante a fase crônica da doença. HOPE et al. (1977) determinaram que mesmo depois que os animais ficam livres de infecção, seu desempenho inicial continua inferior até o abate, quando comparado com animais não infectados.

Sendo assim, considerando a média de peso do grupo positivo de 401,4Kg (+/- 21,7) e de 451,2Kg (+/- 15,7) para o grupo negativo, tem-se um indicativo de perda em torno de 11% ( $p=0,0096$ ). Na comparação dos grupos (Figura 8), nota-se que a perda de peso é mais acentuada que o ganho de peso para o grupo positivo. Isso é próximo aos estudos aos quais revelam que em bovinos as infecções moderadas por fasciolas podem resultar em reduções significativas no desempenho, reduzindo o ganho de peso de 8-9% (ROSS, 1970; HOPE et al., 1977), embora este grau de infecção resulte em poucos sinais clínicos da doença como no presente experimento.

O impacto das diferenças de peso, calculando as distâncias entre os pesos iniciais e finais em cada grupo, se obtém 17,55 Kg (peso final – peso inicial do grupo negativo) + 45,89 (peso final – peso inicial do grupo positivo) = 63,44 Kg, e portanto o prejuízo estimado causado seria de R\$158,60 por animal deste estudo (grupo infectado). Em comparação com Gavinho et al. (2008), onde compararam seis bovinos infectados por fasciola e seis negativos, o prejuízo estimado seria de R\$

74,00 por animal. SCHWEIZER et al. (2005) relataram uma perda média anual de aproximadamente EU\$ 1.515,00 para um rebanho médio de 31 bovinos. Os autores enfatizam que o controle da fasciolose é viável e deve ser realizado.

Os efeitos significativos sobre o desempenho de bovinos de corte têm sido relatados em animais com infecção natural. Nos Estados Unidos, Johnson (1991) relatou um aumento de 8% no ganho de peso em bovinos tratados com fasciolicidas. Na Bélgica, Genicot et al. (1991) relataram um aumento de 18% no ganho de peso em bovinos tratados em comparação com controles não tratados, sendo o mais importante, que o aumento do lucro resultante da melhoria da produtividade foi de 4,2 vezes o custo do tratamento.

Segundo Torgerson et al. (1999) os efeitos multifatoriais da *F. hepatica* na produção animal, bem como considerar gastos com antiparasitários e perdas de fertilidade sugerem que essa abordagem necessita ser mais complexa e explorada para o cálculo dos prejuízos. As perdas devido ao ganho de peso reduzido em bovinos de corte constituem apenas uma parte da perda total porque a prevalência de *F. hepatica* em bovinos produtores de corte é menor do que bovinos produtores de leite. BENNETT et al. (1999) sugerem ainda que perdas decorrentes dos custos devido à condenação dos fígados também devem ser consideradas. Outra parte da perda total é oriundo da despesa do tratamento (KITHUKA et al., 2002), mas até agora não foi determinada sobre os verdadeiros custos da fasciolose. Foi assumido que síndromes associadas à fasciolose, tais como peritonite, cetose, e síndromes agudas de infecção exigiria cuidados veterinários, e estes custos de tratamento provavelmente elevariam mais o prejuízo do que aquele estimado neste modelo.

#### 4.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que a infecção por *F. hepatica*, principalmente na sua forma crônica, causa danos consideráveis para a atividade pecuária. Foi possível calcular a diferença entre o peso entre grupos de animais e a consequente estimativa de prejuízo econômico. Os achados de danos hepáticos causados pelo parasito corroboram com vários autores, e confirmam que existe alta correlação caso um

animal apresente peso inferior a média do rebanho e a presença de infecção, mesmo em um grupo de bovinos adultos.

## REFERÊNCIAS

BARNOUIN, J.; MIALOT M.; LEVIEUX D. Évaluation de la Pathologie hépatique des Bovins sur un Prélèvement de Sang. Relations Avec L'histopathologie **Annales de Recherches Veterinaires**. v.12, n.4, p.363-369, 1981.

BENNETT, R. M.; CHRISTIANSEN, K.; CLIFTON-HADLEY, R. S. Estimating the costs associated with endemic diseases of dairy cattle. **Journal of Dairy Research**. v.66, p.455-459, 1999.

BORDIN, E.L. Revisão da anatomia patológica da fasciolose bovina. **A Hora Veterinária**, v.1, p.33- 35, 1995.

CARLTON, W.W.; McGAVIN, M.D. **Patologia veterinária especial de Thomson**, Porto Alegre, Artmed, 2ª ed. 1990, 753p.

DAWES, B.; HUGHES, D.L. Fascioliasis: the invasive stages in mammals. **Advances in Parasitology**. v.8, p.259–274, 1970.

DOW, C.; ROSS, J.G.; TODD, J. R. The Pathology of experimental fascioliasis in Calves. **Journal of Comparative Pathology**. v.77, p.377-386, 1967.

DUTRA L.H.; MOLENTO M.B.; NAUMANN C.R.C.; BIONDO A.W.; FORTES F.S.; SAVIO D.; MALONE J.B. Epidemiology of bovine fasciolosis in Brazil using Geographic information system. **Veterinary Parasitology**. *in press*, 2009.

FREIRE, J.J. Fauna Parasitária Riograndense. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.3, n.2, p.143-158, 1967.

GAVINHO, B.; KULEK, A.C.G.; MOLENTO, M.B. Determinação quantitativa e distribuição geográfica de *Fasciola hepatica* em bovídeos abatidos no frigoríficos Argus, São José dos Pinhais, PR. XVI Encontro de Iniciação Científica da UFPR. Curitiba, Outubro, 2008. CD-Rom.

