

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Biológicas - ICB
Programa de Pós-graduação em Parasitologia

Raphael Meira Becattini

**LEVANTAMENTO DE *FASCIOLA HEPATICA* EM BOVINOS NA MESORREGIÃO
METROPOLITANA DE BELO HORIZONTE**

Belo Horizonte

2022

Raphael Meira Becattini

**LEVANTAMENTO DE *FASCIOLA HEPATICA* EM BOVINOS NA MESORREGIÃO
METROPOLITANA DE BELO HORIZONTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito para obtenção do título de Mestre em Parasitologia

Orientador: Walter dos Santos Lima

Coorientadora: Cíntia Aparecida de Jesus Pereira

Belo Horizonte

2022

043

Becattini, Raphael Meira.

Levantamento de Fasciola hepática em bovinos na mesorregião metropolitana de Belo Horizonte [manuscrito] / Raphael Meira Becattini. – 2022. 67 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Walter dos Santos Lima. Coorientadora: Cíntia Aparecida de Jesus Pereira.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Parasitologia.

1. Parasitologia. 2. Trematódeos. 3. Fasciola hepática. 4. Fasciolíase. I. Lima, Walter dos Santos. II. Pereira, Cíntia Aparecida de Jesus. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 576.88/.89



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
COLEGIADO DO PROGRAMA DE GRADUAÇÃO PÓS-GRADUAÇÃO EM PARASITOLOGIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

DISSERTAÇÃO: 439/2022/08

**TÍTULO: "LEVANTAMENTO DE FASCIOLA HEPATICA EM BOVINOS NA
MESORREGIÃO METROPOLITANA DE BELO HORIZONTE"**

ALUNO: RAPHAEL MEIRA BECATTINI

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: HELMINTOLOGIA

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia **nove de agosto de 2022**, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação Parasitologia da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes doutores:

Laura Lúcia dos Santos Oliveira

UNIMONTES

Marcos Paulo Gomes Mol

FUNED

Cíntia Aparecida de Jesus Pereira - Coorientadora

UFMG

Walter dos Santos Lima- Orientador

UFMG

Belo Horizonte, 09 de agosto de 2022.



Documento assinado eletronicamente por **Walter dos Santos Lima, Professor do Magistério Superior**, em 10/08/2022, às 12:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cintia Aparecida de Jesus Pereira, Professora do Magistério Superior**, em 10/08/2022, às 12:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcos Paulo Gomes Mol, Usuário Externo**, em 10/08/2022, às 14:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Laura Lúcia dos Santos Oliveira, Usuária Externa**, em 10/08/2022, às 15:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1606590** e o código CRC **9783F2BE**.

Esse trabalho foi realizado no Laboratório de Helminologia Veterinária (LabHelVet) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

Instituições que contribuíram para a realização deste trabalho:

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**)

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (**CNPq**)

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (**FAPEMIG**)

Dedico esse trabalho a meu filho Thomaz que me trouxe novo propósito na vida.

AGRADECIMENTOS

- Agradeço ao meu orientador Professor Walter dos Santos Lima, pelos ensinamentos e mentoria, sempre disponível atencioso e disposto a ajudar.
- Agradeço também a minha coorientadora Professora Cíntia Aparecida de Jesus Pereira, por ter me acompanhado em todas as etapas do projeto.
- Agradeço ao Instituto Mineiro de Agropecuária, através dos técnicos médicos veterinários Euvânia de Oliveira Cunha e Marcelo de Moraes Batista, pela ajuda com o material de pesquisa.
- Aos proprietários das fazendas, áreas onde iniciei os meus conhecimentos em estudos de campo, os meus agradecimentos.
- Agradeço ao Weder Gomes de Oliveira pela execução do trabalho de campo, bem como, no processamento das amostras.
- À Sumara Aparecida, secretária do curso de Pós-Graduação em Parasitologia, pelo exemplo de competência e honestidade e ainda pelo carinho e atenção com que nos acolhe.
- Agradeço a toda a equipe do LabHelVet, que me ajudou durante os procedimentos realizados ao longo do projeto, especialmente aos envolvidos no projeto do levantamento epidemiológico de *Fasciola hepatica* em Minas Gerais, Sabrina Oliveira, Natália Gonçalves, Lorena Araújo, Ana Paula Ferreira e a todos os estudantes do LabHelVet que compartilharam comigo momentos de descontração. A Luiza da Silva pela dedicação em preparar as lâminas de *Fasciola hepatica* e *Eurytrema coelomaticum*.
- Agradeço a minha família, meu pai Elson e minha mãe Gislene, além do meu irmão Gustavo, por terem paciência comigo e sempre me dar apoio. Em especial gostaria de agradecer a minha esposa Mariane e meu filho Thomaz, pela força e apoio ao longo do projeto. Além de agradecer a meus amigos pela paciência e companheirismo durante todo o processo desse trabalho.

RESUMO

Fasciola hepatica é um trematódeo digenético que parasita o parênquima hepático e ductos biliares de ruminantes e outros mamíferos, inclusive o homem. A fasciolose causa grandes perdas econômicas a pecuária mundial devido a dentre outras, perda de peso, queda na produção e na qualidade de leite, lã e da carne e condenação de fígados nos frigoríficos. No Brasil, a fasciolose apresenta-se em expansão, com a maior área enzoótica situada na região Sul. Em Minas Gerais, os registros são descritos em diversas regiões de forma isolada e novos casos em regiões antes consideradas indenes têm sido relatados. A identificação de *F. hepatica* pode iniciar durante o abate, contudo, o comércio de animais entre regiões enzoóticas para regiões indenes, bem como, a falta de conhecimento sobre características do parasito, sobre a dinâmica da infecção e da doença conduzem a dados epidemiológicos equivocados. Por este motivo, o objetivo do estudo foi realizar uma caracterização de fasciolose hepática em fígados bovinos condenados em Minas Gerais, bem como, um levantamento coproparasitológico para *F. hepatica* em municípios da região metropolitana de Belo Horizonte. Para tal, obteve-se os dados de fígados condenados por meio da Gerência de Inspeção de Produtos (GIP) do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) para analisar o número de casos por ano e por região do estado. Considerando o intervalo entre os anos de 2009 e 2018, os dados obtidos por este trabalho, apresentaram uma menor taxa de condenação de fígado em 2009 e maior em 2015, com tendência positiva para o número de casos de fasciolose em Minas Gerais. Para confirmação morfológica de *F. hepatica*, iniciou-se o levantamento de *F. hepatica* na região metropolitana de Belo Horizonte (RMBH). Dos 70 fígados de bovinos enviados por frigoríficos para o Laboratório de Helmintologia Veterinária do ICB/UFMG, 60 % não estavam infectados por *F. hepatica*. No entanto, ao realizar a técnica de quatro tamises para recuperar ovos dos parasitos nos municípios de Itaguara e Crucilândia, observou-se que 66% das fazendas haviam bovinos positivos, com taxas de infecção variando entre 18,18% a 66,66%. Nas duas fazendas com maiores taxas de infecção em bovinos (47,05%;66,66%) foi encontrado ovos de *F. hepatica* no bolo fecal de equinos residentes nas fazendas, sendo esse o primeiro relato de *F. hepatica* em equinos em Minas Gerais. De forma conjunta com essa coleta foi realizada aplicação de questionário aos proprietários, além de observação direta das paisagens das propriedades. Foi demonstrado que manejo incorreto associado as condições ambientais favorecem o ciclo do parasito, o que influencia diretamente nos indicies de infecção.

Palavras-chave: *Fasciola hepatica*; Trematoda; fígados condenados; Fasciolose; Minas Gerais, ruminantes

ABSTRACT

Fasciola hepatica is a digenetic trematode that parasites the hepatic parenchyma and bile ducts of ruminants and other mammals, including humans. Fasciolosis causes great losses in livestock raising worldwide due to, among others, the loss of weight, production and quality loss of milk, meat and wool and condemning livers at the slaughterhouse. In Brazil, the fasciolosis is expanding, with the greatest enzootic area being the south region. In Minas Gerais, there are isolated records in every region, with new cases in regions previously considered free being reported. The identification of *F. hepatica* can be initiated during the slaughter, however, the animal commerce between free and enzootic regions, just as the lack of knowledge about the parasite characteristics and the infection dynamics and of the disease itself lead to misleading epidemiological data. For this reason, the objective of the study was to make a characterization of the *F. hepatica* in condemned bovine livers in Minas Gerais, such as, a coproparasitologic survey for *F. hepatica* in counties in the metropolitan region of Belo Horizonte. For it, condemned liver data was obtained through the Management of Product Inspection (GIP) of the Mineiro Agriculture Institute (IMA) to analyze the yearly number of cases and the by regions of the state for analysis. Considering the interval of 2009 and 2018, the data obtained by this work presented a lower liver condemnation rate in 2009 and higher in 2015, with a positive tendency for the number of fasciolosis in Minas Gerais. For morphological confirmation of *F. hepatica*, a survey on *F. hepatica* in the metropolitan region of Belo Horizonte (RMBH) was started. Of the 70 bovine livers sent by slaughterhouses to the Veterinary Helminthology Laboratory on ICB/UFMG, 60% weren't infected by *F. hepatica*. However, when utilizing the four tamises technique to recover parasite eggs on animals originated on positive farms inserted in the Itaguara county and Crucilândia, it was observed that 66% of the farms had positive bovines, with an infection rate between 18,18% and 66,66%. In the two farms with the biggest infection rate on bovines (47,5% and 66,66%) *F. hepatica* eggs were found in the feces of equines that shared the space, being this the first report of *F. hepatica* in equines in Minas Gerais. Along with this collection, a form was applied on the owners of the farms, with the direct observation of the landscape of the property. The data acquired showed that incorrect handle associated with environmental conditions favor the parasite cycle and exert direct influence on the infection rate.

Keywords: *Fasciola hepatica*, trematoda, condemned livers, Fasciolosis, Minas Gerais, Ruminants

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Mapa do Tamanho amostral de casos de <i>F. hepatica</i> por cada região entre os anos de 2009 e 2018. -----	37
Figura 2 – Regressão linear do número total de casos de <i>F. hepatica</i> por ano entre 2009 e 2018. --	38
Figura 3 – Regressão linear do número total de casos de <i>F. hepática</i> entre 2009 e 2018 das mesorregiões Metropolitana de Belo Horizonte (RMBH), Sul (SUL), Zona da Mata (ZDM), Oeste (OE), Vale do Rio Doce (VDRD), Central (CEN) e Vale do Mucuri (VDM) -----	39
Figura 4 – Regressão linear do número total de casos de <i>F. hepatica</i> entre 2009 e 2018 das mesorregiões Centro-Sul (C/S) e Triangulo Mineiro (TRI). -----	40
Figura 5 – Regressão linear do número total de casos de <i>F. hepática</i> entre 2009 e 2018 da mesorregião Noroeste (NOE). -----	40
Figura 6 - Lâminas coradas de <i>Fasciola hepatica</i> e <i>Eurytrema coelomaticum</i> . -----	42
Figura 7 - Fígados apresentando lesões causadas pela presença de <i>F. hepatica</i> . -----	43
Figura 8 – Ductos biliares com lesões causadas por <i>F. hepatica</i> . -----	44
Figura 9 – Lesões no fígado causadas por <i>F. hepatica</i> . -----	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Número total de casos de fígados condenados de bovinos segundo dados da Gerência de Inspeção de Produtos de Origem Animal (GIP). -----	31
Tabela 2 – Número médio de casos positivos para fasciolose bovina por ano entre 2009 e 2018. -- -----	35
Tabela 3 - Número médio de casos positivos, para fasciolose bovina, por mês entre os anos de 2009 e 2018. -----	35
Tabela 4 – Número médio de fígados condenados em cada região entre os anos de 2009 e 2018. - -----	36
Tabela 5 - Número total de fígados confirmados com <i>F. hepatica</i> por município analisado entre 2018 e 2022. -----	41
Tabela 6 - Tabela das propriedades nos municípios em que foram coletadas amostras de bovinos e outros animais em na região Metropolitana de Belo Horizonte e Colar Metropolitano. -----	51
Tabela 7 - Infecção por <i>Fasciola hepatica</i> nos animais das propriedades rurais dos municípios Itaguara e Crucilândia, MG, segundo variáveis relacionadas à fatores ambientais observados. -	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

C/S - Região Centro-Sul

CDC - Controle e Prevenção de Doenças

CEN - Região Central

FDA - Food and Drug Administration

IMA – Instituto Mineiro de Agropecuária

JEQUI – Região do Jequitinhonha

GIP – Gerencia de Inspeção de Produtos de Origem Animal

GTA – Guia de Transporte Animal

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MG – Minas Gerais

NOE – Região Noroeste

NORTE – Região Norte

OE – Região Oeste

RMBH – Região Metropolitana de Belo Horizonte

SIE – Sistema de Inspeção Estadual

SIF – Sistema de inspeção Federal

SUL – Região Sul

TALE – Termo de Assentimento Livre e Esclarecido

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TRI – Triângulo Mineiro

VDM – Vale do Mucuri

VRRD – Vale do Rio Doce

ZDM – Zona da Mata

SUMARIO

1. REVISÃO DE LITERATURA -----	16
1.1. <i>Taxonomia e Morfologia</i> -----	16
1.2. <i>Biologia</i> -----	17
1.3 <i>História, Distribuição e Epidemiologia</i> -----	18
1.4 <i>Patologia</i> -----	21
1.5 <i>Sinais e Sintomas Clínicos</i> -----	22
1.6 <i>Diagnóstico</i> -----	23
1.7 <i>Tratamento e Controle</i> -----	23
2. JUSTIFICATIVA -----	25
3. OBJETIVOS -----	26
3.1. <i>Objetivo Geral</i> -----	26
3.2. <i>Objetivo específico</i> -----	26
4. CAPÍTULO I - Caracterização de <i>Fasciola hepatica</i> em fígados bovinos condenados no estado de Minas Gerais.	
4.1. INTRODUÇÃO -----	27
4.2 METODOLOGIA -----	28
4.2.1. <i>Planilha de inspeção do Instituto Mineiro de Agropecuária</i> -----	28
4.2.2. <i>Amostras de fígados condenados no IMA</i> -----	29
4.2.3. <i>Análise estatística</i> -----	30
4.2.4. <i>Comitê de ética</i> -----	30
4.3. RESULTADOS -----	30
4.3.1. <i>Dados nosográficos do Instituto Mineiro de Agropecuária</i> -----	30
4.3.2. <i>Análise dos fígados</i> -----	40
4.4. DISCUSSÃO -----	45
5. CAPÍTULO II - Epidemiologia de <i>Fasciola hepatica</i> em animais da região metropolitana de Belo Horizonte.	
5.1. INTRODUÇÃO -----	48
5.2. METODOLOGIA -----	49
5.2.1. <i>Seleção da área de estudo</i> -----	49
5.2.2. <i>Coleta de ovos nas fezes</i> -----	49
5.2.3. <i>Coleta de dados das propriedades</i> -----	50
5.2.4. <i>Comitê de ética</i> -----	50

5.3. RESULTADOS -----	51
5.3.1. <i>Area de estudo e identificação de F. hepatica</i> -----	51
5.3.2. <i>Característica das amostras de fezes</i> -----	51
5.3.3. <i>Característica das propriedades rurais</i> -----	52
5.3.4. <i>Características descritivas das propriedades rurais</i> -----	54
5.4. DISCUSSÃO -----	55
6. CONCLUSÃO -----	57
REFERENCIAS -----	58
ANEXO 1: Questionário-----	62
ANEXO 2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido -----	63

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 *Taxonomia e Morfologia*

Fasciola hepatica pertence ao Reino Animalia, Filo Platyhelminthes, Classe Trematoda (RUDOLPHI, 1808), Subclasse Digenea (VAN BENEDEN, 1858), Família Fasciolidae (RAILLIET, 1895), Subfamília Fasciolinae (HASSAL, 1898), Gênero *Fasciola* (LINNAEUS, 1758), Espécie *Fasciola hepatica* (LINNAEUS, 1758). A fasciolose causa grandes perdas econômicas a pecuária mundial devido a perda de peso, infecções secundárias, queda na produção e na qualidade do leite, lã e da carne, redução na fertilidade, abortos, atraso no crescimento, gastos com o tratamento, morte de animais e condenação de fígados nos frigoríficos.

O parasito adulto possui aspecto foliáceo, medindo cerca de 3,0 cm de comprimento por 1,5 cm de largura e cor pardo acinzentada. Apresenta uma ventosa oral, localizada na extremidade anterior, a partir da qual segue uma curta faringe. Dessa, partem dois ramos cecais extremamente ramificados, um de cada lado, até a extremidade posterior. Abaixo da ventosa oral está localizada a ventosa ventral e junto a esta, observa-se a abertura do poro genital. *Fasciola hepatica* é hermafrodita, possuindo aparelho genital feminino composto por um ovário ramificado, oótipo, útero e glândulas vitelinas extremamente ramificadas ocupando as partes laterais e posterior do parasito, e aparelho genital masculino composto de dois testículos muito ramificados, canal eferente, canal deferente e bolsa do cirro, correspondente ao órgão copulador. A abertura do poro genital é comum ao sistema genital masculino e feminino. O tegumento é coberto por espinhos disseminados na porção anterior, que auxiliam na fixação do helminto nos ductos biliares (GUIMARÃES, 2016). O sistema nervoso central compreende um par de gânglios, um à esquerda e outro à direita da faringe, logo abaixo da ventosa oral. Estes gânglios são conectados por junções transversais que percorrem toda a superfície dorsal da faringe. Dos gânglios partem três cordões nervosos, um ventral, um lateral e um dorsal. O sistema nervoso periférico compreende fibras e corpos celulares abaixo do tegumento. O sistema digestório possui faringe, esôfago e ceco, que termina em fundo cego. O sistema excretor é constituído por células-flama conectadas por túbulos que lançam seus produtos de excreção para fora do corpo através de um poro situado na porção terminal do parasito (FAIRWEATHER et al., 1999).

