

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

Sabrina Aparecida Batista Maia de Oliveira

**ASPECTOS ECOLÓGICOS DE HOSPEDEIROS INTERMEDIÁRIOS DE *Fasciola*
hepatica (Linnaeus, 1758) EM MINAS GERAIS**

Belo Horizonte
2023

Sabrina Aparecida Batista Maia de Oliveira

ASPECTOS ECOLÓGICOS DE HOSPEDEIROS INTERMEDIÁRIOS DE *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) EM MINAS GERAIS

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

Área de concentração: Helmintologia.

Orientação: Prof. Dr. Walter dos Santos Lima

Coorientação: Prof. Dra. Cíntia Ap. de Jesus Pereira

Belo Horizonte

2023

043

Oliveira, Sabrina Aparecida Batista Maia de.

Aspectos ecológicos de hospedeiros intermediários de *Fasciola hepática* (Linnaeus, 1758) em Minas Gerais [manuscrito] / Sabrina Aparecida Batista Maia de Oliveira. – 2023.

90 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. Ecologia. 3. Caramujos. 4. *Fasciola hepática*. 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 448/03/2023

TÍTULO: "ASPECTOS ECOLÓGICOS DE HOSPEDEIROS INTERMEDIÁRIOS DE Fasciola hepatica (Linnaeus, 1758) EM MINAS GERAIS"

ALUNA: SABRINA APARECIDA BATISTA MAIA DE OLIVEIRA

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: HELMINTOLOGIA

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia **vinte de março de 2023**, 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, 20 de março de 2023.



Documento assinado eletronicamente por **Walter dos Santos Lima, Professor do Magistério Superior**, em 21/03/2023, às 11:36, 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 21/03/2023, às 11:37, 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 21/03/2023, às 15:32, 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 21/03/2023, às 15:42, 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 **2125257** e o código CRC **9A983F68**.

Projeto desenvolvido no Laboratório de Helminologia Veterinária do Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.

COLABORAÇÃO

Laboratório de Saúde Pública / Água - Faculdade de Farmácia / UFMG

Dra. Micheline Rosa Silveira

Gabriel de Souza Silva

SUPORTE FINANCEIRO

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq

AGRADECIMENTOS

Tenho muito a agradecer pela oportunidade que me foi dada de integrar a equipe do LabHelVet, e pela forma como fui acolhida e recebida por todos. Passei por momentos complicados na minha saúde e se não fosse a colaboração que tive de toda a equipe, esse trabalho não teria sido possível.

Primeiramente gostaria de agradecer a Prof. Cintia por ter me proporcionado a realização do mestrado sob sua orientação. Seus ensinamentos científicos, paciência, compreensão e companheirismo foram imprescindíveis. Agradeço a tudo o que aprendi e a toda ajuda e encorajamento que tive vindos de você. Saiba que tudo o que você fez por mim, principalmente durante os momentos complicados que tive, foram necessários para que eu conseguisse realizar este trabalho. Você Cintia é um exemplo de ser humano, com seu entusiasmo me fez gostar ainda mais da parasitologia.

Agradeço também ao meu orientador Prof. Walter dos Santos Lima, por também ter proporcionado a realização deste trabalho no LabHelVet, por sua experiência nas correções, sua disponibilidade e ensinamentos.

À pós-graduação em Parasitologia (ICB/UFMG) pela oportunidade e a todos os professores do programa que muito contribuíram com minha formação compartilhando seus conhecimentos. Um agradecimento especial à Sumara Aparecida Guilherme que esteve sempre pronta a sanar minhas dúvidas e ajudar.

A todos os meus colegas do LabHelVet que foram importantes na coleta de amostras, no companheirismo e disponibilidade.

Ao Gabriel do Laboratório de Saúde Pública / Água - Faculdade de Farmácia / UFMG pela atenção, paciência e disponibilidade em me ensinar os protocolos das análises das amostras deste trabalho e também por me ajudar sempre quando foi preciso.