GENICOT, B.; MOULIGNEAU, F.; LEKEUX, P. Economic and production consequences of liver fluke disease in double-muscled fattening cattle. **Journal of Veterinary Medicine**. v.38, p.203–208, 1991.

GIRÃO, E.; UENO, H. Técnica quatro tamises metálicos. In: UENO, H.; GONÇALVES, P.C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 3.ed. Porto Alegre: JICA, 1994, p.62.

GORDON, H.M.; WHITLOCK, H.V.A., New technique for counting nematodes eggs in sheep faeces. **Journal of Commoun Science and Indust Organization**, v.12, p.50-52, 1939.

HOPE, C.M.J.; STRICKLAND, K.L.; CONWAY, A.; CROWE, P.J. Production effects of liver fluke in cattle. In: The effects of infection on live weight gain, food intake and food conversion efficiency in beef cattle. **British Veterinary Journal**. v.133, p.145–159, 1977.

JOHNSON, E.G. Effects of liver fluke on feedlot performance. **Agriculture and Practice**. v.12, p.33–36, 1991.

KITHUKA, J. M.; MAINGI, N.; NJERUH, F. M.; OMBUI, J. N. The prevalence and economic importance of bovine fasciolosis in Kenya – an analysis of abattoir data. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**. v.69, p.255-262, 2002.

LIMA W. S.; SOARES L. R. M.; BARÇANTE T. A.; GUIMARAES M. P.; BARÇANTE J. M. P. Occurrence of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) infection in Brazilian cattle of Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.18, n.2, p.27-30, 2009.

MANLY, B.F.J. **Randomization, Bootstrap and Monte Carlo Methods in Biology**. Ed. Western EcoSystem Technology, Wyoming, EUA, 2nd ed., 2006, 480p.

OAKLEY, G.A.; OWEN, B.; KNAPP, N.H. Production effects of subclinical liver fluke infection in growing dairy heifers. **Veterinary Records**. v.104, p.503–507, 1979.

PESSÔA, S.B.; MARTINS, A.V. **Parasitologia Médica**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 11<sup>a</sup> ed. 1982, 872p.

RAMOS, A.M.; ROMERO, H.Q.; MOLINA, C.G.; MARTINEZ, M.H. Frecuencia de fasciolosis através de cuatro técnicas de diagnóstico em toros sacrificados en la plaza México. **Veterinária México**. v.24, n.3, p.239-241, 1993.

RICKARD, L.G.; FOREYT, W.J. Experimental fascioliasis in llamas. **Journal of Helminthology**. v.59, n.1, p.140-144, 1992.

ROSS, J.G. The economics of *Fasciola hepatica* infections in cattle. **British Veterinary Journal**. v.126, p.13-15, 1970.

ROSS, J.G.; TODD J.R.; DOW C. Single experimental infections of calves with the liver fluke, *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758). **Journal of Comparative Pathology**, n.76, p.67-81, 1966.

SADJJADI, S.M.; TAKI, T.M.; ORYAN, A. Quantitative histopathology of liver and portal lymphnode in chronic bovine fascioliasis. **Indian Journal of Animal Sciences**, v.67, n.4, p.270-274, 1997.

SAMPAIO-SILVA, M.L.; DA COSTA, J.M.; DA COSTA, A.M.; PIRES, M.A.; LOPES, S.A.; CASTRO, A.M.; MONJOUR, L. Antigenic compounds of excretory–secretory products of adult *F. hepatica* recognized in human infections. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v.54, n.2, p.146–148, 1996.

SANTOS, J.A. **Patologia especial dos animais domésticos (mamíferos e aves)**. Rio de Janeiro, Interamericana. 2<sup>a</sup> ed. 1979, 576 p.

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

SERRA-FREIRE, N.M. Fasciolyse hepatica. **A Hora Veterinária**, n.1 p.13-18, 1995.

SINCLAIR, K.B. Pathogenesis of Fasciola and other liver-flukes. **Helminthological Abstracts**. v.36, n.2, p.115-134, 1967.

SIQUEIRA, P.A.; SERRA, O.P.; ROCHA, U.F.; SERRA, R.G. Fasciolose hepática em búfalo (*Bubalus bubalis* var. *bubalis*) Linnaeu, 1758, no Estado de São Paulo – Brasil. **Boletim da Indústria Animal**. p.27-28, 1970-71.

SOULSBY, E.J. **Parasitologia y Enfermedades Parasitarias**, 7ª ed., Interamericana, Mexico D.F., Mexico, 1987, 823p.

TORGERSON, P., CLAXTON, J., Epidemiology and Control, In: DALTON, J.P. **Fasciolosis**, Oxford, Londres, 1999, 543p.

TORGERSON, P.; CLAXTON, J. Epidemiology and Control, p.113-139. In: DALTON J.P. **Fasciolosis**. Londres. Cab international, 1999, 543p.

TUM, S.; PUOTINEN, M.L.; SKERRATT, L.F.; CHAN, B.; SOTHOEUN, S. Validation of a geographic information system model for mapping the risk of fasciolosis in cattle and buffaloes in Cambodia. **Veterinary Parasitology**. v.143, p.364–367, 2007.

VERCRUYSSSE, J.; CLAEREBOU, E. Treatment vs. non-treatment of helminth infections in cattle: defining the thresholds. **Veterinary Parasitology**. v.98, p.195–214, 2001.