1.2 Biologia

Os parasitos adultos, encontrados nos ductos biliares, produzem ovos operculados não embrionados que, com a bile, passam para o intestino e são eliminados nas fezes dos hospedeiros definitivos. No ambiente, o ovo inicia o desenvolvimento da larva miracídio no seu interior, em um período de 08 a 14 dias, dependendo de fatores ambientais, como a temperatura, a umidade, a oxigenação e a luminosidade. Em contato com a água e estimulado pela luz solar, o miracídio eclode, locomove-se ativamente com o auxílio das placas ciliadas, até encontrar o hospedeiro intermediário, moluscos limneídeos, como os do gênero *Lymnaea*. O miracídio, então, penetra nas partes moles do molusco, transforma-se em esporocisto, contendo no seu interior células germinativas que originam outra forma evolutiva, as rédias. As rédias apresentam abertura bucal, tubo digestivo primitivo, poro de nascimento e células germinativas que podem dar origem a rédias de segunda geração (quando as condições do meio são adversas) ou cercárias. No ambiente aquático, ao saírem ativamente das rédias pelo poro de nascimento, as cercárias movimentam-se com ajuda de sua cauda única, não bifurcada. Após alguns minutos, perdem a cauda, lançam a secreção das glândulas cistogênicas e encistam-se, fixando na vegetação ou na superfície da água, dando origem as metacercárias, forma infectante para os hospedeiros definitivos. O período da penetração do miracídio no molusco até a eliminação das cercárias varia entre 50 a 60 dias, ou até mais, dependendo das condições ambientais. Os hospedeiros definitivos infectam-se ao ingerirem vegetação ou água contendo as metacercárias. Após a ingestão, as metacercárias desencistam-se no trato gastrointestinal e os parasitos jovens atravessam a parede do intestino delgado, alcançam a cavidade peritoneal e migram até atingirem o fígado. Após atravessar a cápsula hepática, os parasitos imaturos migram pelo parênquima hepático, onde se alimentam de tecidos, restos celulares e sangue. Em hospedeiros naturais, como ovinos e bovinos, partir de 45 dias atingem os ductos biliares, alcançando a maturidade. Os ovos começam a ser eliminados juntamente com as fezes em torno de 60-70 dias (UETA, 1980; ANDREWS 1999; RIBEIRO et al., 2017).

1.3 História, Distribuição e Epidemiologia

A primeira referência à infecção por *Fasciola* foi feita em ovelhas em 1379 por Jean de Brie, francês nomeado pelo Rei Charles V para escrever um tratado sobre o manejo de ovinos para aprimorar a produção de lã, que relatou que a existência de “erva daninha de folhas que vivem no fígado, que não retornam à garganta dos animais como outras ervas, mas sim corroem e destroem todo o fígado do animal”. Tal parasito foi mencionado novamente em ovelhas em 1523 pelo britânico Sr. Anthony Fitzherberte e pelo espanhol Conrad Gesner em 1551 em seu tratado “História Animalium”. As primeiras ilustrações de *Fasciola spp.* foram feitas por Francesco Redi em 1668, que recuperou helmintos de carneiros observou as mesmas características em vermes de vesícula biliar de lebres, correlacionando a forma e o local do parasito recuperado.

Atualmente, estudos mostram que a família Fasciolidae (RAILLET, 1895) incorpora grandes helmintos, que parasitam os ductos biliares de animais selvagens e domésticos (ROJO-VAZQUEZ et al., 2012).

A dispersão de *F. hepatica* pode ser explicada pela transumância de animais domésticos, principalmente de bovinos, caprinos e ovinos, e a introdução de moluscos limnédeos de diferentes regiões geográficas, principalmente no período das grandes navegações, favorecendo o estabelecimento do ciclo biológico do parasito na África, Américas, Ásia e Oceania em regiões que apresentavam características favoráveis de temperatura, disponibilidade de água-doce e possibilidade de associações fitossociologias e faunísticas (HONER, 1979).

A prevalência da doença é bastante variada na Europa e é relatada a infecção em rebanhos bovinos na Espanha, França, Reino Unido e Itália (GONZÁLEZ-LANZA et al., 1989; POGLAYEN et al., 1995) e em ovinos no Nordeste da Espanha (PAZ-SILVA et al. 2003).

No norte da África, em Marrocos, a prevalência de *F. hepatica* foi relatada em bovinos e em cabras (TORGERSON & CLAXTON, 1999) e em bovinos na Etiópia (YILMA & MESFIN, 2000).

Na China, Wang et al. (2006) encontraram uma prevalência de 28,5% de um total de 326 fígados condenados de ovinos adultos por *F. hepatica*.

Na América do Norte, os Estados Unidos e o Canadá também apresentam registros de fasciolose em bovinos (TORGERSON & CLAXTON, 1999).

Na América Latina, há registro da doença em vários países. Foi verificada uma prevalência de 1,2% de 132 amostras de fezes de humanos analisadas no município de Caujul, no Peru (CARPIO & IWASHITA, 2008). Na Argentina, um estudo de um caso de fasciolose humana mostrou que dos 101 exemplares de moluscos coletados na região, dois estavam infectados por

larvas de *F. hepatica* e a prevalência de infecção nos animais foi de 100% (10/10) para caprinos, 82% (9/11) para ovinos e 86% (6/7) para bovinos (RUBEL et al., 2005). APT et al. (1993) descreveram, entre janeiro de 1986 e dezembro de 1990, a prevalência da fasciolose em humanos (0,7%), equinos (13,5%), suínos (20,6%) e coelhos silvestres (6,1%), no Chile. No sudoeste do México, um estudo analisou 1.199 amostras fecais de caprinos e encontrou uma prevalência de 24,5% positivas e das 381 amostras fecais de ovinos a prevalência foi de 19,4% positivas (MUNGUÍA-XÓCHIHUA et al., 2007).

No Brasil, o primeiro relato sobre o parasito ocorreu quando foi encontrado *F. hepatica* em fígados de bovinos no município de Três Rios, estado do Rio de Janeiro (LUTZ, 1921). A partir de disso, os estudos foram baseados, principalmente, na ocorrência e prevalência da doença em bovinos abatidos em frigoríficos.

No Rio Grande do Sul, Oliveira (1932) examinou 158.467 fígados de bovinos originários de dezesseis municípios diferentes abatidos em frigorífico, mostrando uma prevalência de 11,8%.

Em meados da década de 1970, segundo Honer (1979), o problema da fasciolose no país, nessa época, apresentava dois aspectos importantes: um com relação à dispersão, na região centro-sul, onde a fasciolose ocorria nas criações intensivas de gado de leite, e o outro na região Sul, área que apresentava maior ocorrência no Brasil, onde a doença estava presente em rebanhos de criações extensivas de gado de corte. Nesse mesmo período, outra área que começou a chamar atenção foi a região sudeste, no Vale do Paraíba, estado de São Paulo.

Um estudo helmintológico em animais de pequenos produtores realizado no município de Itajaí (RJ) mostrou a presença de ovos de *F. hepatica* em 100% dos animais amostrados, como ovinos, caprinos e equinos, explorados em pastejo consorciado. Segundo os autores, este é o primeiro caso da doença nos animais mencionados na região Sudeste do Brasil (SANTOS et al., 2000). Outro estudo, realizado por Pile et al. (2001) no município de Maricá, também no RJ, identificou a presença de ovos do parasito nas fezes de búfalos jovens e adultos utilizando a técnica de Quatro Tamises, com índice de ocorrência de 2,5%.

No Espírito Santo, Bernardo et al. (2011) avaliaram as perdas econômicas e a porcentagem de condenação devido a fasciolose no estado. Observaram, ao analisar dados oriundos de um matadouro localizado no município de Atilio Vivacqua, que a prevalência de condenação aumentou consideravelmente entre os anos de 2006 e 2009, sendo em 2006 de 15,24%, em 2007 de 23,93%, em 2008 de 28,57% e em 2009 de 28,24%, em um total de 110.956 bovinos abatidos nesse período. Em outro estudo, dados também coletados de um matadouro do município de Atilio Vivacqua (ES) durante os anos de 2008, 2009 e 2010 mostraram que de 102.492 bovinos abatidos e inspecionados,

43,5% apresentaram lesões ou alterações hepáticas diagnosticadas, sendo que 27,04% foram decorrentes da fasciolose (VIEIRA et al., 2011).

No estudo de Bennema et al. (2014), foram utilizados dados da prevalência de *F. hepatica* em bovinos abatidos em 1.032 municípios do país, onde fígados foram condenados por causa do helminto pelo Serviço de Inspeção Federal (MAPA/SIF). Em onze estados observou-se pelo menos um animal infectado: Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Pará, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo. A prevalência mais elevada da doença foi observada nos estados da região Sul, com presença de focos da fasciolose no Rio Grande do Sul e ao longo do litoral do Paraná e Santa Catarina.

Em Minas Gerais os registros de *F. hepatica* em bovinos foram realizados por Carvalho (1940), no município de Viçosa, localizado na mesorregião Sul. Em relação ao abate de animais, Ribeiro (1949), demonstrou que existiam fígados condenados em frigoríficos pela presença de *F. hepatica* nesse mesmo município. Os autores Caldas et al. (1995) obtiveram em torno de 1,5% de amostras positivas para *F. hepatica* examinadas a partir de 3.086 bovinos de seis mesorregiões de MG, sendo que a maior prevalência ocorreu no município de Itajubá (9,05%) e recentemente, Lima et al. (2009) observaram que 70% dos bovinos examinados na região de Itajubá apresentavam ovos de *F. hepatica* nas fezes e dos 135 *L. columella* coletados no município, 2,96% dos moluscos abrigavam formais larvais de *F. hepatica*. Esses autores constataram *F. hepatica* em bovinos de 16 dos 120 municípios de MG pesquisados, em um total de 1.251 amostras de fezes. Na região do vetor Norte do município de Belo Horizonte - MG, Dracz & Lima (2014) encontraram de um total de 250 amostras de fezes (176 de bovinos e 74 de bubalinos) provenientes dos municípios de São José da Lapa e Pedro Leopoldo, 54 animais positivos para *F. hepatica*, sendo 33 bovinos (18,75%) e 21 bubalinos (28,37%). A infecção em Minas Gerais é favorecida pela presença de ambiente adequado aos hospedeiros intermediários, sendo no Brasil o *Lymnaea (Pseudosuccinea) columella* o principal hospedeiro, o que permite que o ciclo se complete em propriedades por todo o estado, e que ocorra uma dispersão da infecção por outras propriedades (LIMA et al., 2009; DRACZ E LIMA, 2014).

No estado do Amazonas, Maciel et al. (2018) e realizaram um estudo de prevalência e fatores associados à fasciolose no Município de Canutama, em decorrência a um surto da parasitose em humanos no ano de 2005, e constataram uma prevalência de 1,8% da doença humana no município.

Os relatos da infecção em humanos ocorrem em regiões endêmicas da fasciolose animal, geralmente em comunidades rurais onde o homem e o rebanho compartilham a água, ou quando há o consumo de vegetal cru (ROBINSON et al., 2009).

No Brasil *F. hepatica* acomete humanos nas regiões Sul, Centro-Oeste, Sudeste, Nordeste e Norte, com maior número de casos na região Sul e aumento na região Sudeste (LIMA et al., 2009).

1.4 Patologia

A patogênese da fasciolose pode ser compreendida a partir da ingestão das metacercárias, com densencistamento do parasito jovem no intestino delgado, local onde ocorre a primeira interação entre o parasito e os tecidos do hospedeiro, sendo diretamente associada à espécie de hospedeiro definitivo infectado, à carga parasitária e às características bioquímicas do parasito durante os diferentes estágios de seu desenvolvimento (BORAY, 1967; BEHM & SANGSTER, 1999).

A migração de *F. hepatica* pelo organismo do hospedeiro definitivo inicia-se quando as metacercárias desencistam-se e os parasitos jovens penetram a mucosa intestinal, rompendo as camadas mucosa, submucosa, muscular e serosa, alcançando a cavidade peritoneal. As formas imaturas continuam migrando entre vários órgãos da cavidade peritoneal até chegarem ao fígado (BORAY, 1969).

Após os parasitos jovens alcançarem o fígado, penetram na cápsula hepática e dão início a um processo de migração pelo parênquima. A ação mecânica das ventosas oral e ventral, a abrasão causada pelos espinhos presentes no tegumento, a alimentação e a liberação de proteases durante a migração no parênquima são responsáveis pela destruição de hepatócitos, de vasos sanguíneos e de ductos biliares, provocando micro hemorragias e danos decorrentes da resposta inflamatória do hospedeiro à presença do parasito e seus metabólitos excreto-secretados (BEHM & SANGSTER, 1999; DAWES, 1963a).

Em casos de infecção maciça, pode haver ruptura da cápsula hepática acompanhada de hemorragia para a cavidade peritoneal, o que pode resultar em óbito, sem sinais ou sintomas aparentes. Os casos de morte do hospedeiro nesta fase, chamada de fase aguda ou fase hepática da infecção, é, portanto, consequência destas ações do parasito no fígado e das respostas do organismo a sua presença (BEHM & SANGSTER, 1999).

Ao alcançar os ductos e vesícula biliares do hospedeiro definitivo, os parasitos ali localizados terminam o seu desenvolvimento em adultos, iniciando a postura de ovos. No início desta fase, denominada fase crônica, é relatado o encontro de um pequeno infiltrado inflamatório local. Podem ocorrer descamação e ulceração provocadas pelos espinhos e ventosas nos ductos biliares, com infiltração de várias células, incluindo fibroblastos, diretamente relacionados aos processos de fibrose ocorridos no fígado (DAWES, 1963b). Os ductos biliares começam a dilatar-

se, resultando em hiperplasia dos mesmos e entre 112 e 140 dias após a infecção, observa-se deposição de minerais, principalmente sais de cálcio, nas paredes dos ductos. Essas alterações culminam em hemorragia e necrose da mucosa dos ductos biliares (BORAY, 1969).

1.5 Sinais e Sintomas Clínicos

A evolução clínica da fasciolose é muito variável e depende da carga parasitária, da resposta imune do hospedeiro, da fase e da duração da infecção, entre outros (BORAY, 1967).

Em estudo realizado com bovinos, PRITCHARD et al. (2005), confirmam que a fasciolose causa perda de peso, diarreia, diminuição da produção de leite e ocasionalmente morte nos animais infectados após confirmação da infecção por análise fecal com identificação de ovos e detecção de anticorpos no leite por ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). A fasciolose crônica é a forma mais comum da doença e cursa com infertilidade (OAKLEY et al., 1979; CHARLIER et al., 2007), anemia, perda de peso, queda na produção e condenação do fígado ao abate (FOREYT, 2005).

Em ovinos, os sinais clínicos característicos são dor abdominal à apalpação, anemia, perda de peso, hepatomegalia e febre, resultantes das lesões causadas pela migração dos parasitos jovens através do parênquima hepático. Nos casos de alta carga parasitária, associada à ingestão de grande quantidade de metacercárias em um curto período de tempo, os estágios imaturos podem causar a morte súbita na fase aguda por hepatite traumática, (BORAY, 1967; ROJO-VÁZQUEZ et al., 2012). Ainda nesta fase, a observação minuciosa do rebanho de ovinos permite a identificação de outros sinais clínicos, como mucosas pálidas, letargia, dispneia quando em movimento, fígado palpável e ascite (ROJO-VÁZQUEZ et al., 2012). Na fasciolose crônica, há perda de peso, ascite, desenvolvimento gradual de edema submandibular, anemia, hipoproteinemia, hipoalbuminemia, elevada atividade enzimática no fígado, eosinofilia e, em casos de cargas parasitárias muito altas, a infecção pode levar o animal à morte (BEHM & SANGSTER, 1999).

Em humanos, a fase aguda da infecção por *F. hepatica*, também conhecida como fase hepática ou invasiva, apresenta sintomas clássicos como febre, urticária, dor intermitente na parte superior direita do abdômen, hepatomegalia e eosinofilia. Outras alterações que podem ser observadas são hepatite, hemorragia subcapsular e necrose hepática. Na fase crônica, os sintomas mais comuns são dor intermitente no quadrante abdominal superior (PILE et al., 2000; IGREJA et al., 2004; AKSOY et al., 2005). Há perda de peso, ascite, desenvolvimento gradual de edema submandibular, anemia, hipoproteinemia, hipoalbuminemia, elevada atividade enzimática no

fígado, eosinofilia e em cargas parasitárias muito altas, a infecção pode levar o hospedeiro à morte (BEHM & SANGSTER, 1999).

1.6 Diagnóstico

Diversos estudos utilizam a técnica de quatro tamises metálicos (GIRÃO e UENO, 1982), para o diagnóstico da fasciolose (PILE et al, 2000; GOMES et al., 2002; LIMA et al., 2009; DRACZ et al., 2016b).

Métodos baseados em ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) podem ser usados como alternativas de diagnóstico, estes testes contêm vários anticorpos disponíveis que determinam a presença de anti-Fasciola a proteínas encontradas no parasito. Foram relatados numerosas ELISA com base nos grupos de proteases mais abundantemente secretados pelo helminto, as cisteínas proteases catepsina L. Gonzales-Santana et al. (2013) desenvolveram um teste ELISA baseado em catepsina L recombinante específico para infecções por *F. hepatica* humana que apresentou 99,9% de sensibilidade e 99,9% de especificidade. As proteases catepsina L são também o foco do ELISA de captura desenvolvido por Mezo et al. (2007), que se baseia no anticorpo monoclonal MM3 que se liga tanto às proteases de catepsina L1 como de L2 (MUINO et al., 2011).