Ao meu pai Geraldo, a minha irmã Germannia por todo apoio, incentivos e por acreditarem em mim. Agradeço também ao meu namorado Hugo, por me ajudar sempre que precisei e por me apoiar e incentivar durante o processo. A minha terapeuta Juliana que me acompanha há anos sempre me apoiando e ajudando a me manter em foco. Por fim agradeço a todos amigos em especial à Marcelle e Isabelle que estiveram sempre presentes e de alguma forma contribuíram nesta realização.

*“Quanto mais nos elevamos menores parecemos
aos olhos daqueles que não sabem voar.”*

Friedrich Nietzsche

RESUMO

Fasciola hepatica é um parasito de ductos hepáticos que possui como hospedeiros definitivos ruminantes, equinos e roedores. A doença provocada por esse trematódeo denomina-se fasciolose e é uma zoonose que possui distribuição mundial, tendo moluscos da família Lymnaeidae como hospedeiros intermediários. Sabe-se que na Mesorregião Metropolitana de Belo Horizonte em Minas Gerais, encontra-se limneídeos associados a locais com baixa velocidade de correnteza, como margens de lagoas e córregos, bem como às vegetações. No entanto, informações mais precisas e complementares sobre biologia e ecologia desses hospedeiros intermediários são escassas no estado. O objetivo deste estudo foi identificar parâmetros ecológicos responsáveis pela adaptabilidade e sobrevivência dos limneídeos em Minas Gerais. Coletou-se moluscos, água e vegetações de criadouros naturais de limneídeos em propriedades rurais nos municípios de Carmo do Cajuru (n=1), Itaguara (n=5), Crucilândia (n=5), Rio Manso (n=3), Pedro Leopoldo (n=3), Lagoa Santa (n=1) e Brumadinho (n=2). Analisou-se na água parâmetros físico-químicos (ferro, manganês, cloreto, sulfato, alcalinidade, dureza total, dureza parcial, pH, alcalinidade, cor, turbidez, sólidos totais dissolvidos e nitrato). Observou-se moluscos em 10 lagoas (89%), 8 córregos (10%) e 3 brejos (1%) de 86% dos municípios. As características morfológicas das conchas (n=2069) são compatíveis com *Lymnaea (Pseudosuccinea) columella*, visto que, a relação abertura/comprimento das conchas é de aproximadamente 2/3. Para fins de comparação dos dados em estatística descritiva, foram construídos gráficos e tabelas que incluíram os valores de média e desvio padrão. Não houve correlação positiva entre presença de limneídeos e dados climáticos, no entanto valores de pH entre 5 e 6 são importantes para ocorrência de limneídeos nas propriedades rurais, de acordo com dados obtidos no estudo. Observou-se que períodos secos do ano (outono/inverno) possuem relação direta com a presença e a quantidade de limneídeos, sendo que, nesse intervalo as temperaturas registradas foram de 17 °C até 22 °C. A espécie *Brachiaria decumbens* foi a vegetação predominantemente encontrada nas proximidades dos criadouros naturais de limneídeos. Apesar de 75% das propriedades rurais visitadas apresentarem positividade para a fasciolose confirmada, nenhum molusco da espécie *L. (Pseudosuccinea) columella* foi encontrado naturalmente infectado pelo parasito.

Palavras-chave: *Fasciola hepatica*. limneídeos. criadouros naturais. ecologia.