YOKANANTH, S.; GHOSH, S.; GUPTA, S.C.; SURESH, M.G.; SARAVANAN, D. Characterization of specific and cross-reacting antigens of *Fasciola gigantica* by immunoblotting. **Parasitology Research**. v.97, n.1, p.41-48, 2005.

TABELA 3 – DESCRIÇÃO DOS ACHADOS AO EXAME HISTOPATOLÓGICO DOS FÍGADOS INFECTADOS EM GRAU LEVE (+), MODERADO (++) , ALTO(+++) POR *FASCIOLA HEPATICA* E NÃO INFECTADOS (-).

<b>Descrição / Grau de Infecção</b>	<b>Leve</b>	<b>Moderada</b>	<b>Alta</b>
Infiltrado de células linfoplasmocitárias	+	++	++
Proliferação de ductos biliares	-	+	+
Espessamento de parede das arteríolas	+	+	++
Presença de células polimórficas nucleadas	+	++	+++
Infiltrado eosinofílico	++	++	+++
Fibrose Periportal multifocal acentuado	+	++	+++
Fibrose em ponte	-	+	+++

Fonte: Autor (2009)

TABELA 4 – MÉDIA DE PESO DE BOVINOS NATURALMENTE INFECTADOS POR *FASCIOLA HEPATICA* E NEGATIVOS DURANTE O PERÍODO DE JANEIRO E SETEMBRO DE 2009

<b>Identificação</b>	<b>Peso (Kg)</b>	<b>Desvio Padrão (+/-)</b>
<b>Negativos</b>		
301108	492,5	14,40
301111	433,16	11,66
301112	467,66	19,08
301114	498,83	28,14
301118	461,16	13,83
301119	449,5	5,61
301124	398,66	14,23
301125	470,66	13,66
301129	388,66	20,70
<b>Média</b>	451,2	
<b>Positivos</b>		
441	344,66	37,39
72	411,83	13,99
301120	406,5	15,39
301121	414,16	16,44
301122	421,33	10,65
301126	350,66	41,52
301127	416,83	8,84
301131	448,16	21,11
301132	398,83	30,30
<b>Média</b>	401,4	

Fonte: Autor (2010)

TABELA 5 – VALOR DE P PARA A ANÁLISE DE MONTE CARLO EM CADA UMA DAS SEIS PESAGENS ENTRE O GRUPO NATURALMENTE INFECTADO E O GRUPO NEGATIVO PARA FASCIULOSE ENTRE JANEIRO E SETEMBRO DE 2009

<b>Pesagem</b>	<b>p-valor</b>
1 (Janeiro)	0,021
2 (Fevereiro)	0,043
3 (Abril)	0,045
4 (Maio)	0,02
5 (Julho)	0,012
6 (Setembro)	0

Fonte: Autor (2010).