1.7 Tratamento e Controle

O tratamento da fasciolose em ruminantes é dependente do uso de drogas anti-helmínticas que pertencem a quatro famílias químicas: fenóis halogenados (nitroxinil), salicilanilidas (closantel e oxiclozanida), as sulfonamidas (clorsulon) e os benzimidazóis (triclabendazol, albendazol e netobimina, esta última precursor de outra molécula após metabolização, o albendazol, está sim com atividade antiparasitária). Apenas três moléculas têm uma atividade adulticida e larvicida ao mesmo tempo (nitroxinil, closantel e triclabendazol), as outras têm uma atividade meramente adulticida (COSTA, 2010). A resistência ao tratamento com o triclabendazol é relatada em ruminantes em toda a Europa, América do Sul e Austrália (FAIRWEATHER, 2011; HODGKINSON et al., 2013), sendo necessário haver utilização correta dos medicamentos contra este parasito e implantação de estratégias alternativas de controle em áreas endêmicas a fim de garantir a sustentação da eficácia das drogas contra a fasciolose disponíveis.

Associado ao tratamento químico escolhido deve-se utilizar medidas de controle da doença, principalmente a transferência dos animais para uma área de pastejo livre do parasito (FOREYT, 2005) e o isolamento de pastos úmidos. A profilaxia da fasciolose humana depende primariamente

do controle dessa helmintose entre os animais domésticos (GUIMARÃES, 2016). O eficiente controle da fasciolose requer uma correta integração na redução do número de hospedeiros intermediários. O controle ao molusco é praticamente impossível pelo seu alto poder biótico; a erradicação é difícil, porque o uso de moluscocidas representa grande perigo de contaminação para o meio ambiente e desequilíbrios ecológicos; e a drenagem nem sempre é possível, devido à extensão das áreas contaminadas e ao fato de que em muitos casos, essas áreas consistem dos próprios canais de irrigação da lavoura agrícola ou de fonte de água para os animais (ECHEVARRIA, 1995).

2. JUSTIFICATIVA

A fasciolose causada por *Fasciola hepatica* expande por todas as regiões brasileiras. Na década de 1990 o principal foco da doença em Minas Gerais era no Sul do estado, no entanto, ao longo dos anos, os estudos do Laboratório de Helminologia Veterinária do ICB/UFMG demonstraram a dispersão da infecção. A fasciolose causa grandes perdas econômicas a pecuária mundial devido a perda de peso, infecções secundárias, queda na produção e na qualidade do leite, lã e da carne, redução na fertilidade, abortos, atraso no crescimento, gastos com o tratamento, morte de animais e condenação de fígados nos frigoríficos (DRACZ E LIMA, 2014). O que reforça a importância do conhecimento de novas áreas e focos da doença e também dos principais fatores epidemiológicos relacionados à dispersão, prevalência, dos mecanismos envolvidos nas interações entre os hospedeiros e o parasito, para auxiliar na formulação de programas mais eficazes para diagnóstico, controle e prevenção da doença.

Nesse estudo observou-se dados nosográficos de fígados condenados em frigoríficos inspecionados pelo Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) em Minas Gerais, bem como, a ocorrência de infecção natural por *F. hepatica* mediante a exame coproparasitológico em animais dos municípios de Itaguara, Carmo do Cajuru, Crucilândia localizados na Região Metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais.

Informações detalhadas sobre a fasciolose em Minas Gerais, serão importantes em decorrência dos danos causados a saúde dos animais, das grandes perdas econômicas impostas e por ser uma zoonose. Os dados produzidos podem auxiliar implementação de medidas de controle dessa parasitose em expansão na região metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Realizar um levantamento epidemiológico de fasciolose hepática em bovinos da mesorregião metropolitana de Belo Horizonte, do estado de Minas Gerais.

3.2. Objetivo específico

Observar mediante aos dados nosográficos do IMA a taxa de condenação de fígados por *F. hepatica* no estado de Minas Gerais durante o ano de 2009 a 2018.

Identificar *F. hepatica* em fígados condenados no abate provenientes dos municípios de Itaguara, Esmeraldas, Carmo do Cajuru, Piracema, Crucilândia, Brumadinho, São João Del Rey e Bonfim a partir da realização de necropsia de fígados encaminhados ao LabHelVet_ICB_UFMG pelo IMA.

Avaliar a taxa de infecção natural de bovinos por *F. hepatica* nos municípios de Itaguara, Carmo do Cajuru, Crucilândia em Minas Gerais.

4. CAPÍTULO I - Caracterização de *Fasciola hepatica* em fígados bovinos condenados no estado de Minas Gerais.

4.1. INTRODUÇÃO

Minas Gerais possui 22.165.606 milhões de bovinos (IBGE, 2022) distribuídos em 12 regiões com 853 municípios. Centro-Sul (36), Central (30), Jequitinhonha (51), Região Metropolitana de Belo Horizonte (105), Noroeste (19), Norte (89), Oeste (44), Sul (146), Triângulo Mineiro (66), Vale Mucuri (23), Vale do Rio doce (102), Zona da Mata (142). O Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) delimita o abate em 12 parques industriais regionais, há 36 frigoríficos de abate de bovinos cadastrados no Sistema de Inspeção Estadual (SIE) e pelo Sistema de Inspeção Federal (SIF) vinculado ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Há, pelo menos um frigorífico de abate de bovinos registrados no IMA por região. Um dos principais fatores que interfere na exploração econômica do rebanho bovino são as endoparasitoses que podem provocar alta morbidade e mortalidade dos animais. Dentre elas, encontra-se a fasciolose, doença causada por *Fasciola hepatica*, que parasita o parênquima hepático e os ductos biliares de bovinos, bubalinos, ovinos e outros mamíferos (LIMA et al. 2009).

A fasciolose é uma das principais causas de prejuízo econômico à pecuária, devido a redução da produtividade em rebanhos, à queda na produção de leite, atraso no crescimento de animais, perda de peso, gastos no controle e tratamento dessa parasitose, além da condenação de fígados durante o abate de animais (DRACZ E LIMA, 2014). No Brasil, o parasito possui relatos de ocorrência em todas as regiões do país. No estado de Minas Gerias, é considerado uma doença em expansão, tendo a região sul como enzoótica para bovinos.

Estudos realizados por Lima et al. (2009), verificaram pelo exame coproparsitológico, que 70% dos animais (n=1.251) foram positivos para *F. hepatica* em 16 municípios do Estado de Minas Gerais. Tem-se observado nos últimos anos um aumento nos índices de condenação de fígados por fasciolose em abatedouros fiscalizados IMA e pelo SIF e novos casos de infecções em animais de regiões antes consideradas livres da parasitose vêm aumentando gradativamente nos últimos anos (LIMA et al., 2009; DRACZ & LIMA, 2014; DRACZ et al., 2016b).

A condenação de fígados ocorre após fiscalização por técnicos vinculados ao IMA nesses frigoríficos, que acompanham todas as etapas de abate dos animais (IMA, 2022). Esses técnicos são responsáveis pela avaliação sanitária dos produtos de origem animal, e ao encontrarem quaisquer alterações, como a presença de *F. hepatica* em fígados, devem relatá-las diariamente ao IMA, especificando nesses relatórios o tipo e tecido onde foram encontradas. Após isso, esses dados

chegam à Gerência de Inspeção de Produtos de Origem Animal (GIP), que compila esses dados (IMA, 2022).

O Laboratório de Helminologia Veterinária do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (LabHelVet_ICB_UFMG) desde a década de 1990 analisa dados nosográficos de cada parque industrial, a fim de detectar presença de *F. hepatica* e realizar a identificação. Após a sugestão de presença do parasito, o LabHelVet confirma a incidência e prevalência mediante ao isolamento do parasito, coleta e análise de bolo fecal de animais provenientes dos municípios com condenação da víscera, bem como, busca ativa de moluscos hospedeiros intermediários de *F. hepatica*.

OBJETIVO:

Observar mediante aos dados nosográficos do IMA a taxa de condenação de fígados por *F. hepatica* no estado de Minas Gerais durante o ano de 2009 a 2018

Identificar *F. hepatica* em fígados condenados no abate provenientes dos municípios de Itaguara, Esmeraldas, Carmo do Cajuru, Piracema, Crucilândia, Brumadinho, São João Del Rey e Bonfim a partir da realização de necropsia de fígados encaminhados ao LabHelVet_ICB_UFMG pelo IMA.

4.2. METODOLOGIA

4.2.1. Planilha de inspeção do Instituto Mineiro de Agropecuária

Dados nosográficos de abate de bovinos em frigoríficos cadastrados junto ao IMA durante o período de 2009 a 2018 foram disponibilizados mediante parceria firmada entre o IMA e o LabHelVet_ICB_UFMG somada a assinatura de um termo de confidencialidade com a instituição. Após receber os dados, foram extraídos os números de fígados condenados por *F. hepatica* e tabulados para posterior análise. Em seguida, as informações de fígados positivos com fasciolose foram agrupados por ano e região. Os municípios presentes no estudo são os locais onde os frigoríficos do IMA estão alocados, e não o local de origem do animal abatido, na mesorregião metropolitana de Belo Horizonte (RMBH), em Itaguara, Pará de Minas, Paraopeba, Pedro Leopoldo e São José da Lapa. Da região Sul (SUL), os municípios de Borda da Mata, Elói Mendes, Poço Fundo, Varginha, Boa Esperança, Três Corações e Passos. Da mesorregião da Zona da Mata (ZDM), os municípios de Ubá e Muriaé, já no Vale do Rio Doce (VRRD), os municípios de

Caratinga, Santana do Paraíso, Aimorés e Guanhães. Na mesorregião Oeste (OE), Formiga, Nova Serrana e Luz, na região Centro-Sul(C/S), o município de São João Del Rey, no Vale do Mucuri (VDM), Carlos Chagas, no Noroeste (NOE), Patrocínio, na Central, Corinto, e no Triângulo Mineiro (TRI) o município de Delta.

4.2.2. Amostras de fígados condenados no IMA

O acesso aos fígados condenados foi solicitado ao IMA antes do início do levantamento coproparasitológico (Capítulo II), visto que, a notificação é importante, pois muitas patologias hepáticas podem ser confundidas com a fasciolose. Dessa forma, a confirmação da infecção por *F. hepatica* em determinada região antes de mobilizar uma equipe para o trabalho de campo é fundamental ao grupo do LabHelVet_ICB_UFMG.

Diante do exposto os técnicos do IMA coletaram fígados com condenação por *F. hepatica* durante o abate. As amostras foram imediatamente enviadas ao LabHelVet_ICB_UFMG em caixas de isopor contendo gelo. No LabHelVet o fígado foi colocado sobre uma bandeja para a realização de uma inspeção visual da superfície do órgão à procura de anormalidade sugestiva de parasitismo. Em seguida, foi realizada a abertura do órgão com auxílio de faca e tesoura para inspeção dos ductos biliares, bem como, a secção do fígado em fragmentos de 2 centímetros para procura de *F. hepatica*.

Quando encontrado *F. hepatica*, foram coletados com auxílio de pincel e alocados individualmente em um pirex contendo solução fisiológica a 0,85% e examinados sob microscópio estereoscópio. Amostras de fascíolas(n=1-4) encontradas foram armazenadas em formol 4%, e em álcool etílico 99% e refrigerada a -20°C. Para análise morfológica e confirmação de *F. hepatica*, os espécimes coletados foram comprimidos entre placas de vidro, fixados com formol 10% a frio e posteriormente corados com aceto-carmim. Em seguida foram desidratados em sequências crescente de álcool em tempos variáveis, diafanizados em creosoto e montados em lâminas com bálsamo do Canadá (AMATO, 2010), posteriormente, essas amostras foram armazenadas também para o banco de dados do LabHelVet_ICB_UFMG. A morfometria, bem como o registro das estruturas de importância taxonômica foram feitos em microscópio estereoscópio Leica (M250C), acoplado à câmera digital. Alguns exemplares foram selecionados para análise morfológica e morfometria, por meio das imagens digitais (AxioVision 4.8 /Carl Zeiss Vision software).

4.2.3 *Análise estatística*

A análise estatística foi realizada utilizando o software R (versão 3.5.3). Inicialmente, foi realizado o teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos dados do número de casos. Considerando a distribuição não paramétrica, as comparações múltiplas do número de casos em função dos anos, meses e regionais, foram feitos utilizando o teste de Kruskal Wallis. Em seguida foi realizado o Posthoc de Nemenyi, para identificar onde havia diferenças significativas quando apontadas pelo teste de Kruskal Wallis. Por fim, para cada regional, foi realizada uma regressão linear para se estimar a condicional da variável e verificar sua tendência ao longo dos anos. Valores de $p < 0.05$ (95% de confiança) foram considerados como diferença estatisticamente significativos

4.2.4. *Comitê de ética*

Todo procedimento foi realizado antes das coletas de amostras biológicas conforme protocolo aprovado na Comissão de Ética em Uso de Animais da Universidade Federal de Minas Gerais/ CEUA_UFMG 140/2021, além do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais/CEP_UFMG 3.203.595.

4.3. RESULTADOS

4.3.1. *Dados nosográficos do Instituto Mineiro de Agropecuária*

As informações dos dados de referentes ao número de bovinos com fígados condenados por *F. hepatica* foram coletadas pela secretaria de Gerência de Inspeção de Produtos (GIP) e agrupados o número de casos positivos por ano entre 2009 e 2018, apresentados na **Tabela 1**. A partir dos dados, foi possível observar que o ano de 2009 foi o ano com o menor número de casos registrados e o ano de 2015 o maior. Foi observada uma diferença significativa de todos os anos (2010 a 2018) quando comparados ao ano de 2009, ano de menor incidência de casos. Além disso, quando analisado o ano de 2015, ano de maior incidência de casos, foi possível observar que os anos de 2009, 2010, 2011 e 2012 apresentaram valores significativamente menores ($p < 0,05$) (**Tabela 2**).

Tabela 1 – Número total de casos de fígados condenados de bovinos segundo dados da Gerência de Inspeção de Produtos de Origem Animal (GIP).

ANO	MUNICÍPIO/ LOCALIZAÇÃO DO FRIGORÍFICO DO IMA	TOTAL DE CASOS
2009	Caratinga	4
2009	Ubá	36
2009	Poço Fundo	15
2009	Santana do Paraíso	1
2009	Borda da Mata	15
2009	Corinto	11
2009	Pedro Leopoldo	19
TOTAL/ANO		101
2010	Caratinga	20
2010	Ubá	20
2010	Poço Fundo	17
2010	Santana do Paraíso	5
2010	Borda da Mata	65
2010	Corinto	7
2010	Três Corações	22
2010	Muriaé	14
2010	Formiga	3
TOTAL/ANO		173
2011	Santana do Paraíso	4
2011	Borda da Mata	64
2011	Muriaé	36
2011	Formiga	1
2011	Aimorés	7
2011	Pedro Leopoldo	22
2011	Boa Esperança	131
2011	Patrocínio	3
2011	Nova Serrana	13
2011	Itaguara	261
2011	Pará de Minas	9
TOTAL/ANO		551
2012	Caratinga	85
2012	Ubá	43
2012	Ubá	43
2012	Poço Fundo	189
2012	Santana do Paraíso	4
2012	Santana do Paraíso	16
2012	Borda da Mata	16

2012	Muriaé	29
2012	Formiga	17
2012	Aimorés	2
2012	Pedro Leopoldo	20
2012	Boa Esperança	454
2012	Nova Serrana	4
2012	Itaguara	5
2012	Itaguara	138
2012	Pará de Minas	109
2012	Guanhães	41
2012	Elói Mendes	39
2012	Varginha	20
2012	Carlos Chagas	1
2012	Luz	1
2012	Delta	2
TOTAL/ANO		1278
2013	Caratinga	264
2013	Ubá	395
2013	Poço Fundo	188
2013	Santana do Paraíso	25
2013	Santana do Paraíso	2
2013	Borda da Mata	23
2013	Muriaé	24
2013	Formiga	28
2013	Pedro Leopoldo	2
2013	Boa Esperança	586
2013	Nova Serrana	20
2013	Itaguara	1
2013	Itaguara	204
2013	Pará de Minas	129
2013	Guanhães	77
2013	Varginha	7
2013	Luz	18
2013	Delta	5
2013	Três Corações	7
TOTAL/ANO		2005
2014	Caratinga	243
2014	Ubá	112
2014	Poço Fundo	104
2014	Santana do Paraíso	24
2014	Santana do Paraíso	3
2014	Borda da Mata	16
2014	Muriaé	20
2014	Formiga	42

2014	Pedro Leopoldo	12
2014	Boa Esperança	1
2014	Nova Serrana	73
2014	Itaguara	1
2014	Itaguara	280
2014	Pará de Minas	39
2014	Guanhães	128
2014	Varginha	14
2014	Luz	1
2014	Delta	2
2014	Três Corações	4
2014	Carlos Chagas	100
2014	São João Del Rei	125
2014	Passos	24
TOTAL/ANO		1368
2015	Caratinga	206
2015	Ubá	389
2015	Poço Fundo	546
2015	Santana do Paraíso	7
2015	Santana do Paraíso	32
2015	Borda da Mata	272
2015	Muriaé	16
2015	Formiga	108
2015	Pedro Leopoldo	3
2015	Boa Esperança	37
2015	Nova Serrana	3
2015	Itaguara	21
2015	Itaguara	351
2015	Pará de Minas	39
2015	Guanhães	115
2015	Varginha	4
2015	Luz	14
2015	Delta	1
2015	Três Corações	1
2015	São João Del Rei	2
2015	Passos	5
2015	Aimorés	26
2015	Patrocínio	1
TOTAL/ANO		2199
2016	Ubá	262
2016	Poço Fundo	208
2016	Santana do Paraíso	36
2016	Borda da Mata	189
2016	Muriaé	24

2016	Formiga	32
2016	Pedro Leopoldo	4
2016	Boa Esperança	19
2016	Itaguara	4
2016	Itaguara	476
2016	Pará de Minas	58
2016	Guanhães	7
2016	Varginha	1
2016	Luz	18
2016	Delta	1
2016	São João Del Rei	17
2016	Aimorés	10
TOTAL/ANO		1366
2017	Caratinga	126
2017	Ubá	312
2017	Poço Fundo	194
2017	Santana do Paraíso	23
2017	Borda da Mata	196
2017	Formiga	11
2017	Pedro Leopoldo	2
2017	Boa Esperança	43
2017	Nova Serrana	88
2017	Itaguara	149
2017	Pará de Minas	25
2017	Guanhães	1
2017	Luz	7
2017	São João Del Rei	11
2017	Aimorés	19
2017	São José da Lapa	3
2017	Paraopeba	1
TOTAL/ANO		1211
2018	Caratinga	28
2018	Ubá	47
2018	Poço Fundo	46
2018	Santana do Paraíso	1
2018	Borda da Mata	31
2018	Formiga	16
2018	Delta	1
2018	Nova Serrana	14
2018	Itaguara	14
2018	Pará de Minas	1
2018	Luz	3
2018	Aimorés	2
TOTAL/ANO		204

Tabela 2 – Número médio de casos positivos para fasciolose bovina entre 2009 e 2018.