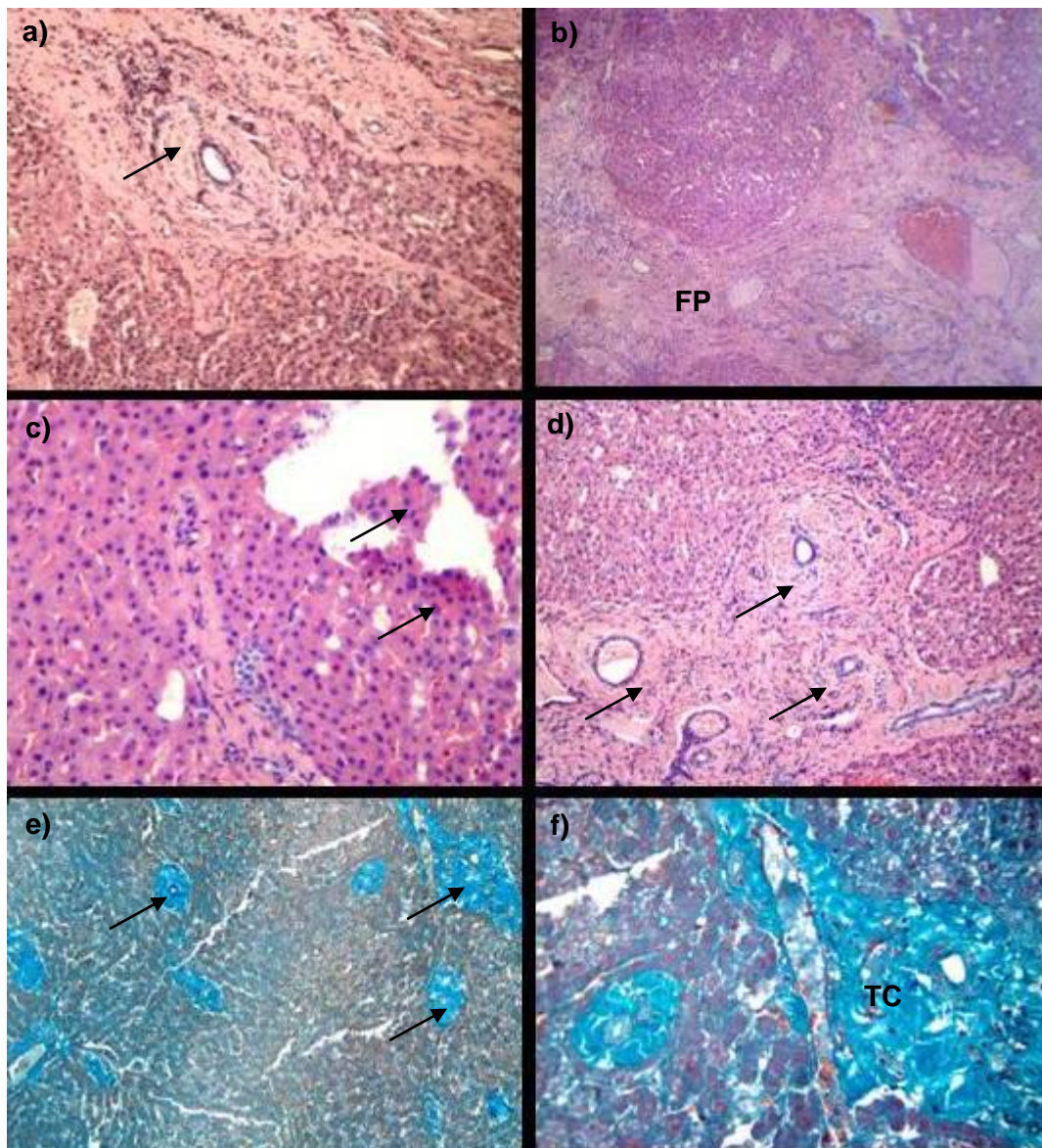


FIGURA 6 – CORTES HISTOLÓGICOS DOS FÍGADOS INFECTADOS POR *FASCIOLA HEPATICA*: a) MODERADO ESPESSAMENTO DO ESPAÇO PORTA; b) FIBROSE EM PONTE (FP); c) INFILTRADO DE CÉLULAS POLIMÓRFO NUCLEARES/EOSINOFÍLICO; d) FIBROSE PERIORTAL MULTIFOCAL ACENTUADO; e) COLORAÇÃO DE TRICRÔMICO DE MASSON EVIDENCIANDO TECIDO CONJUNTIVO (TC), AUMENTO DE 10X; f) AUMENTO DE 40X.

Fonte: O autor (2010)

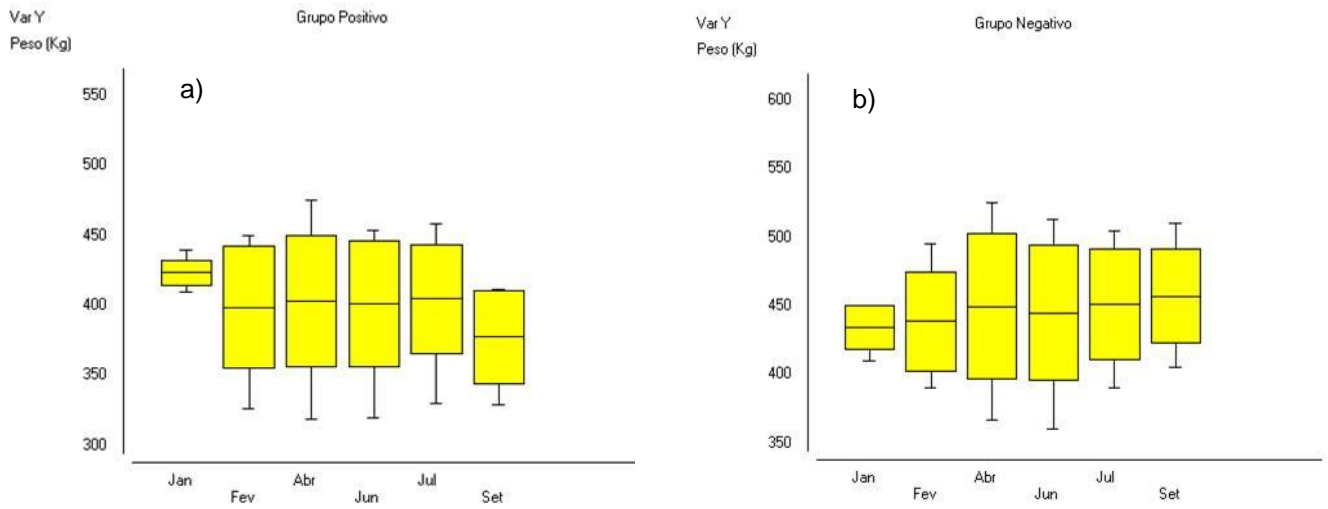


FIGURA 7 – AMPLITUDE E PESO MÉDIO DE BOVINOS INFECTADOS POR *FASCIOLA HEPATICA* (a) E GRUPO NEGATIVO (b) POR MÊS DURANTE JANEIRO E SETEMBRO DE 2009  
 Fonte: Autor (2010).