Ano	Tamanho amostral	Casos positivos (média + dp)	Limite inferior (LI) dos dados	Limite superior (LS) dos dados
2009	84	1,2 ± 2,7*	0	11
2010	38	4,5 ± 5,3**	1	26
2011	53	10,3 ± 19,8**	1	91
2012	124	10,3 ± 14,1**	1	83
2013	135	14,8 ± 23,8*	1	134
2014	115	11,8 ± 15,9*	1	124
2015	128	17,1 ± 17,1*	1	91
2016	97	14,0 ± 15,8*	1	70
2017	107	11,3 ± 12,5*	1	58
2018	19	10,6 ± 10,6*	1	41

Nota: * - diferença significativa comparada com o ano de 2009 ($p < 0,05$); * - diferença significativa comparada com o ano de 2015.

As informações dos dados são referentes ao número de fígados condenados por *F. hepatica* por mês entre os anos de 2009 e 2018, apresentados na **Tabela 3**. A partir dos dados, foi possível observar que não existem diferenças significativas entre o número de casos positivos e o mês do ano ($p > 0,05$).

Tabela 3 - Número médio de casos positivos, para fasciolose bovina, mensal entre 2009 e 2018.

Ano	Tamanho amostral	Casos positivos (média + dp)	Limite inferior (LI) dos dados	Limite superior (LS) dos dados
Janeiro	75	11,8 ± 16,5	0	96
Fevereiro	82	11,4 ± 14,6	0	72
Março	63	12,1 ± 12,8	0	52
Abril	81	9,9 ± 12,5	0	65
Maio	84	9,9 ± 12,6	0	81
Junho	72	12,7 ± 21,4	0	134
Julho	76	12,2 ± 19,5	0	133
Agosto	81	12,4 ± 19,2	0	124
Setembro	73	10,5 ± 13,0	0	68
Outubro	78	11,6 ± 16,2	0	72
Novembro	66	14,2 ± 23,0	0	134
Dezembro	69	11,6 ± 16,2	0	91

Os municípios foram classificados de acordo com as regiões em que estão localizados os frigoríficos e em seguida, o número total de casos registrados de fígados condenados por *F. hepatica*, foram comparados entre as regiões. A partir da análise dos dados, foi possível observar

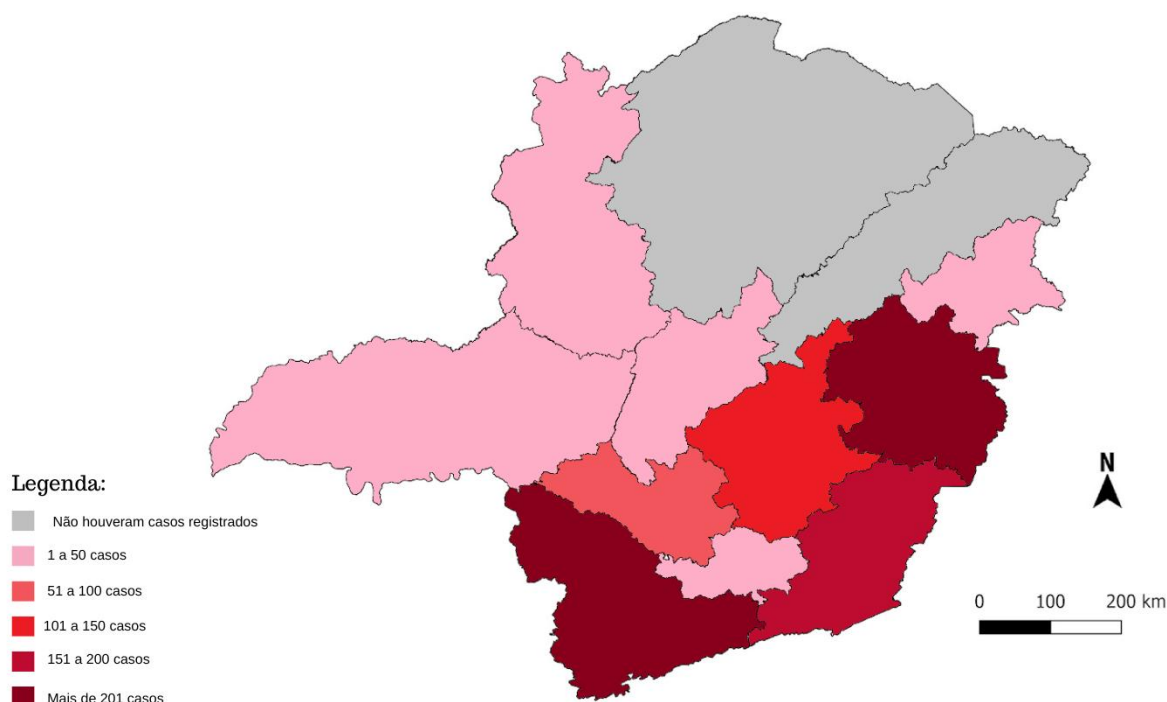
que as regiões CEN, NOE e TRI apresentam as menores taxas de condenação de fígados enquanto as regiões RMBH, SUL, VDM e ZDM apresentam as maiores taxas. Foram observadas diferenças significativas entre as regiões quando comparado o número de casos positivos entre elas, observe a **Tabela 4 e a Figura 1**.

Tabela 4 – Número médio de fígados condenados em cada região entre os anos de 2009 e 2018.

Região	Tamanho amostral	Casos positivos (média + dp)	Limite inferior (LI) dos dados	Limite superior (LS) dos dados
C/S	16	9,6 ± 30,5	1	124
CEN	15	1,2 ± 2,9	0	11
NOE	4	1,0 ± 0,0	1	1
OE	97	5,5 ± 6,3 ⁽¹⁾	1	29
RMBH	176	13,6 ± 16,8 ^(1,2)	0	91
SUL	251	15,1 ± 20,4 ^(1,2)	0	134
TRI	8	1,5 ± 0,7 ⁽⁶⁾	1	3
VDM	7	14,4 ± 12,1 ⁽¹⁾	1	30
VDRD	205	7,7 ± 9,6 ^(1,6)	0	50
ZDM	121	15,0 ± 18,9 ^(1,2,3,4,5)	0	134

Legenda: RMBH - Região Metropolitana de Belo Horizonte; SUL – Região Sul; ZDM – Região da Zona da Mata; OE – Região Oeste; VDRD – Região do Vale do Rio Doce; TRI – Região do Triângulo Mineiro; CEN – Região Central; NOE – Região Noroeste; VDM – Região do Vale do Mucuri; C/S - Região Centro-sul. 1 - diferença significativa comparada com a Região CEN ($p < 0,05$); 2 - diferença significativa comparada com a Região OE ($p < 0,05$); 3 - diferença significativa comparada com a Região C/S ($p < 0,05$); 4 - diferença significativa comparada com a Região TRI ($p < 0,05$); 5 - diferença significativa comparada com a Região VDRD ($p < 0,05$); 6 - diferença significativa comparada com a Região SUL ($p < 0,05$).

Figura 1 – Mapa do Tamanho amostral de casos de *F. hepatica* por cada região entre os anos de 2009 e 2018.



Legenda: Mapa de Minas Gerais, separado por tamanho amostral de casos de *F. hepatica*, de acordo com os dados disponibilizados pelo GIPP/IMA, as regiões que demonstraram casos positivos de 1 a 50 casos foram, TRI – Região do Triângulo Mineiro; NOE – Região Noroeste; CEN – Região Central; C/S - Região Centro-sul, as que deram entre 51 a 100 casos; OE – Região Oeste, de 101 a 150 casos; ZDM – Região da Zona da Mata, de 151 a 200 casos; RMBH - Região Metropolitana de Belo Horizonte, e aquelas que os valores foram superiores a 200; VDRD – Região do Vale do Rio Doce; SUL – Região Sul. As regiões onde não houve casos registrados foram; NORTE - Região Norte; JEQUI - Região do vale do Jequitinhonha.

A análise de regressão linear dos dados de número de casos por ano, mostraram a existência de uma tendência positiva para o número de casos. Assim, com o passar dos anos, o número de casos de bovinos com *F. hepatica* tende a aumentar (**Figura 2**). Contudo, quando analisado individualmente cada região, foi possível observar uma tendência positiva para RMBH, SUL, ZDM, OE, VDRD, CEN e VDM (**Figura 3**). Por outro lado, as regiões de C/S e TRI apresentaram uma tendência negativa (**Figura 4**) e a região NOE uma tendência nula para o número de casos positivos de bovinos com *F. hepatica* (**Figura 5**).

Figura 2 – Regressão linear do número total de casos de *F. hepatica* por ano entre 2009 e 2018.

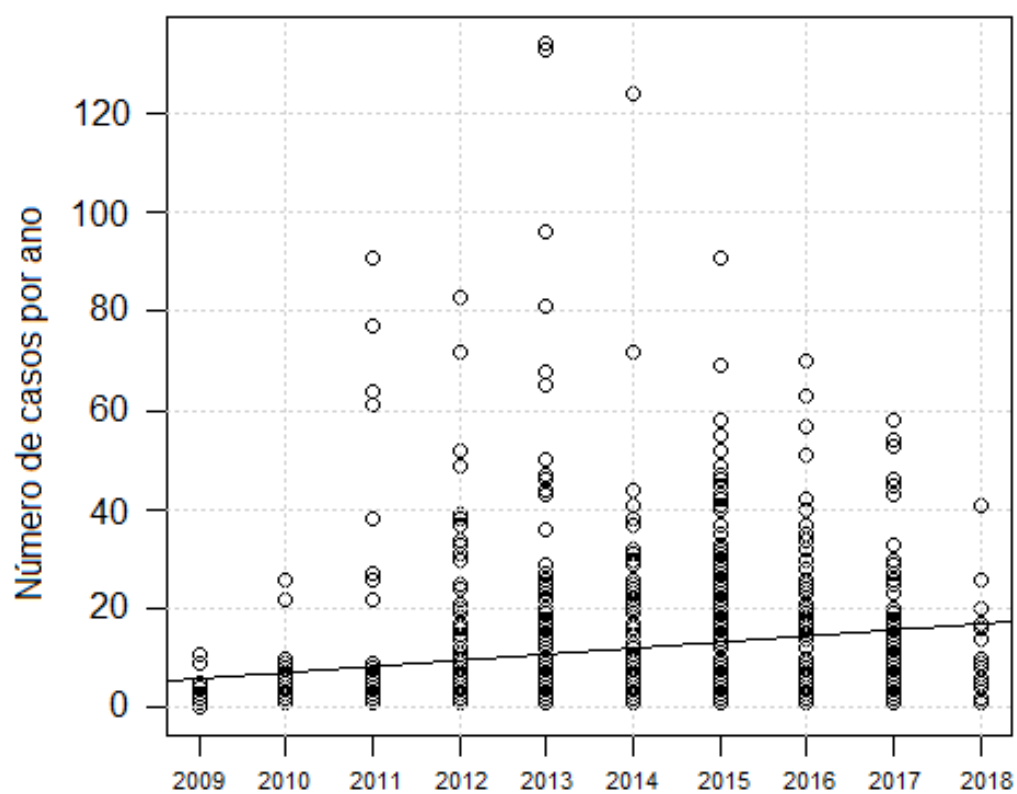


Figura 3 – Regressão linear do número total de casos de *F. hepática* entre 2009 e 2018 das mesorregiões Metropolitana de Belo Horizonte (RMBH), Sul (SUL), Zona da Mata (ZDM), Oeste (OE), Vale do Rio Doce (VDRD), Central (CEN) e Vale do Mucuri (VDM).

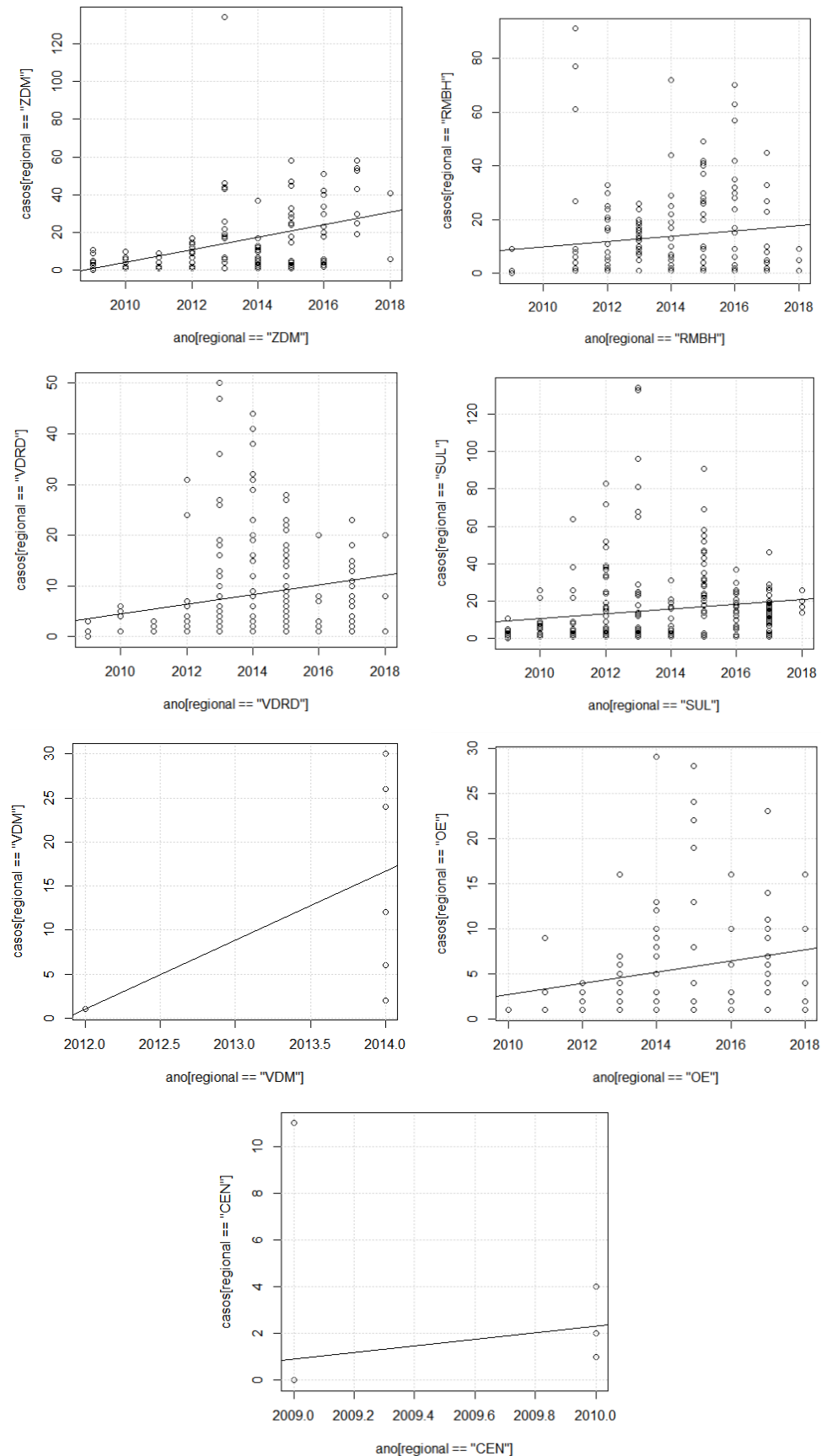


Figura 4 – Regressão linear do número total de casos de *F. hepatica* entre 2009 e 2018 das mesorregiões Centro-Sul (C/S) e Triângulo Mineiro (TRI).

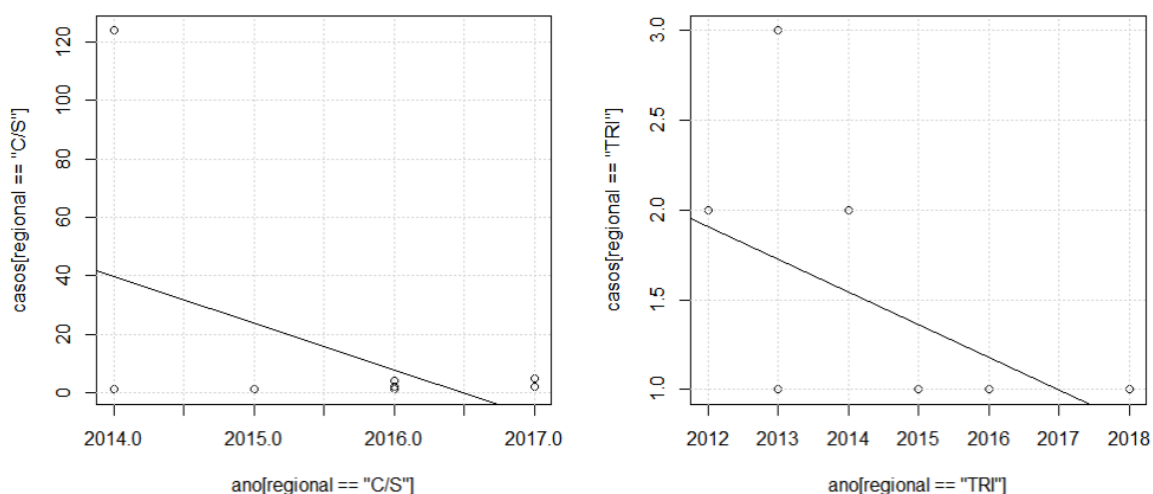
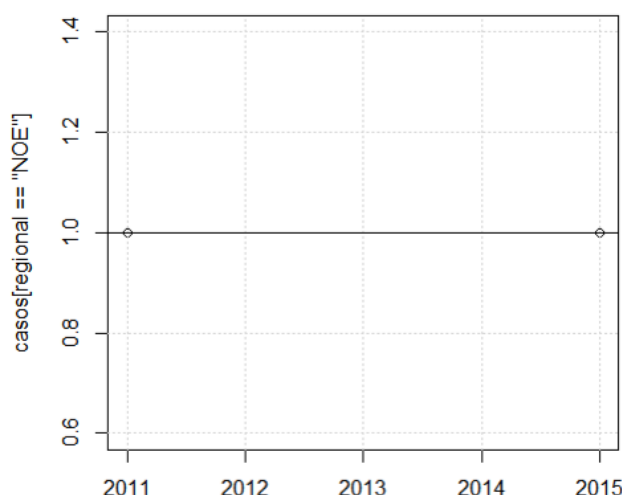


Figura 5 – Regressão linear do número total de casos de *F. hepática* entre 2009 e 2018 da mesorregião Noroeste (NOE).



4.3.2 Análise dos fígados

Foram enviadas para o LabHelVet 42 fígados de um frigorífico localizado em São João Del Rey da região Centro-Sul de e 28 fígados condenados de um frigorífico localizado no município de Itaguara da região Metropolitana de Belo Horizonte, totalizando 70 amostras de fígado bovino. A partir dessas amostras, foram realizadas necrópsias para confirmar a presença de *F. hepatica*, e em seguida, cruzado os dados fornecidos pelo IMA junto a Guia de Transporte Animal (GTA) para se determinar o município de origem da amostra.

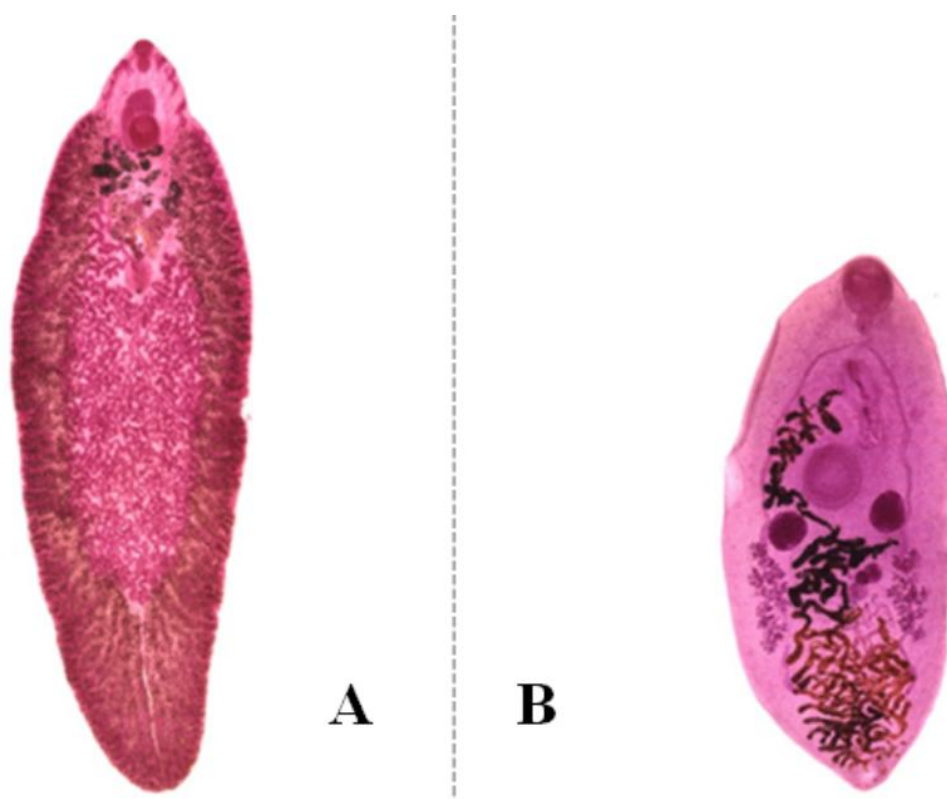
Um total de 70 fígados foram necropsiados, ao longo de quatro anos: 44 fígados em 2018, nove em 2019, sete em 2020, sete em 2021 e dois em 2022. Dos 42 fígados enviados pela região de São João Del Rey, todos tiveram origem no mesmo município, enquanto os 27 de Itaguara, 16 tiveram origem no próprio município e os demais vieram: dois de Pedro Leopoldo, três de Esmeraldas, dois de Carmópolis de Minas, dois de Bomfim, um de Oliveira, um de Piracema e um de Brumadinho. Dentre as amostras que vieram de São João Del Rey, todos foram negativos para *F. hepatica*, entretanto, foram positivos para presença de *Eurytrema pancreaticum*. Por outro lado, dos 27 fígados enviados de Itaguara, todos foram positivos para *F. hepatica* (Tabela 5).

Tabela 5 - Número total de fígados confirmados com *F. hepatica* por município analisado entre 2018 e 2022.

Ano	Município	Tamanho amostral	Casos confirmados
2018	São João Del Rey	42	0
2018	Itaguara	1	1
2018	Oliveira	1	1
2019	Itaguara	4	4
2019	Pedro Leopoldo	2	2
2019	Esmeraldas	3	3
2020	Itaguara	6	6
2020	Brumadinho	1	1
2021	Itaguara	5	5
2021	Carmópolis de Minas	2	2
2021	Piracema	1	1
2022	Bomfim	2	2
TOTAL		70	28

Os fígados enviados ao laboratório no dia em que foram coletados no frigorífico. Em 50% dos casos, essas amostras chegavam com fragmentos de pâncreas infectados com *Eurytrema coelomaticum*. Todos os fígados chegam ao LabHelVet com a vesícula biliar removida. As amostras de fígado que testaram positivas apresentavam um número de *F. hepatica* adultas variando de 5 a 133 parasitos por fígado (**Figura 6**).

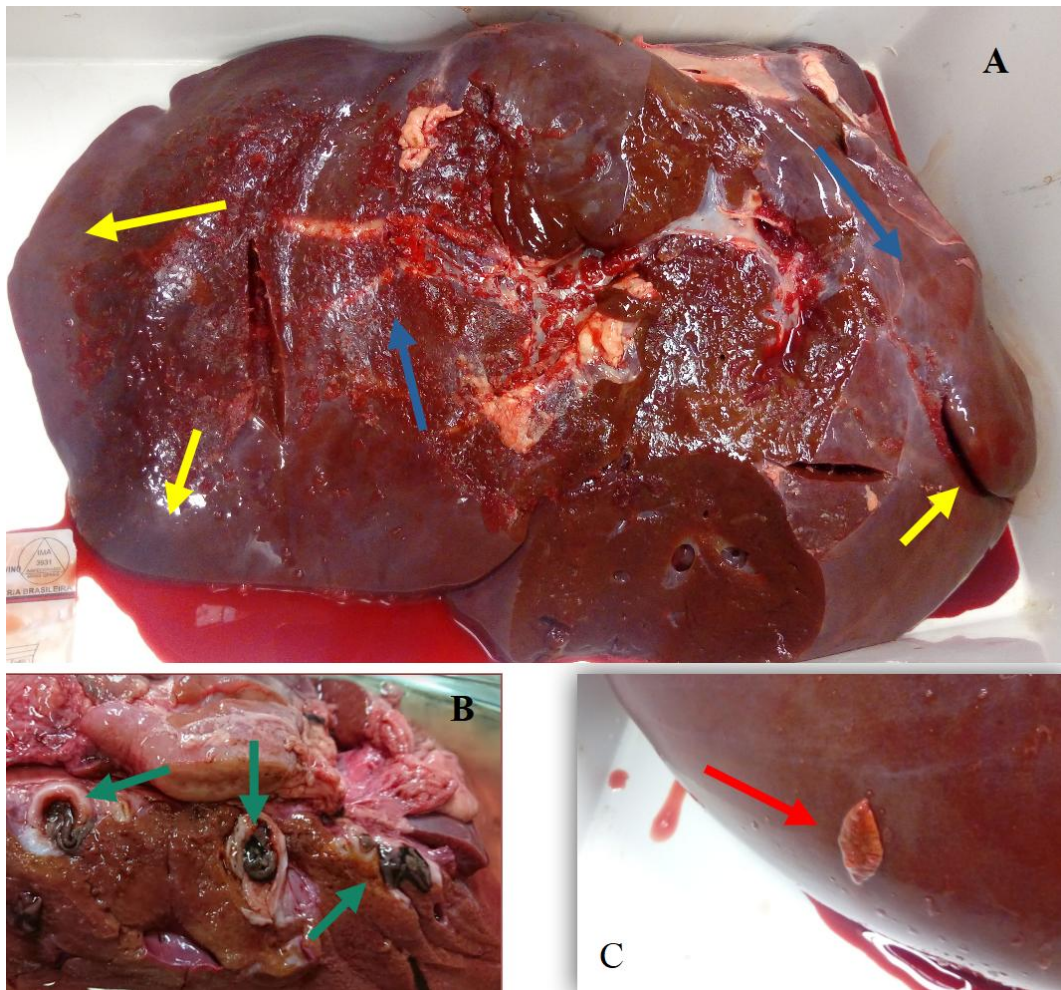
Figura 6- Lâminas coradas de *Fasciola hepatica* e *Eurytrema coelomaticum*.



Legenda: A – *Fasciola hepatica* adulta comprimida e fixada, corada com o uso de aceto-carmim. B – *Eurytrema coelomaticum* adulto comprimida e fixada, corada com o uso de aceto-carmim.

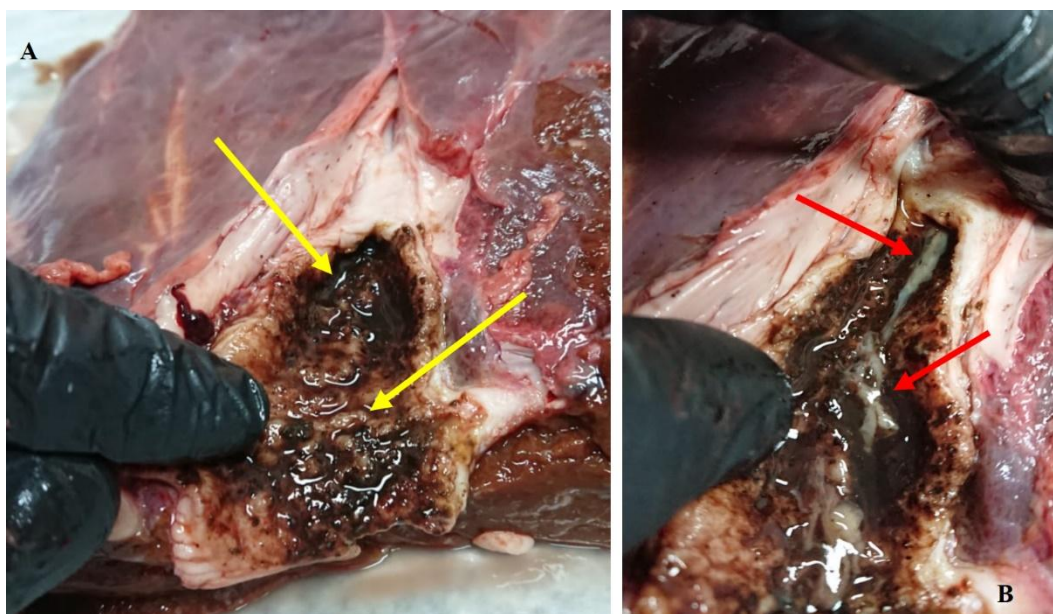
Conforme demonstrado na figura (**Figura 7**), todos os fígados apresentaram bordas abauladas e linhas de tecido fibroso dispersas sobre a superfície. Também apresentaram espessamento do ducto biliar, com uma intensidade maior próximo da vesícula biliar, onde se encontravam a maior concentração dos parasitos. Os ductos com pequena intensidade de parasitos, apresentava leve mineralização com coloração levemente amarronzada, já naqueles vasos mais intensamente parasitados, além da parede intensamente mineralizada, e com coloração escura, continham substância marrom-avermelhada com consistência viscosa, e em alguns casos foi possível verificar a presença de secreção purulenta (**Figura 8**).

Figura 7 - Fígados apresentando lesões causadas pela presença de *F. hepatica*.



Legenda: A- fígado inteiro sem vesícula biliar. Setas amarelas demonstram bordas abauladas, setas azuis demonstram linhas de tecido fibroso dispersas. B- Corte transversal de fígado, Setas verdes demonstram ductos espessos e presença de *F. hepatica* nos ductos. C- Superfície do fígado com *F. hepatica* aderida.

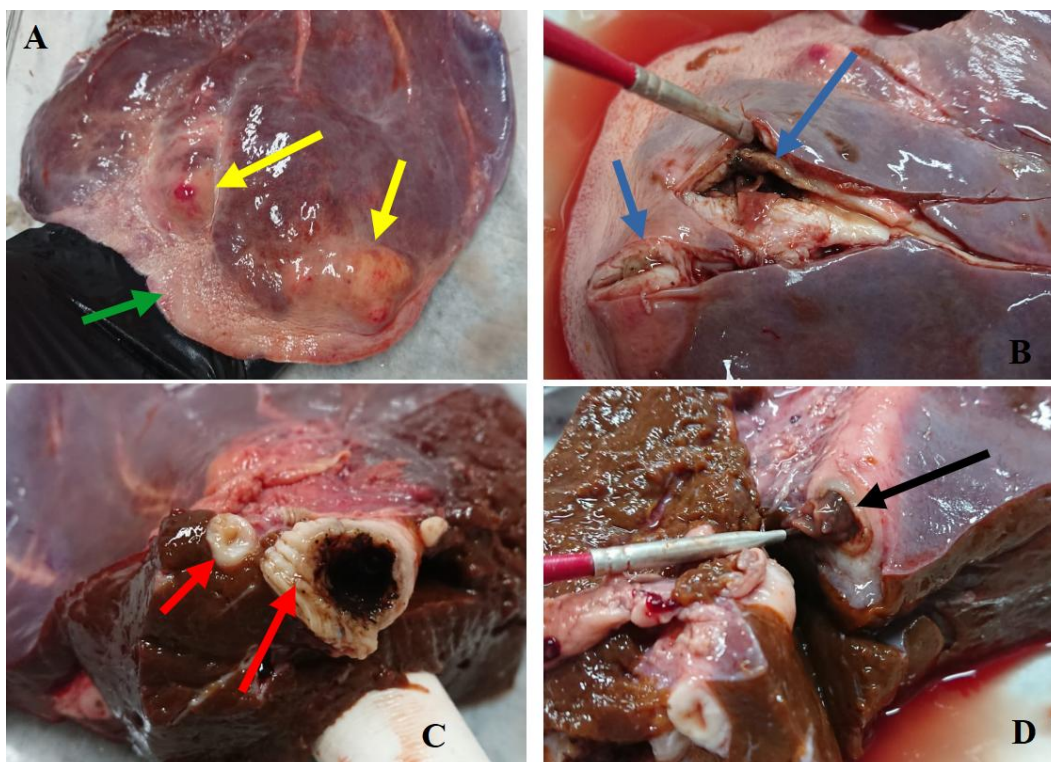
Figura 8 – Ductos biliares com lesões causadas por *F. hepatica*.



Legenda: A- Ducto biliar seccionado, Seta amarela demonstrando substância marrom avermelhada e Bile. B- Ducto biliar seccionado, Seta vermelha demonstrando secreção purulenta.

Em fígados extremamente inflamados, foi possível encontrar grandes porções necrosadas, com intensa formação de segmentos de tecidos fibrosos e presença de abscessos, principalmente nas regiões periféricas e próximas aos ductos mais afetados. Nesses ductos de lesão mais intensa, a parede foi distorcida, e mineralizada, formando grandes abscessos que pressionam tecidos adjacentes, prejudicando a circulação desses, e mudaram a morfologia renal, dentro desse foram encontradas fascíolas adultas mortas em processo de decomposição além de fascíolas vivas, demonstrando a possibilidade de ocorrência de infecções sucessivas em um mesmo animal, em ductos adjacentes havia presença de parasitos vivos, mesmo naqueles onde não haviam lesões macroscópicas (**Figura 9**).

Figura 9 – Lesões no fígado causadas por *F. hepatica*.



Legenda: A- Lóbulo de fígado parasitado, Seta amarela indicando abscessos, Seta verde indicando tecido necrosado. B- Abscessos seccionados, Seta azul apontando ducto espessado com presença de parasitos adultos em processo de decomposição além de secreção purulenta. C – Corte transversal de fígado, Seta vermelha demonstra ductos biliares espessados. D – Corte transversal de fígado. Seta preta indica ducto biliar espessado com presença de *F. hepatica* adulta viva.