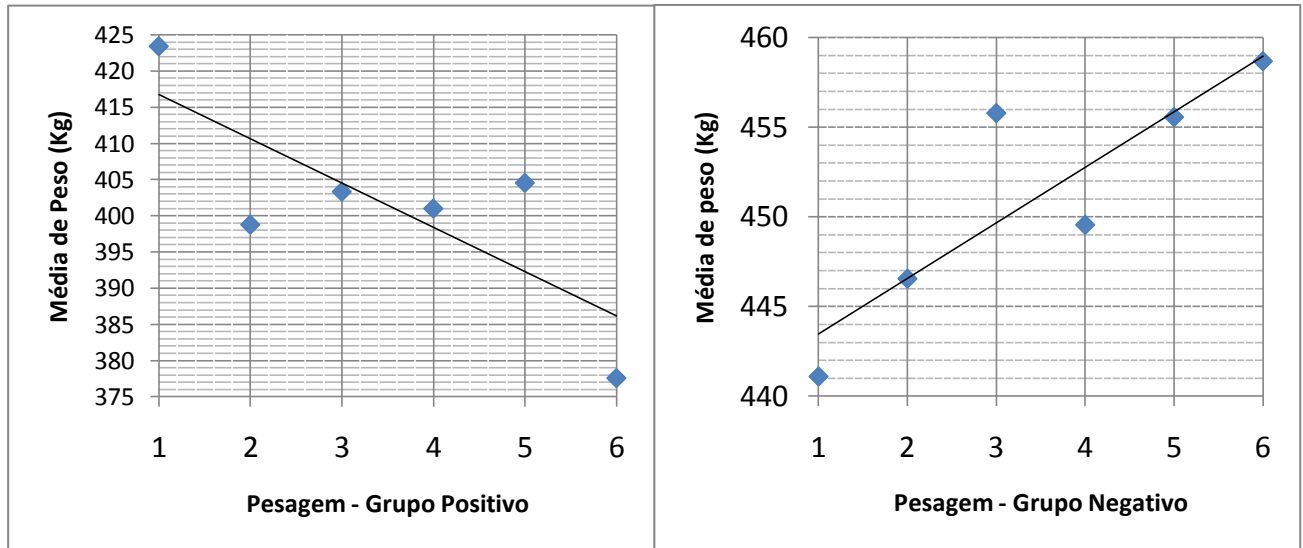


FIGURA 8 - EVOLUÇÃO DO PESO MÉDIO DURANTE AS SEIS PESAGENS DO GRUPO COM INFECÇÃO POR *FASCIOLA HEPATICA* E NEGATIVO ENTRE JANEIRO E SETEMBRO DE 2009

Fonte: O autor (2009)

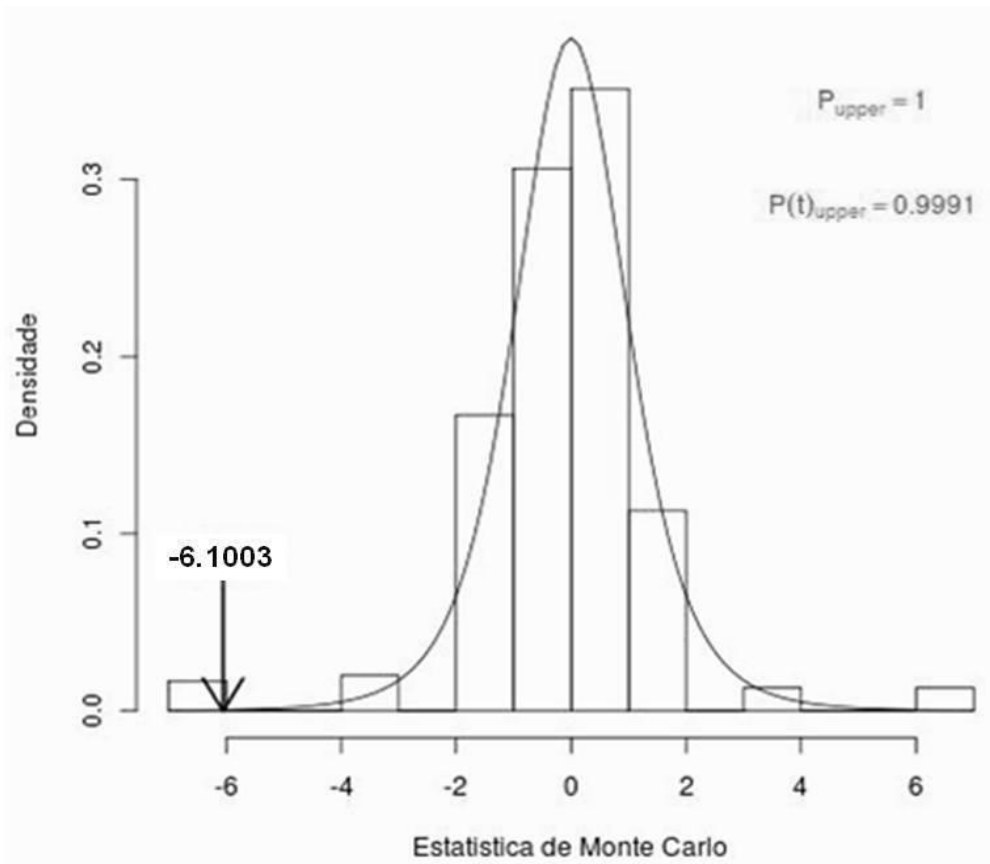


FIGURA 9 – HISTOGRAMA DA ANÁLISE DE MONTE CARLO, REFERENTE AO CÁLCULO TOTAL DE TODAS AS SEIS PESAGENS. VALOR DO TESTE -6.0535, CORRESPONDENDO A UM  $P=0,0001$

Fonte: Autor, 2010.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pesquisas envolvendo a *F. hepatica* são desenvolvidas em vários países, os quais detêm preocupações referentes a problemas nos rebanhos bovino e ovino. Estes estudos prevalecem sobre mecanismos biológicos de resistência a antiparasitários, biologia molecular, vacinas e a epidemiologia da fasciolose, que sabidamente são soluções esperadas por vários produtores rurais, na tentativa de diminuição dos prejuízos causados pela fasciola. No entanto, é importante ressaltar que a crescente incidência de casos humanos também preocupa, alertando para a ocorrência de uma zoonose de caráter importante em áreas endêmicas.

Para os casos citados acima, programas de controle devem iniciar pelo conhecimento do perfil epidemiológico dos animais e humanos. A ferramenta de geoprocessamento traz benefícios e vantagens na ilustração e análise da epidemiologia, sendo útil e eficaz para programas sanitários nos estados da federação brasileira, uma vez que não possuímos barreiras sanitárias. Assim, devido ao desconhecimento dos riscos de trânsito de animais e à ocorrência de abates clandestinos no País, programas de controle utilizando o geoprocessamento podem evitar o surgimento de endemias por agentes parasitários, como a *Fasciola*, em populações humana e animal.

Por meio do presente estudo demonstrou-se, de forma inédita no Brasil, como este foco pode favorecer o conhecimento da epidemiologia, com a confecção de mapas sobre a incidência e evolução da fasciolose. Além disso, a correlação desses dados com diferentes características ambientais das áreas endêmicas ajuda a entender a situação e auxilia o planejamento de controle da doença. Não obstante, é fato de que as doenças parasitárias consomem milhões de Reais ao ano em produtos antiparasitários e programas de controle, e algumas análises, como a de Monte Carlo, evidenciam ainda mais os prejuízos causados pela fasciola, ainda que estudos sobre estas perdas mereçam mais atenção em pesquisas no mundo inteiro.

Portanto, mais estudos necessitam ser direcionados para aprofundar o conhecimento da epidemiologia da fasciolose, com a determinação dos fatores de risco e do estabelecimento do caramujo do gênero *Lymnaea* em todo o Brasil. Também, o conhecimento genético do parasito e pesquisas moleculares são fundamentais para complementar o controle e prevenção da mesma, e entender

melhor os mecanismos de ação de resistência a antiparasitários, cada vez mais preocupante em todo o mundo e a vários parasitos.

Visando uma continuidade de estudos, fatores de conhecimento do genoma e caracterização do perfil sanitário em todo o Brasil, deverá ser conduzido a fim de complementar e trazer mais benefícios a pesquisadores, estudantes, profissionais e principalmente a produtores rurais, com novas perspectivas no campo da Medicina Veterinária.

## REFERÊNCIAS

BORAY, J. C.; TAIRA, N.; YOSHIFUJI H. Zoonotic Potencial of Infection with *Fasciola ssp.* by consumption of Freshly Prepared Raw Liver Containing Immature Flukes. **International Journal for Parasitology**. v.27, p.775-779, 1997.

BORAY, J.C. **Disease of Domestic Animals Caused by Flukes**. Food and Agricultural Organisation of the Untied Nations. 1994, 49p.

BORDIN, E.L. Revisão da anatomia patológica da fasciolose bovina. **A Hora Veterinária**. Edição extra nº 1, 1995.

BOWMAN, D.D. **Parasitology for Veterinarians**. 6ª Ed. EUA. 1995, 430p.

CHEN, M.G.; MOTT, K.E. Progress in assessment of morbidity due to *Fasciola hepatica* infection: a review of recent literature. **Tropical Disease. Bulletin**. v. 87, p.1-37, 1990.

KLEIMAN, F.; PIETROKOVSKY, S.; GIL, S.; WISNIVESKY-COLLI, C. Comparison of two coprological methods for the veterinary diagnosis of fasciolosis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.57, p.181-185, 2005.

KLIMIONTE, R.; MOLENTO, M.B.; TIELET, C.; GAVIÃO, A. Ocorrência da *Fasciola hepatica* no fígado de Bovinos abatidos no Rio Grande do Sul, RS – Brasil. **Revista de Patologia Tropical**. v.34, 2005.

REY, L. **Parasitologia**. 2ª ed. Guanabara Koogan, 1991, 731p.

ROKNI, M.B.; MASSOUD, J.; O'NEILL, S.M.; PARKINSON, M.; DALTON, J.P. Diagnosis of Human fasciolosis in the Gilan providence of Northern Iran: application of cathepsin L\_ELISA. **Parasitology**. v. 44, p.175-179, 2002.

SCHACHER, J. F.; KHALIL, G. M.; SALMAN, S. A field study on Halzoun (parasitic pharyngitis) in Lebanon. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v.68, p.226, 1965.

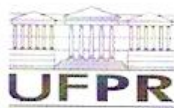
MAS-COMA, S.; ESTEBAN, J.G.; BARGUES, M.D. Epidemiology of human fascioliasis: a review and proposed new classification. **Bulletin of the World Health Organize**. v.77, p.340-346, 1999.

MAURE, E. A. P.; BUSTAMANTE, M.; SERRA-FREIRE, M. N.; GOMES, C. D. Dinâmica de *Lymnaea columella* (Say, 1817), hospedeiro intermediário de *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) em municípios do Estado de São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.35, n. 4, 1998.

## ANEXOS

ANEXO 1 –	APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA.....	88
ANEXO 2 –	FOTOS CARACTERÍSTICAS DA REGIÃO DA CAMPANHA MERIDIONAL DO RIO GRANDE DO SUL ONDE SE ENCONTRA A PROPRIEDADE EXPERIMENTAL.....	89
ANEXO 3 –	FOTOS DOS ANIMAIS UTILIZADOS NO EXPERIMENTO (POSITIVOS E NEGATIVOS PARA FASCILOSE), DA RAÇA POLLED HEREFORD, FÊMEAS, IDADES ENTRE 8 A 10 ANOS.....	91
ANEXO 4 –	FOTOS DOS OVOS DE <i>FASCIOLA HEPATICA</i> ENCONTRADOS NOS EXAMES DE QUATRO TAMISES DOS ANIMAIS POSITIVOS.....	92
ANEXO 5 –	FOTOS DAS FASCIOLAS COLETADAS NA INSPEÇÃO DE FÍGADOS BOVINOS NO FRIGORÍFICO MERCOSUL EM BAGÉ-RS E NO FRIGORÍFICO SILVA EM SANTA MARIA-RS.....	93
ANEXO 6 –	ARTIGOS TÉCNICOS PUBLICADOS.....	94
ANEXO 7 –	PUBLICAÇÃO DE ARTIGO CIENTÍFICO EM PERIÓDICOS.....	95
ANEXO 8 –	RESUMOS E TRABALHOS PUBLICADOS EM ANAIS DE CONGRESSOS.....	96