4.4 DISCUSSÃO

A partir dos dados fornecidos pela GIP do IMA, juntamente aos dados do Guia de Transporte Animal (GTA), foi possível identificar as origens dos bovinos parasitados com *F. hepatica*, os quais foram confirmados neste trabalho avaliando aspectos morfológicos e exames coproparasitológicos. A identificação correta da contaminação da amostra é essencial para determinar quais medidas de controle devem ser tomadas.

Os dados deste trabalho demonstraram que os frigoríficos possuem um grande raio de atendimento em seu entorno. Desta forma, mesmo que esteja localizado em um determinado município, os bovinos abatidos por ele, podem ter origem de outros municípios ou mesmo de outros estados, já que a venda de animais a esses frigoríficos depende do valor a recebido pelo proprietário, assim como o custo de transporte do animal ao seu destino final, dessa forma um mesmo produtor pode vender a diferentes estabelecimentos em períodos diferentes. Por este motivo, os dados foram agrupados e analisados em regiões.

Durante o período de estudo, o ano de 2009 foi o que apresentou menor número de casos registrados de *F. hepatica*. Após este ano, foi observado uma tendência de aumento do número de casos positivos com o passar dos anos. Além disso, o número de municípios com amostras condenadas aumentou consideravelmente entre o período de 2009 a 2018, sendo as regiões metropolitana de Belo Horizonte, Sul, Zona da Mata e Vale do Mucuri apresentaram maiores números de casos.

Dentre as regiões com maior número de casos de condenação, a região sul foi a que apresentou maiores números de casos positivos. Esses achados corroboram os dados de Lima et al., (2009) que consideraram essa região como região enzoótica para *F. hepatica* em Minas Gerais. Segundo Lima et al., (2009) há nessas regiões em algumas propriedades até 100% do rebanho eliminando ovos de *F. hepatica* nas fezes, também observaram moluscos *Lymanea (Pseudosuccinea) columella* naturalmente infectadas nessa região. Ainda região Sul há condições climáticas favoráveis ao parasito quanto aos hospedeiros intermediários, moluscos limneídeos.

Outra grande região que apresentou animais positivos para doença foi a região metropolitana de Belo Horizonte. Casos positivos verificados de *F. hepatica* em fígados condenados nos frigoríficos, foram encontrados no ano de 2009 no município de Pedro Leopoldo. Além deste, outros municípios como Ubá e Borda da Mata registraram a fasciolose no período de 2009 e 2010. Esses dados indicam um possível aumento da incidência nessa região, o que foi confirmado por Dracz & Lima (2014) e por Dracz et al., (2016a; 2016b), onde observaram o ciclo natural de *F. hepatica* em búfalos, pela primeira vez em Minas Gerais, além de observar infecção em bovinos, capivaras e *Lymanea (Pseudosuccinea) columella* nos municípios de Pedro Leopoldo, São José da Lapa e Confins.

Além disso, em 2010, o número de animais positivos aumentou indicando que a fasciolose, uma doença de caráter endêmico, portanto de dispersão lenta está difundido em Minas Gerais. O frigorífico de Itaguara começou a registrar casos a partir de julho de 2011, tendo consistentemente um dos maiores valores do estado em condenação de fígados por *F. hepatica*.

A presença de casos positivos nessas regiões representa um risco ao município, visto que muitos proprietários locais compram e vendem bovinos entre si. Essa característica de compra e venda contribui para a disseminação do parasita, assim como os numerosos cursos de água da região, que podem habitar o hospedeiro intermediário da doença, bem como permite que as fases de vida livre do parasito sobrevivam com facilidade (RIBEIRO et al., 2017).

Ao cruzar os dados coletados pelo IMA no frigorífico de Itaguara, durante o período de 2018 a 2022 com os dados do LabHelVet, foram encontrados casos positivos de *F. hepatica* em bovinos dos municípios de Itaguara, Piracema, Esmeraldas, Oliveira, Brumadinho, Carmópolis de Minas,

Bonfim e Oliveira. Todos os fígados recebidos foram positivos para a doença. Isso sugere que a presença de casos positivos em frigoríficos do município indica a possibilidade de uma infecção em uma área muito mais extensa.

Na região do Triângulo Mineiro, ocorreu casos de fasciolose no frigorífico localizado no município de Delta, durante o período de 2012 a 2016. Da região Centro-Sul, apenas no município de São João Del Rey, foi observado um número considerável de casos positivos durante todo o período de estudo. Entretanto, quando considerado os resultados da análise de 42 fígados enviados pelo município em 2018, verificou-se que em todos os casos se tratava de *Eurytrema coelomaticum*, e não fasciolose.

Por causa dessa confusão, e do grande intercâmbio de animais entre municípios e entre diferentes estados, o que pode ocorrer em diversos pontos da vida do animal, existem incertezas sobre dados de fígados condenados no momento do abate, e talvez muitos fígados podem ser condenados erroneamente. Tal erro, além de causar prejuízo desnecessário a produtores e empresários ligados a indústria de derivados de carne, dificulta o uso de dados nosográficos de abate de animais em frigorífico como única ferramenta de identificação de infecção, e demonstra a necessidade da utilização de métodos complementares para se verificar possíveis focos de infecção por *F. hepatica*, como a de utilização de técnica coproparasitológica, ou a captura de hospedeiro intermediário infectado por *F. hepatica* (LIMA et al., 2009).

O fígado possui um importante valor comercial no bovino, sendo que, além do corte em si, o conteúdo da vesícula biliar, normalmente vendido separadamente do restante do órgão, pode chegar a cifras de milhares de reais as indústrias de cosméticos e farmacêuticas. A condenação desse órgão gera prejuízos, o parasito tanto em fase jovem quanto em fase adulta, causam lesões que levam a modificação morfológica do fígado, principalmente com o espessamento e mineralização dos ductos biliares e necrose tecidual, que pode prejudicar de forma significativa as características morfológicas do fígado além de sua palatabilidade o inviabilizando para venda ao consumidor.

5. CAPÍTULO II – Epidemiologia de *Fasciola hepatica* em animais da região metropolitana de Belo Horizonte.

5.1. INTRODUÇÃO

Fasciola hepatica (LINNAEUS, 1758) é um trematódeo digenético da família Fasciolidae que parasita os ductos hepáticos de bovinos, bubalinos, ovinos, roedores e do homem (LIMA et al. 2009). A fasciolose é considerada uma enfermidade de grande importância veterinária, pois representa um sério problema para a criação de ruminantes, ocasionando perdas econômicas decorrentes da queda na produtividade de carne, leite e lã, retardo no crescimento de animais jovens, abortos, mortalidade, rejeições de fígados em matadouros, além dos gastos no controle da parasitose (LIMA et al., 2009; DRACZ E LIMA, 2014). Apresenta distribuição cosmopolita, sendo relatada na Europa, África, Ásia, Oceania e Américas. No Brasil, a região considerada enzoótica para o parasito são os estados do Sul (Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná) e Sudeste (São Paulo, Rio de Janeiro, sul do Espírito Santo e de Minas Gerais) (LIMA et al., 2009; DRACZ E LIMA, 2014; BENNEMA et al., 2014).

Em Minas Geras considera-se que a ocorrência desse trematódeo está em expansão em várias regiões do estado, devido aos novos relatos que vem sendo descritos em áreas consideradas indenes (LIMA et al., 2009; DRACZ E LIMA, 2014; BENNEMA et al., 2014). O estado é um dos principais produtores de leite e carne no país, onde a agropecuária ocupa em torno de 70% do seu território. O número efetivo do rebanho bovino é de 22.165.606 milhões de bovinos, distribuídos principalmente no Triângulo Mineiro, Região Metropolitana e Vale do Aço. Apesar do grande papel que o estado tem no campo da agropecuária nacional e da importância econômica do parasito, não há uma constância nas avaliações de ocorrência da fasciolose nos hospedeiros definitivos, mesmo que alguns inquéritos parasitológicos indiquem a presença e dispersão da *F. hepatica* no território brasileiro (OLIVEIRA, 2008).

A dispersão geográfica do parasito no Brasil se deve a transferência de animais de áreas onde a doença é enzoótica para localidades indenes com condições epidemiológicas favoráveis, como a presença de moluscos limneídeos, que são os hospedeiros intermediários de *F. hepatica*, e fatores ambientais, climáticos e hidrográficos ideais que proporcionam condições para o desenvolvimento e estabelecimento do ciclo biológico (LIMA et al., 2009; ALVES et al., 2011; MARTINS et al., 2012; DRACZ E LIMA, 2014). O conhecimento da dispersão do parasito, evidencia a importância e necessidade de estudos epidemiológicos identificando novos focos da doença para o real conhecimento da distribuição do parasito no estado de Minas Gerais. Além disso,

identificar e conhecer fatores e aspectos de risco relacionados à sua disseminação e transmissão, para indicar medidas efetivas de controle adequadas a cada região.

OBJETIVO:

Avaliar a taxa de infecção natural de bovinos por *F. hepatica* nos municípios de Itaguara, Carmo do Cajuru, Crucilândia em Minas Gerais.

5.2 METODOLOGIA

5.2.1 Seleção da área de estudo.

O município de estudo foi selecionado a partir de dados fornecidos pelo IMA sobre fígados condenados por *F. hepatica* enviados ao Laboratório de Helminologia Veterinária ICB/UFMG (LabHelVet). Em seguida, os dados fornecidos pelo Guia de Transporte Animal (GTA), permitiram localizar a origem de cada fígado condenado e assim, entrar em contato com os produtores da região.

Para as propriedades que testaram como positivo para *F. hepatica*, na necrópsia do fígado, o laboratório entrou em contato com os proprietários requisitando uma visita técnica. Das fazendas que aceitaram a visita, foram coletadas amostras de fezes bovinas, e realizado testes para avaliar a presença de *F. hepatica*. Caso o resultado fosse positivo, nova visita era marcada com os proprietários adjacentes a esta fazenda, caso o resultado fosse negativo, nenhuma visita era remarcada.

5.2.2. Coleta de ovos nas fezes

Em cada propriedade foram coletadas, aproximadamente 40 gramas de fezes de animais com idade superior a 12 meses. Para a coleta, os animais foram contidos em brete e/ou tronco disponível na propriedade e em seguida, era realizada a coleta da amostra diretamente da ampola retal de cada bovino, com auxílio de um saco plástico acoplado a mão do coletor.

Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em recipiente de plástico previamente identificado contendo solução de formol a 4%. O exame parasitológico para pesquisa de ovos de *Fasciola*, das amostras fecais, foi realizado pela técnica dos quatro tamises modificada por Girão & Ueno (1982) pelo LabHelVet_ICB_UFMG.

Resumidamente, as amostras foram diluídas em água de torneira, com auxílio de um bastão de vidro, e em seguida passada por quatro tamises sobrepostos em sequência, em ordem de 100, 180, 200 e 250 malhas/polegadas, com aberturas de 174, 96, 87 e 65 μm , respectivamente. Os três primeiros tamises retem detritos maiores, enquanto o último retem pequenos detritos e os ovos de *F. hepatica*. O substrato retido último tamis, foi coletado em copos de alumínio, usando fluxo de sentido oposto a lavagem, onde ficou decantando por 10 minutos. Após este tempo, o corpo de fundo foi recolhido com auxílio de uma pipeta de Pasteur, e transferido a uma placa de Petri, onde foi examinado em microscópio estereoscópico com o objetivo de encontrar ovos de *F. hepatica*. Para cada amostra foram examinadas até um mínimo de três amostras em placas de Petri, antes de que se pudesse dar o resultado como negativo.

5.2.3. Coleta de dados das propriedades

Em cada uma das propriedades visitadas durante o estudo foram coletados dados com o uso de questionário (ANEXO 1) aplicado aos proprietários das fazendas, além do uso de observação direta. As informações referentes a identificação foram: Nome do proprietário e da propriedade, localização geográfica de onde se encontra a propriedade através do uso de um sistema de posicionamento por satélite - Sistema de Posicionamento Global – GPS (Garmin Nüvi 42), raça e categoria dos animais e amostras coletadas.

As informações coletadas de caracterização foram: tipo de exploração pecuária, método de criação, destino final das fezes, origem da água oferecida aos animais, se há compartilhamento com outras espécies de animais, se ocorre alagamento do pasto, método de criação de bezerros e conhecimento sobre *F. hepatica*.

Esses dados foram coletados mediante a assinatura Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) (ANEXO 2), por parte dos proprietários e funcionários responsáveis.

5.2.4. Comitê de ética

A coleta de amostra biológica dos animais, além do manuseio e intervenção foram aprovados pela Comissão de Ética em Uso de Animais da Universidade Federal de Minas Gerais/CEUA_UFMG 140/2021. O questionário aplicado foi autorizado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais/CEP_UFMG 3.203.595.

5.3. RESULTADOS

5.3.1. Área de estudo e identificação de *F. hepatica*

Os municípios com fígados condenados para *F. hepatica* foram: Brumadinho, Piracema, Bonfim, Esmeraldas, Carmópolis de Minas, Itaguara, Carmo do Cajuru e Crucilândia. Com base nestes municípios, foram coletadas amostras de fezes, principalmente bovinos adultos, de seis propriedades rurais, quatro de Itaguara, uma de Carmo do Cajuru e uma de Crucilândia, sendo todas pertencentes a região Metropolitana de Belo Horizonte. Quando possível, amostra de fezes de outros animais como equinos e muares foram coletadas (**Tabela 6**). Alguns municípios presentes nessa região, como Brumadinho, Piracema, Bonfim, Esmeraldas e Carmópolis de Minas, negaram a visita técnica.

Tabela 6 - Tabela das propriedades nos municípios em que foram coletadas amostras de bovinos e outros animais em na região Metropolitana de Belo Horizonte e Colar Metropolitano.

Município	Bovinos totais	Bovinos positivos	% de bovinos positivos	Equinos e Moares totais	Equinos e Moares positivos	% de Equinos e Moars positivos
Itaguara 01	34	16	47,05%	2	1	50%
Itaguara 02	14	3	21,42%	0	0	0%
Itaguara 03	11	2	18,18%	5	0	0%
Itaguara 04	8	0	0%	0	0	0%
Carmo do Cajuru	14	0	0%	1	0	0%
Crucilandia	18	12	66,66%	1	0	0%
Total	99	33	33,33%	9	1	11,11%

Legenda: Municípios onde foram realizadas coletas de fezes, sendo quatro fazendas presentes no município de Itaguara, classificadas com o nome de Itaguara 01, 02, 03 e 04, uma em Carmo do Cajuru, e uma no município de Crucilândia

5.3.2 Característica das amostras de fezes

Foram coletadas em Itaguara, na Fazenda Itaguara 01, 34 amostras de Bovinos adultos, dois bezerros, um cavalo e uma mula, desses, 16 bovinos adultos e um cavalo foram positivos para ovos de *F. hepatica*, da Fazenda Itaguara 02, foram coletadas 14 amostras de bovinos adultos, e desses apenas três eram positivos, a Fazenda Itaguara 03, foram coletadas 11 amostras de bovinos adultos e cinco amostras de cavalos, sendo que apenas duas amostras de bovino foram positivas, a Fazenda Itaguara 04, foram coletadas oito amostras, sendo que nenhuma estava positiva. Em Carmo do Cajuru, foi feita coleta em apenas uma propriedade em que o GTA indicou haver fígado condenado

por *F. hepatica*, sendo 14 de bovinos adultos e uma de equino, desses nenhum animal estava positivo, em Crucilândia foi realizada coleta de 18 bovinos adultos e um cavalo, sendo que 12 amostras de bovinos foram positivas (**Tabela 6**).

5.3.3. Característica das Propriedades rurais

Para coleta de informações referente ao manejo das fazendas, foram realizadas, para cada propriedade, uma entrevista com questionário e observação direta da propriedade (**Tabela 7**). Com base nas informações três (50%) propriedades eram criadoras de gado do tipo holandês e três (50%) corte e leite. Destas, quatro (66,66%) exerciam atividade leiteira e duas (33,33%) exerciam compra e recria de animais.

Com relação ao manejo, três (50%) utilizavam sistema de pastagem para criação de animais e três (50%) utilizavam sistema de semiconfinamento. Sendo que, duas (33,33%) utilizavam bebedouros abastecidos de poços artesianos e quatro (66,66%) os animais bebiam água diretamente de ribeirões e açudes. Com relação as fezes, duas (33,33%) utilizavam esterqueiras. O pasto onde ficavam os animais era alagado ou semialagado, durante o período de chuva em quatro (66,66%) das propriedades e em duas (33,33%) o pasto era seco.

Devido ao manejo das vacas, duas (33,33%) das propriedades não possuíam bezerros, sendo que duas (33,33%) delas possuíam bezerreiros fechados e uma (16,66%) os bezerros tinham livre acesso aos animais adultos. Na maioria das propriedades (66,7%), o pasto era compartilhado por outros animais, principalmente equinos e muares, enquanto as demais, duas (33,3%) os animais ficavam em pastos separados. Sobre o conhecimento do parasito, *F. hepatica*, apenas três (50%) dos proprietários demonstraram conhecimento, enquanto três (50%) não conheciam o parasito.

Tabela 7 - Infecção por *Fasciola hepatica* nos animais das propriedades rurais dos municípios Itaguara e Crucilândia, MG, segundo variáveis relacionadas à fatores ambientais observados.