ANEXO 1 – COMPROVANTE DO COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Federal do Paraná  
Setor de Ciências Agrárias  
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA SCA

#### CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo no. 015/2008, referente ao projeto "Vigilância ativa da *Fasciola hepatica* em bovinos na região da campanha meridional do Rio Grande do Sul e diagnóstico molecular da resistência ao Triclabendazole", sob a responsabilidade de Leonardo Hermes Dutra, na forma em que foi apresentado, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias, em reunião realizada dia 15 de setembro de 2008. Este certificado expira em 15 de setembro de 2009.

#### CERTIFICATE

We certify that the protocol number 015/2008, regarding the project "Active surveillance of *fasciola hepatica* in cattle in region of campanha meridional do Rio Grande do Sul and molecular diagnostics resistance to the Triclabendazole", in charge of Leonardo Hermes Dutra, in the terms it was presented, was approved by the Animal Use Ethics Committee of the Agricultural Sciences Campus of the Universidade Federal do Paraná (Federal University of the State of Parana, Southern Brazil) during session on September 15, 2008. This certificate expires on September, 2009.

Curitiba, 15 de setembro de 2008



Rogério Ribas Lange  
Presidente



Fabiano Montiani Ferreira  
Vice-Presidente

Comissão de Ética no Uso de Animais  
Setor de Ciências Agrárias  
Universidade Federal do Paraná.

MERIDIONAL DO RIO GRANDE DO SUL ONDE SE ENCONTRA A PROPRIEDADE UTILIZADA PARA A EXPERIMENTAÇÃO COM OS ANIMAIS



FONTE: O autor (2009)



FONTE: O autor (2009)

FONTE: O autor (2009)



FONTE: O Autor (2009)

ANEXO 3 - FOTOS DOS ANIMAIS UTILIZADOS NO EXPERIMENTO (POSITIVOS E NEGATIVOS PARA FASCIIOLOSE), DA RAÇA POLLED HEREFORD, FÊMEAS, IDADES ENTRE 8 A 10 ANOS.

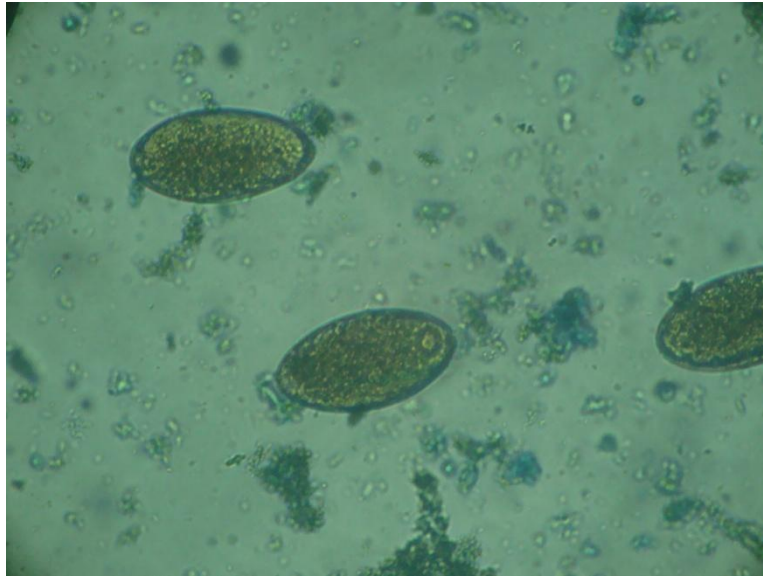


FONTE: O autor (2009)

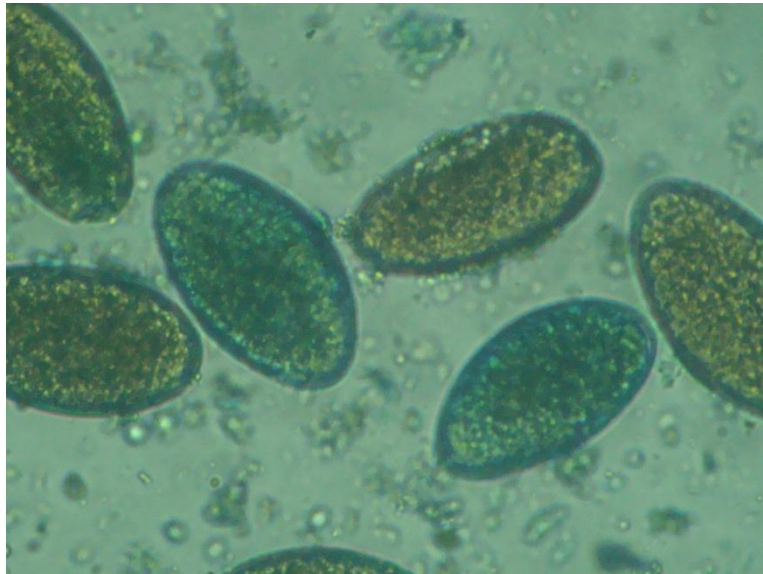


FONTE: O Autor (2009)

ANEXO 4 - FOTOS DOS OVOS DE *FASCIOLA* spp ENCONTRADOS NOS EXAMES DE BOVINOS PELA TÉCNICA DE QUATRO TAMISES.