Variáveis	Número de Propriedades	Infecção Positiva	Infecção negativa
Tipo Bovinos na propriedade			
Holandês	3 (50%)	1 (50%)	1 (50%)
Misto	3 (50%)	2 (66,66%)	1 (33,33%)
Tipo de atividade			
Atividade Leiteira	4 (66,66%)	2 (50%)	2 (50%)
Compra e recria de animais	2 (33,33%)	2 (100%)	0 (0%)
Método de criação			
Sistema de pastagem	3 (50%)	3 (100%)	0 (0%)
Sistema de semiconfinamento	3 (50%)	1 (33,33%)	2 (66,66%)
Água nos pastos			
Pasto fica alagado durante as chuvas	4 (66,66%)	4 (100%)	0 (0%)
Pasto seco	2 (33,33%)	0 (0%)	2 (100%)
Origem da água oferecida aos animais			
Bebedouros com poços artesianos	2 (33,33%)	0 (0%)	2 (100%)
Água de Ribeirões e açoites	4 (66,66%)	4 (100%)	0 (0%)
Destino das fezes dos animais			
Deixadas no pasto	4 (66,66%)	4 (100%)	0 (0%)
Fezes recolhidas e jogadas em esterqueira	2 (33,33%)	0 (0%)	2 (100%)
Criação de Bezerros			
Bezerreiro fechado	2 (33,33%)	0 (0%)	2 (100%)
Acesso livre a animais adultos	1 (16,66%)	1 (100%)	0 (0%)
Não possuía bezerros	2 (33,33%)	2 (100%)	0 (0%)
Contato com outros animais			
Pasto compartilhado com equinos e moares	4 (66,66%)	4 (100%)	0 (0%)
Bovinos separados de outros animais	2 (33,33%)	0 (0%)	2 (100%)
Conhecimento sobre <i>F. hepatica</i>			
Conheciam o parasito	3 (50%)	2 (66,66%)	1 (33,33%)
Não conhecia o parasito	3 (50%)	1 (33,33%)	2 (66,66%)

5.3.4. Características descritivas das propriedades rurais

O município de Itaguara localizado nas coordenadas 20° 23' 31" S, 44° 29' 16" O, possui uma área de 410.719. Todas as propriedades visitadas desse município possuíam o terreno montanhoso. A Fazenda 01 de Itaguara (20° 24' 5" S, 44° 30' 41" O), propriedade com maior em número de animais (38), possui exploração leiteira, maior prevalência de raça holandesa, porém existe a presença de zebuínos. Na fazenda, bezerros, ficavam em bezerreiros próximo do local de ordenha, que ficava em uma região mais baixa em relação ao pasto, além disso, tanto bovinos jovens quanto adultos tinham livre acesso ao pasto, sendo que com a exceção do bezerreiro, os animais bebiam água diretamente do corpo de água que cortava a propriedade. Equinos presentes na propriedade tinham livre acesso aos pastos, bebendo e comendo dos mesmos locais.

A propriedade Fazenda 02 (20° 24' 30" S, 44° 30' 10" O) do município de Itaguara, possuía o sistema de criação de pecuária de corte, sendo que os animais eram primariamente zebuínos, porém haviam outros animais de outras espécies no rebanho. Os animais eram criados de forma extensionista, e ficavam completamente livres no pasto, não havendo divisão por idade ou estágio produtivo. Os bovinos dividiam os mesmos pastos, córregos e ribeirões, com outros animais da propriedade além de animais de propriedades vizinhas.

A Fazenda 03 (20° 24' 37" S, 44° 30' 35" O) de Itaguara, era vizinha da propriedade Fazenda 02, e não possuía divisão física bem estabelecida não só com essa fazenda, mas com outras nas redondezas. O sistema de produção era primariamente o de compra e venda de bezerros e cria de animais, sendo que esses ficavam livres na propriedade e eram pouco monitorados pelo proprietário, os animais eram primariamente mistos, porém existiam também aqueles da raça holandesa. Essa fazenda dividia o mesmo espaço para criação e venda de bovinos, onde a propriedade compra bezerros jovens, cria esses na propriedade até atingirem a idade adulta, e depois vendiam para outras propriedades. Dessa forma, a rotação de animais desta fazenda era relativamente grande, comparada com as demais avaliadas neste estudo. Assim como as demais fazendas, os animais ficavam livres para tomar água, de córregos e ribeirões, e pastar pela região.

A Fazenda 04 (20° 24' 30" S, 44° 30' 19" O) de Itaguara, possuía criação de animais leiteiros, com sistema de produção semiconfinado, com vacas em currais próximos ao local de ordenha. A fazenda apresentava bezerreiro separado das vacas, e após esta idade eram comercializados. A propriedade apresentava pequenos pontos de alagamento, principalmente por causa das chuvas. Em questionário foi relatado que os animais eram regularmente tratados para endo e ectoparasitoses, além de receberem vacinas e outros tratamentos de forma regular.

Em Carmo do Cajuru município localizado nas coordenadas, 20° 11' 2" S, 44° 46' 15" O, com área de 455,005, a fazenda (20° 12' 58" S, 44° 42' 30" O), possuía terreno montanhoso, cercada por outras propriedades rurais de criação de animais de produção, com diversos pequenos cursos de água correndo entre as propriedades. O tipo de produção prevalente nesta fazenda é bovinocultura de leite, com sistema de confinamento, onde os animais possuíam pouco acesso ao pasto. Esses animais eram de raças diversas, incluindo vacas holandesas, mistas e gir, os quais ficavam separados entre vacas em estágio de lactação, vacas e bezerros. Os currais para cada grupo eram adjacentes entre si, mas com separações físicas.

A fazenda visitada em Crucilândia (20° 20' 37.4" S 44° 20' 53.0" O), município localizada nas coordenadas 20° 23' 2" S, 44° 20' 13" O, de área 166,451 é focada na produção de leite, possuindo na propriedade, vacas holandesas, os bezerros vivem em curral separado, porém no momento da ordenha, eles entram em contato com as vacas que durante o dia ficam soltas no pasto, tendo a alimentação complementada com silagem de milho durante o período das secas. O terreno da propriedade é montanhoso, e os pastos são alagados. Espalhados pela propriedade existem pequenos cursos de água, que os animais usam para beber. As vacas por estarem soltas no pasto entram em contato com equinos de trabalho da propriedade. Os bovinos dessa propriedade não se misturam com animais de outras propriedades.

Todas essas propriedades vendiam os animais ao mesmo frigorífico, localizado em Itaguara, a poucos quilômetros dessas fazendas, sendo que quando esses eram abatidos, os fígados que se apresentavam positivos para a doença eram registrados por técnicos do IMA durante o abate e em seguida, enviados ao LabHelVet, para necrópsia e detecção de *F. hepatica*.

5.4. DISCUSSÃO

Em Itaguara, onde foram realizadas o maior número de coletas, os proprietários que receberam a equipe faziam parte de uma mesma cooperativa, e dessa forma trocavam informações entre si, além de realizarem muitos negócios entre eles, inclusive a compra e venda de animais. Tal fato pode facilitar que a infecção por *F. hepatica* se espalhe entre as propriedades.

Na fazenda 01 de Itaguara também foi encontrado ovos de *F. hepatica* nas fezes de um dos cavalos analisados, esse equino dividia o espaço com os bovinos da propriedade além de pastar e beber água dos mesmos locais, o equino não apresentava nenhum sinal clínico que indicasse sua infecção.

Na propriedade de Carmo do Cajuru, não foi encontrado nenhum animal positivo, e dessa forma, o proprietário da fazenda e os funcionários não souberam informar o local de origem do fígado positivo para *F. hepatica* encontrado ao abate.

Em Crucilândia foi onde se teve o maior número de animais positivos, nesse município, assim como em Itaguara e Carmo do Cajuru, ribeirões e outros pequenos cursos de água passam entre as propriedades, o que pode contribuir com a disseminação de *F. hepatica* entre as propriedades. Porém em Crucilândia não foi possível realizar visita a outras fazendas, pois os proprietários se recusaram a receber a equipe.

Outros municípios apontados durante o processo de necrópsia como locais para visita também recusaram a visita da equipe, como é o caso dos municípios de Bonfim, Esmeraldas e Carmópolis de Minas, Piracema e Brumadinho, além disso outras propriedades nos municípios de Itaguara também se negaram a receber a equipe, o que dificultou em um mapeamento mais preciso das propriedades afetadas. Tal ocorrência é relativamente comum quando se trata de análise parasitária dos animais, muitas vezes, por receio entre a presença de infecção ser associada a qualidade dos produtos comercializados pela fazenda.

Como todas as propriedades estudadas possuíam geografia montanhosa, com pequenos cursos de águas, na forma principalmente de córregos e ribeirões, o que cria o ambiente ideal para o hospedeiro intermediário (LIMA et al., 2009). Outro fator seria animais livres pelos piquetes com acesso constante aos cursos de podem ser fatores predisponentes ao estabelecimento do ciclo de *F. hepatica* (GUIMARÃES et al., 2010).

6. CONCLUSÃO

Dados nosográficos do Instituto Mineiro de Agropecuária, durante os anos de 2009 a 2018, indicam tendência positiva para expansão da fasciolose em Minas Gerais.

Notificação equivocada para *F. hepatica* ocorre na inspeção estadual em Minas Gerais.

Bovinos dos municípios de Itaguara e Crucilândia estão naturalmente infectados por *F. hepatica*, comprovando dispersão da fasciolose na região metropolitana de Belo Horizonte.

Observou-se pela primeira vez em Minas Gerais a eliminação natural de ovos de *F. hepatica* por cavalos.

Presença de cursos d'água sugerem associação com ocorrência da infecção por *F. hepatica* nas propriedades inseridas nos municípios de Itaguara e Crucilândia localizados região metropolitana de Belo Horizonte.

Novos estudos epidemiológicos são necessários para conhecer a real situação da fasciolose em Minas Gerais.

REFERENCIAS

- ALVES, D.P.; CARNEIRO, M.B.; MARTINS, I.V.F.; BERNARDO, C.C.; DONATELE, D.M.; PEREIRA JUNIOR, O.S.; ALMEIDA, B.R.; AVELAR, B.R.; LEÃO, A.G.C. Distribution and factors associated with *Fasciola hepatica* infection in cattle in the south of Espírito Santo State, Brazil. **J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.** v.17, n.3, p.271-276, 2011.
- ANDREWS, S.J. The life cycle of *Fasciola hepatica*. **Fasciolosis.** v.1, p.20, 1999.
- AMATO, J.F.R.; AMATO, S.B. Técnicas gerais para coleta e preparação de helmintos endoparasitos de aves. **Ornitologia e conservação: ciência aplicada, técnicas de pesquisa e levantamento**, v.16, p.369-393, 2010.
- APT, W.; AGUILERA, X.; VEJA; ALCAÍNO, H.; ZULANTAY, I.; APT, P.; GONZÁLEZ, V.; RETAMAL, C.; RODRÍGUEZ, J.; SANDOVAL, J. P Prevalencia de fascioliasis en humanos, caballos, cerdos y conejos silvestres, en tres provincias de Chile. **Boletín de la oficina sanitaria panamericana.** v. 115, n.5, 1993.
- AKSOY, D.Y.; KERIMOGLU, U.; OTO, A.; ERGUVEN, S.; ARSLAN, S.; UNAL, S.; BATMAN, F.; BAYRAKTAR, Y. Infection With *Fasciola hepatica*. **Clin Microbiol Infec.** v. 11, n. 11, p. 859-86, 2005.
- BEHM CA, SANGSTERS NC. Pathology, Pathophysiology And Clinical Aspects. In: **Fasciolosis.** 1ª edição. CAB International: p.188-224, 1999.
- BENNEMA, S.C.; SCHOLTE, R.G.C.; MOLENTO, M.B.; MEDEIROS, C.; CARVALHO, O.S. *Fasciola hepatica* in bovines in Brazil: Data availability and spacial distribution. **Rev. Inst. Med. Trop.** v.54, n.1, p.35-41, 2014.
- BERNARDO, C.C.; CARNEIRO, M.B.; AVELARA, B.R.; DONATELE, D.M.; MARTINS, I.V.F.; PEREIRA, M.J.S. Prevalence of Liver Condemnation Due to Bovine Fasciolosis in Southern Espírito Santo: Temporal Distribution and Economic Losses. **Rev Bras Parasitol Vet.** v.20, n.1 p. 49-53, 2011.
- BORAY, J.C. Studies on experimental infections with *Fasciola hepatica*, with particular reference to acute fascioliasis in sheep. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology.** V. 61, n.4, p. 439-450, 1967.
- BORAY, J.C. Experimental Fascioliasis in Australia. **Adv Parasitol:** v. 7, p. 95-210, 1969.
- CALDAS, W. S.; LIMA, W. S.; CURY, M. C.; MALACCO, M. A. F.; SILVA, R. S. Prevalência de *Fasciola hepatica* em bovinos de algumas mesorregiões do Estado de Minas Gerais. In: IX SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA. **Anais.** Campo Grande, 1995.
- CARPIO, I.S.N.; IWASHITA, A.T. Prevalencia de infección humana por *Fasciola hepática* en pobladores del distrito de Caujul provincia de Oyon, región de Lima, Perú. **Acta Médica Portuguesa** v. 25, n.2, 2008.
- CARVALHO, J.C.M.; Contribuição para o conhecimento da fauna helmintológica de Minas Gerais. **Ceres.** v.1, n.5, p. 411-423, 1940.
- CHARLIER, J.; DUCHATEAU, L.; CLAEREBOU, E.; WILLIAMS, D.; VERCRUYSSSE, J. Associations between anti-*Fasciola hepatica* antibody levels in bulk-tank milk samples and production parameters in dairy herds. **Prev. Vet. Med.** V. 78, n.1, p. 57-66, 2007.

- COSTA, A.M.C.B. **Fasciolose Bovina: aspectos clínicos e epidemiológicos no Alentejo**. 2010. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Técnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária.
- DAWES, B. Some Observations of *Fasciola hepatica* L. During Feeding Operations in the Hepatic Parenchyma of the Mouse, With Notes on the Nature of Liver Damage in This Host. **Parasitol.** v. 53, p. 135-43, 1963a.
- DAWES, B. Hyperplasia of the Duct Biliar in Fasciolosis and Its Relation to the Problem of Nutrition in the Liver-Fluke, *Fasciola hepatica* L. **Parasitol.** v. 53, p. 123- 133, 1963b.
- DRACZ, R.M; LIMA, W.S. Autochthonous infection of buffaloes and cattle by *Fasciola hepatica* in Minas Gerais, Brazil. **Braz. J. Vet. Parasitol.** v.23, n.3, p.413-416, set. 2014.
- DRACZ, R.M.; RIBEIRO, V.M.A.; PEREIRA, C.A.J.; LIMA, W.S. Occurrence of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) in capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) (Linnaeus, 1766) in Minas Gerais, Brazil. **Braz. J. Vet. Parasitol.** v.25, n.3, p.364-367, jul. 2016a.
- DRACZ, RUTH MASSOTE. **Aspectos epidemiológicos de *Fasciola hepatica* nos municípios de Pedro Leopoldo e São José da Lapa – Minas Gerais, e avaliação da infecção experimental em ovinos da raça Santa Inês**. 2016. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Instituto de Ciencias Biologicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016b.
- ECHEVARRIA, F.A.M. Mesa redonda sobre fasciolose bovina. **A Hora Veterinária**. Ed. Extra. n.1, p.27-31, 1995.
- FAIRWEATHER, I.; BORAY, J.C. Fasciolicides: Efficacy, actions, resistance and its management. **Vet. J.** v.158, n.2, p.81-112, Sept. 1999.
- FAIRWEATHER, I. Reducing the Future Threat From (Liver) Fluke: Realistic Prospect or Quixotic Fantasy? **Vet Parasitol.** 180: 133–143, 2011.
- FOREYT, W.J. **Parasitologia Veterinária: manual de referência** .5.ed. São Paulo: Roca, 2005; 240p.
- GUIMARÃES MP 2016. *Fasciola hepatica*. Em: NEVES, DP. **Parasitologia Humana**. 13ª ed. São Paulo. Ed Artheneu: p. 223-226.
- GIRÃO, E.S.; UENO, H. Nova técnica de contagem de ovos para o diagnóstico de fasciolose crônica em ruminantes. In: **Congresso da sociedade brasileira de parasitologia. Porto Alegre-RS. Anais... Porto Alegre, 36p.** 1982.
- GOMES, F.F.; OLIVEIRA, F.C.R.; PILE, E.A.; LOPES, C.W.G. Estabelecimento de Foco de Fasciolose hepática em Propriedade do Município de Campos dos Goytacazes no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Rev. Bra. Parasitol. Vet.** v.11, n.2, p.53-56, 2002.
- GONZALES-SANTANA, B.; DALTON, J.P.; CAMARGO, F.V.; PARKINSON, M.; NDAO, M. The diagnosis of human fascioliasis by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using recombinant cathepsin, L protease. **PLoS Negl. Trop. Dis.** v.7, n.9, 2013.
- GONZÁLEZ-LANZA, C.; MANGA-GONZALEZ, Y.; DEL-POZO-CARNERO, P.; HIDALGO-ARGUELLO, R. Dynamics of elimination of the eggs of *Fasciola hepatica* (Trematoda, Digenea) in the Faeces of cattle in the Porma Basin, Spain. **Vet. Parasitol.** v. 34 n. 1-2, p. 35-43. 1989.
- HODGKINSON, J.; CWIKLINSKI, K.; BEESLEY, N.J.; PATERSON, S.; WILLIAMS, D.J.L. Identification of putative markers of triclabendazole resistance by a genome-wide analysis of genetically recombinant *Fasciola hepatica*. **Parasitol.** v.140, n. 12, p. 1523 –1533, 2013.
- HONER, M.R. Aspectos da epidemiologia da fasciolose. An. 1 Sem. Nac. Parasitoses dos Bovinos. **CNPGC. EMBRAPA**. Campo Grande. p. 167-177. 1979

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br>. Acesso em 20/06/2022.

Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA). 2022. Disponível em: <http://ima.mg.gov.br/agroindustria/produtos-de-origem-animal>. Acesso em 23/06/2022.

IGREJA, R.P.; BARRETO, M.G.; SOARES, M.S. Fasciolíase: Relato de Dois Casos em Área Rural do Rio de Janeiro. **Rev Soc Bras Med Trop**. v. 37, n. 5, p.416-7, 2004.