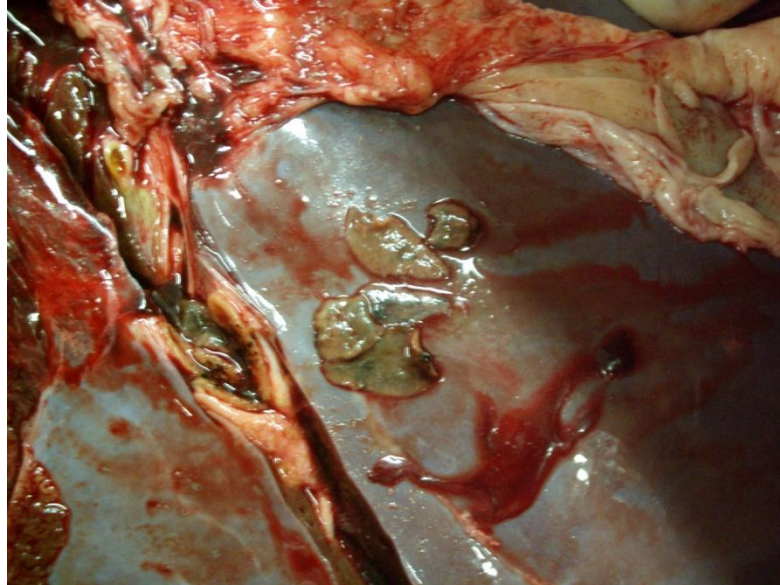


FONTE: O autor (2009)



FONTE: O autor (2009)

ANEXO 5 - FOTOS DAS FASCIOLAS COLETADAS NA INSPEÇÃO DE FÍGADOS BOVINOS NO FRIGORÍFICO MERCOSUL EM BAGÉ-RS E NO FRIGORÍFICO SILVA EM SANTA MARIA-RS.



FONTE: O autor (2009)



FONTE: O autor (2009)

## ANEXO 6 – ARTIGOS TÉCNICOS PUBLICADOS

1. MOLENTO, M.B.; DUTRA, L.H. *Fasciola hepatica* em ovinos e caprinos. **Revista eletrônica FarmPoint ovinos e caprinos**. Disponível em: <http://www.farmpoint.com.br/?actA=9&erroN=1&areaID=14&referenciaURL=noticiaID=45391||actA=7||areaID=3||secaoID=31>
  
2. MOLENTO, M.B.; DUTRA, L.H. Cuidados com os animais no tratamento antiparasitário. **O Berro: Revista Brasileira de ovinos e caprinos** – ISSN 0130-3344, nº 122, p. 22-28, maio de 2009.

## ANEXO 7 - PUBLICAÇÃO DE ARTIGO CIENTÍFICO EM PERIÓDICOS

1. 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** *in press.*, 2009.

ANEXO 8 - RESUMOS E TRABALHOS PUBLICADOS EM ANAIS DE  
CONGRESSOS

1. DUTRA, L.H.; MOLENTO, M.B.; NAUMANN, C.R.C.; SAVIO, D.; FORTES, F.S.; MALONE, J.B. Geographic Information System Surveillance of Fasciolosis in Cattle during 2003 to 2008 in Southern Brazil. **Anais**. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, Calgary, Canadá, 2009.
2. DUTRA, L.H.; MOLENTO, M.B.; NAUMANN, C.R.C.; SAVIO, D.; FORTES, F.S.; MALONE, J.B. Epidemiologia da Fasciolose Bovina no Brasil com auxílio do Sistema de Informação Geográfica na Região Sul. **Anais**. XXI Congresso Brasileiro de Parasitologia e II Encontro de Parasitologia do Mercosul, Foz do Iguaçu, Brasil, 2009.

## VITA

Leonardo Hermes Dutra é Médico Veterinário formado em 2006 pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria – RS. As principais linhas de pesquisas e trabalhos desenvolvidos foram na área de Patologia Clínica Veterinária e Medicina Veterinária Preventiva, onde foram apresentados no total seis trabalhos em congressos e participação como co-autor do livro “Prevenção.. ainda é o melhor remédio” com ênfase em zoonoses e programa sanitário de doenças nas populações. Participou de projetos de extensão e ensino: “Ações de Saúde da sala de aula à comunidade” e “Saúde na escola”, onde foi palestrante além de apresentar trabalhos nas escolas municipais no município de Santa Maria – RS.

Prestou serviços como Médico Veterinário autônomo no Município de Horizontina – RS, no período de 2006 a 2007, atuando em Clínica de Grandes e Pequenos animais, fomento a propriedades de bovinocultura de leite, vigilância sanitária e epidemiologia de doenças infecciosas, desenvolvendo colaboração com a Secretaria de Saúde no município para eventuais notificações e esclarecimento quanto a zoonoses na população rural.

Em 2008 e 2009, obteve treinamento em Sistemas de Informações Geográficas (SIG) em dois cursos e EPI-INFO. Obteve um artigo aceito no periódico *Veterinary Parasitology* (Impact Factor: 2,039) sobre fasciolose e geoprocessamento. Foi por duas vezes integrante da banca do EVINCI (Programa de Iniciação Científica da Universidade Federal do Paraná).

Atualmente atua em linhas de pesquisas referentes à epidemiologia parasitárias de animais domésticos, zoonoses, Geoprocessamento e Biologia Molecular.