LIMA, W.S.; SOARES, L.R.M.; BARÇANTE, T.A.; GUIMARAES, M.P.; BARÇANTE, J.M.P. Occurrence of *Fasciola hepatica* (Linneaus, 1758) infection in Brazilian cattle of Minas Gerais, Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v.18, n.2, p.27-30, jun. 2009.

LUTZ, A.; Sobre a ocorrência da *Fasciola hepatica* no Estado do Rio de Janeiro. **Bol. Inst. Oswaldo Cruz**. v.1, n.1, p.9-13, 1921.

MARTINS, I.V.F.; AVELAR, B.R.; PEREIRA, M.J.S.; FONSECA, A.H. Application of a geographical information system approach risk analysis of fascioliasis in southern Espírito Santo state, Brazil. **Geospat. Health** v.6, n.3, p.S87-S93, 2012

MACIEL, M.G.; LIMA, W.S.; ALMEIDA, F.L.M.; COELHO, L.I.A.R.C.; ARAÚJO, G.A.N.; LIMA, M.G.; MACIEL, L.H.G.; PEREIRA, C.A.J.; MACIEL, T.C.S.; GUERRA, J.A.O.; SANTANA, R.A.G.; GUERRA, M.G.V.B. Cross-Sectional serological survey of human fascioliasis in Canutama municipality in western Amazon, Brazil. **J. Parasitol. Res.** 2018.

MEZO, M.; GONZÁLEZ-WARLETA, M.; UBEIRA, F.M. The use of MM3 monoclonal antibodies for the early immunodiagnosis of ovine fascioliasis. **J. Parasitol.** V. 93, n.1, p. 65-72, 2007.

MUINO, L.; PERTEGUER, M.J.; GÁRATE, T.; MARTÍNEZ-SERNÁNDEZ, V.; BELTRÁN, A.; ROMARÍS, F.; MEZO, M.; GONZÁLEZ-WARLETA, M., UBEIRA, F.M. Molecular and immunological characterization of *Fasciola* antigens recognized by the MM3 monoclonal antibody. **Mol. Biochem. Parasitol.** V.179, n.2, p. 80-90, 2011.

MUNGUÍA-XÓCHIHUA, J.A.; IBARRA-VELARDE, F.; DUCOING-WATTY, A.; MONTENEGRO-CRISTINO, N.; QUIROZ-ROMERO, H. Prevalence of *Fasciola hepatica* (ELISA and fecal analysis) in ruminants from a semi-desert área in the northwest of Mexico. **Parasitol. Res.** v.101, p.127-130, 2007.

OAKLEY, G. A.; OWEN, B.; KNAPP, N. H. Production effects of subclinical liver flukes infection in growing dairy heifers. **Vet. Rec.** v.104, p.503-507, 1979.

OLIVEIRA, A. Distribuição geográfica de algumas zoonoses existentes no Rio Grande do Sul. **Rev. Zoo. Vet.**, v. 19, n. 3-4, p.147-148, 1932.

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 na outbreak in Almirante Tamandare, Parana, Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v.17, n.1, p.149-153, 2008.

PAZ-SILVA, A.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; SUÁREZ, J.L.; PEDREIRA, J.; ARIAS, M.; LÓPEZ, C.; PANADERO, R.; DÍAZ, P.; DÍEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO. Prevalence of natural ovine fasciolosis shown by demonstrating the presence of serum circulating antigens. **Parasitol. Res.** v. 91, n. 4, p. 328-331, 2003

PILE, E.; GAZETA, G.; SANTOS, J.A.A.; COELHO, B.; SERRA-FREIRE, N.M. Ocorrência de Fasciolose Humana no Município de Volta Redonda, RJ, Brasil. **Ver Saúde Pública**. v. 34, n. 4, p. 413-414, 2000.

- PILE, E.; SANTOS, J.A.A.; PASTORELLO, T.; VASCONCELLOS, M. Fasciola hepatica em búfalos (*Bubalus bubalis*) no município de maricá, Rio de Janeiro, Brasil. **Braz. J. Vet. Anim. Sci.** v. 38, n.1, p. 42-43, 2001.
- POGLAYEN, G.; MARTINI, M.; ZAMPICCOLI, R.; CAPELLI, G. An epidemiological survey on cattle parasitic diseases of the Treno province [Trentino Alto Adige]. **Atti della Societa' Italiana di Buiatria.** V. 27, p. 483-489, 1997.
- PRITCHARD, G.C.; FORBES, A.B.; WILLIAMS, D.J.L.; SALIMI-BEJESTANI, M.R.; DANIEL, R.G. Emergence of Fasciolosis in Cattle East Anglia. **The Veterinary Record.** v. 5, 2005.
- RIBEIRO, P.A.; Incidência das causas de rejeição de bovinos no Brasil Central, prejuízos causados pelas mesmas nos anos de 1946/47. **Rev. Fac. Med. Vet. S. Paulo.** v.4, n.1, p 167 - 183, 1949.
- RIBEIRO, V.M.A.; COAGLIO, A.L.; OLIVEIRA, F.L.P.; PEREIRA, C.A.J.; LIMA, W.S. Dynamics of haemocytes from *Pseudosuccinea columella* circulating infected by *Fasciola hepatica*. **Braz. J. Vet. Parasitol.** v.26, n.4, p.411-418, Dec. 2017.
- ROBINSON, M.W.; MENON, R.; DONNELLY, S.M.; DALTON, J.P.; RANGANATHAN, S. An integrated transcriptomics and proteomics analysis of the secretome of the helminth pathogen *Fasciola hepatica*: proteins associated with invasion and infection of the mammalian host. **Mol. Cell. Proteomics.** v.8, n.8, 2009.
- ROJO-VAZQUEZ, F.A.; MEANA, A.; VALCÁRCEL, F.; MARTÍNEZ-VALLADARES, M. Update on trematode infections in sheep. **Vet. Parasitol.** v.189, n.1, p. 15-38. 2012
- RUBEL, D.; PREPELITCHI, L.; KLEIMAN, F.; CARNEVALE, S.; WISNIVESKYCOLLI, C. Estudio de foco en un caso de fasciolosis humana en Neuquén. **Medicina (Buenos Aires).** v. 65, p. 207-212, 2005.
- SANTOS, C.S.; SCHERER, P.O.; VASCONCELLOS, M.C.; PILE, E.M.; FREIRE, L.S.; SANTOS, J.A.A.; SERRA-FREIRE, N.M. Registro de *Fasciola hepatica* em Equinos (*Equus caballus*), Caprinos (*Capra hircus*) e Ovinos (*Ovis aries*) no Município de Itaguaí, Rio de Janeiro, Brasil. **R Bras Ci Vet.** v. 7, n. 1, p. 63-64, 2000.
- TORGERSON, P.; CLAXTON, J. Epidemiology and control. In: DALTON, J. P. **Fasciolosis**, Ontario: CABI Publishing, 1999. cap. 4. p. 113 - 149.
- UETA, MT. Ocorrência de infecção natural de *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 em *Lymnaea columella* Say, 1817 no vale do Paraíba, SP, Brasil. **Rev Saude Pub São Paulo**, v. 14, p. 230-23. 1980.
- VIEIRA, N.P.; FARIA, P.B.; MATTOS, M.R.; PEREIRA, A.A. Condemnation of Bovine Liver in the Southern Region of the State Espírito Santo, Brazil. **Arq Bras Med Vet Zootec.** v.63, n.6, p.1605-1608, 2011.
- YILMA, J.M.; MALONE, J.B. A geographic information system forecast model for strategic control of fasciolosis in Ethiopia. **Vet. Parasitol.** v. 78, p. 103-127, 1998.
- WANG, C.R.; QIU, J.H.; ZHU, X.Q.; HAN, X.H.; NI, H.B.; ZHAO, J.P.; ZHOU, Q.M.; ZHANG, H.W.; LUN, Z.R. Survey of helminths in adult sheep in Heilongjiang Province, People's Republic of China. **Vet. Parasitol.** v. 140, p.378-382, 2006.

ANEXO 1: Questionário

Questionário para o produtor/responsável			
Identificação			
Propriedade:			
Proprietário / Responsável:			
Localidade / Bairro:			
Categoria animal amostrada:			
Raça:			
Número de amostras coletadas:			
Ponto GPS:			
Data:			
Entrevista objetiva			
Qual a origem dos animais do rebanho:	☐ Origem na propriedade	☐ Compra no município	☐ Compra em outros municípios
Qual o tipo de exploração pecuária:	☐ Leite	☐ Misto	
Qual o tipo de sistema de produção:	☐ Pastagem	☐ Confinamento e Pastagem	☐ Confinamento
Onde se encontram as áreas de pastagem:	☐ Áreas não alagadas	☐ Áreas alagadas com drenagem	☐ Áreas alagadas sem drenagem
Destino das fezes do curral de manejo:	☐ Esterqueira	☐ Capineira	☐ Pastagem
Qual a origem da água oferecida aos animais:	☐ Ribeirão / Lagoa / Açude. Qual?		☐ Poço
Outros animais compartilham o pasto:	☐ Não	☐ Sim: Qual?	
Conhecimento sobre <i>Fasciola hepatica</i> :	☐ Não	☐ Sim	
Fígados dos animais abatidos tem baratinha:	☐ Não	☐ Sim	
Observação direta			
Tipo de topografia das pastagens:	☐ Relevo plano		☐ Relevo plano / montanhoso

ANEXO 2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Projeto: Levantamento da Fasciolose Bovina em Minas Gerais

Nome do Pesquisador Principal: Profa. CINTIA PAPRECIDA DE JESUS PEREIRA Nome dos demais participantes da equipe: Prof. WALTER DOS SANTOS LIMA_CRMV 1326; RAPHAEL MEIRA BECATTINI_CRMV 20106.

Razão social e Ciaep instituição da CEUA que aprovou: Universidade Federal de Minas Gerais
— Ciaep: 02.044.2019

Objetivo do estudo: O objetivo da atual proposta, é a ampliação de dados de levantamento da doença nos municípios considerados indenes, uma vez que, na maioria das regiões pouco se sabe a respeito da ocorrência de ciclo natural de *F. hepatica*, e somente com os dados referentes à condenação em frigoríficos de fígados não confirmam tal evento. Para tanto, nesse projeto será realizado um levantamento da distribuição de *F. hepatica* em rebanhos dos municípios das regiões Campo das Vertentes, Sul e Sudoeste da Zona da Mata, Região Metropolitana de Belo Horizonte, Vale do Rio Doce, Central Mineira, Oeste, Jequitinhonha, Vale do Mucuri e Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba todos sinalizando para ocorrência de fasciolose animal.

Procedimentos a serem realizados com os animais:

Esse trabalho foi elaborado com o objetivo de realizar o levantamento coproparasitológico de *Fasciola hepatica* em bovinos de municípios mineiros.

Escolha dos municípios versus Acesso aos dados nosográficos do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA)

Dados da condenação de fígados por *F. hepatica* nos municípios do estado de Minas Gerais, utilizando dados nosográficos do IMA, já estão sendo realizados no Laboratório de Helmintologia Veterinária localizado no ICB/UFMG. Tem-se acesso aos dados nosográficos de 2009-2018 para levantamento prévio de possíveis causas de condenação de fígados de bovinos abatidos no Sistema de Inspeção Estadual. Essa busca no banco de dados é importante para indicar possível ocorrência da fasciolose em bovinos no estado de Minas Gerais, visto que a fasciolose é um evento raro.

Acesso aos fígados condenados no Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA)

O acesso aos fígados condenados será solicitado ao IMA antes do início do levantamento coproparasitológico em cada região, visto que, a identificação morfológica prévia do parasito é

necessária, pois, durante a inspeção é comum que alguns técnicos confundam *Fasciola hepatica* com *Eurytrema sp.*, parasito do pâncreas. Dessa forma, a confirmação da infecção por *F. hepatica* antes de mobilizar uma equipe para o trabalho de campo é importante ao grupo do LabHelVet_ICB_UFMG.

Diante do exposto nos municípios que tiveram confirmação de condenação pelos dados nosográficos, o gerente do IMA coletará fígados com condenação por *F. hepatica* durante o abate. A amostra será imediatamente enviada ao Laboratório de Helminologia Veterinária conforme acordo com o gerente do IMA em caixas de isopor contendo gelo. No laboratório, o fígado será avaliado de forma macroscópica e microscópica. O fígado será seccionado com tesoura e os parasitos serão quantificados. Espécimes e amostras do fígado serão coletados, fixados em formol à 4% e em álcool absoluto para análises futuras, para compor o banco de dados de Fasciolose de Minas Gerais que será montado a partir desse estudo.

Fazendas amostradas por município:

O número de municípios será previamente definido a partir dos dados nosográficos disponíveis pelo IMA para a positividade por *Fasciola hepatica*. A **positividade** por *F. hepatica*, é um evento raro, diante desse indício serão selecionadas **todas as fazendas no entorno do corpo de água** da Fazenda indicada pelo IMA.

Animais amostrados:

Serão selecionadas propriedades rurais/município utilizando o cadastro do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) seguido informações sobre a fazenda. Um questionário (aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa CEP_UFMG CAAE 03509318.7.0000.5149) será aplicado ao proprietário/responsável da fazenda (anexo 1). Em cada propriedade serão coletadas, aproximadamente 40 gramas de fezes diretamente da ampola retal de cada bovino, com auxílio de um saco plástico acoplado a mão do coletor, com idade superior a 12 meses. Para cada coleta, os animais serão contidos em brete e/ou tronco disponível na propriedade. Em seguida estas amostras serão acondicionadas em recipiente de plástico previamente identificado contendo solução de formol a 4%. O exame parasitológico das amostras fecais será realizado pela técnica dos quatro tamises modificada por Girão & Ueno (1982), para pesquisa de ovos de *Fasciola* no LabHelVet_ICB_UFMG.

Cronograma Experimental

Atividades	09/2021 a 09/2026
Escolha dos municípios versus Acesso aos dados nosográficos do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA)	Todo o período do projeto após negociação com município de origem dos animais
Acesso aos fígados condenados no Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA)	Todo o período do projeto após negociação com município de origem dos animais

Fazendas amostradas por município	Todo o período do projeto após negociação com município de origem dos animais
Animais amostrados	Todo o período do projeto após negociação com município de origem dos animais

Potenciais riscos para os animais: a participação nesta pesquisa não provocará nenhum risco aos animais.

Benefícios: Uma das principais fonte de renda da pecuária brasileira é a bovinocultura de corte, somos o maior rebanho comercializável do mundo. *Fasciola hepatica* é um parasito que causa grandes prejuízos nesse sistema devido perda de peso dos animais, infecções secundárias, queda na produção e na qualidade do leite, lã e da carne, redução na fertilidade, abortos, atraso no crescimento, gastos com o tratamento, morte de animais e condenação de fígados nos frigoríficos de produção. A fasciolose alcança repercussão em função do aumento do número de casos, tanto de origem animal quanto humana. É crescente a dispersão geográfica dessa parasitose e muito se deve à transferência de animais parasitados de locais onde a doença é enzoótica para localidades indenes, com condições epidemiológicas favoráveis.

O trabalho desenvolvido pelo grupo de Helmintologia Veterinária_ICB_UFMG comprovou desde a década de 1990 que a fasciolose bovina encontra-se em expansão em Minas Gerais, com ocorrência de animais positivos pelo exame de fezes em alguns municípios do Estado.

Não há rotina de procura da infecção no Brasil, além disso, técnicos, produtores, médicos da saúde animal e humana, na grande maioria das vezes desconhecem os ovos do parasito eliminado nas fezes dos hospedeiros definitivo e/ou sinais e sintomas clínicos da doença.

Dados produzidos podem auxiliar as gerências das sete das 13 macrorregiões: Centro, Centro-Sul, Sul, Sudeste, Oeste, Leste do Sul, Triângulo do Sul e Triângulo do Norte a trabalhar Informações de Saúde via Sistema de Informações em Saúde Brasileiro, o DATASUS, assim como, a EMATER e/ou IMA junto aos proprietários no controle da fasciolose em animais do rebanho.

Esclarecimentos: sua autorização para a inclusão do (s) seu (s) animal (is) nesse estudo é voluntária. Seus animais poderão ser retirados do estudo, a qualquer momento, sem que isso cause qualquer prejuízo a eles.

Confidencialidade: todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente os pesquisadores/professor(a)(s) terão conhecimento dos dados. Os membros da CEUA ou as autoridades regulatórias poderão solicitar suas informações.

O Médico Veterinário responsável pelo(s) seus animais durante a coleta dos dados será Dr. Walter dos Santos Lima inscrito no CRMV sob o número 1326. Além dele, a equipe da Pesquisadora Principal Cíntia aparecida de Jesus Pereira também se responsabilizará pelo bem-estar dos seus

animais durante toda a coleta de dados. Quando for necessário, durante ou após o período do estudo, você poderá entrar em contato com o Pesquisador Principal ou com a sua equipe pelos contatos:

CINTIA APARECIDA DE JESUS PEREIRA (31) 997110209

WALTER DOS SANTOS LIMA: (31) 3409-2864

RAPHAEL MEIRA BECATTINI: (31) 97443824 CRMV_20106

Declaração de Consentimento: Fui devidamente esclarecido(a) sobre todos os procedimentos deste estudo, seus riscos e benefícios ao(s) animal(is) pelo(s) qual(is) sou responsável. Fui também informado que posso retirar meu(s) animal(is) do estudo a qualquer momento. Ao assinar este Termo de Consentimento, declaro que autorizo a participação do(s) meu(s) animal(is) identificado(s), a seguir, neste projeto. Este documento será assinado em duas vias, sendo que uma via ficará comigo e outra com o pesquisador.

Belo horizonte, _____ de _____ de 202