ABSTRACT

Fasciola hepatica is a parasite of the hepatic ducts that has sheep, buffalo, and cattle herds as well as equines and rodents as definitive hosts. The disease caused by this trematode is called fasciolosis and is a zoonosis that has a worldwide distribution, having molluscs of the family Lymnaeidae as intermediate hosts. In the Metropolitan Mesoregion of Belo Horizonte, it is known that Limneids are associated with sites with low-speed water currents, such as lake and stream margins as well as with the present vegetation. However, more precise and complementary information on the biology and ecology of these intermediate hosts is scarce in the state. The objective of this study was to identify ecological parameters responsible for the adaptability and survival of molluscs of the family Lymnaeidae in Minas Gerais. Snails, water, and vegetation were collected from natural Limneid breeding sites on rural properties in the municipalities of Carmo do Cajuru (n=1), Itaguara (n=5), Crucilândia (n=5), Rio Manso (n=3), Pedro Leopoldo (n=3), Lagoa Santa (n=1), and Brumadinho (n=2). Physicochemical parameters of the water were analyzed (iron, manganese, chloride, sulfate, alkalinity, total hardness, partial hardness, pH, color, turbidity, total dissolved solids, and nitrate). Presence of Limneid were observed in 10 lakes (89%), 8 streams (10%), and 3 swamps (1%) in 86% of the municipalities. The morphological characteristics of the shells (n=2069) are compatible with *Lymnaea (Pseudosuccinea) columella* since the shell aperture/length ratio is approximately 2/3. As a means of data comparison by descriptive statistics, graphs and tables were constructed that included mean and standard deviation values. There was no positive correlation between the presence of Limneids and climatic data; however, pH values between 5 and 6 were shown to be important for the occurrence of these molluscs on rural properties, according to data obtained in the study. It was observed that dry periods of the year (autumn/winter) have a direct relationship with the presence and quantity of snails, and during this interval, the measured temperatures ranged from 17°C to 22°C. The vegetation from the species *Brachiaria decumbens* was predominantly found near the natural Limneid breeding sites. Despite the fact that 75% of the visited rural properties were positive for fasciolosis, no snail of the species *L. (Pseudosuccinea) columella* was found to be naturally infected by the parasite.

Keywords: *Fasciola hepatica*. limneids. natural breeding grounds. ecology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Ciclo de <i>F. hepatica</i> em limneídeo hospedeiro intermediário <i>Lymnaea (Pseudosuccinea) columella</i>	18
Figura 2: Mapa do estado de Minas Gerais indicando os municípios de coleta das amostras .	34
Figura 3: Medidas padrão para conchas de limneídeos.....	40
Figura 4: Gráfico comparativo da quantidade de limneídeos encontrados nas fazendas por período do ano.	43
Figura 5: Gráfico comparativo da quantidade de limneídeos por data, pluviosidade e temperatura.	46
Figura 6: Animal consumindo água e vegetação em brejo (<i>Brachiaria decumbens</i>).....	49
Figura 7: Porcentagem de limneídeos encontrados nos diferentes tipos de ambientes aquáticos caracterizados nas propriedades rurais.	50
Figura 8: 8A, 8B e 8C - Fonte dos criadouros naturais de limneídeos.....	51
Figura 9: Valores médios e desvio padrão das titulações para alcalinidade, dureza total, dureza de cálcio e dureza de magnésio por fonte de água.	55
Figura 10: Valores médios e de desvio padrão de nitrato por fonte de água dos criadouros naturais de limneídeos.	57
Figura 11: 11 A, 11 B e 11 C - Gêneros e espécie de plantas associadas aos criadouros naturais de limneídeos	59
Figura 12: Em destaque, limneídeos encontrados associados ao solo próximo às margens das coleções de água e à vegetação.....	63
Figura 13: Em destaque, limneídeos encontrados associados às fezes de animais que eram criados nas propriedades rurais visitadas	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: VMP para padrão organoléptico e para substância inorgânica.....	29
Tabela 2: Valores mínimos e máximos de parâmetros físico-químicos suportados por espécies de gastrópodes (<i>Biomphalaria</i> sp.).....	30
Tabela 3: Número de moluscos gastrópodes da família Lymnaeidae e presença de gastrópodes da família Thiaridae e gêneros <i>Physa</i> sp., <i>Drepanotrema</i> sp. e <i>Biomphalaria</i> sp. por local visitado	42
Tabela 4: Medida de conchas de limnédeos correspondentes ao local visitado e à fonte de água.....	44
Tabela 5: Dados climáticos das propriedades rurais visitadas	45
Tabela 6: Dados geográficos das propriedades rurais visitadas	47
Tabela 7: Procedência das amostras de água coletadas.....	48
Tabela 8: Resultados dos testes físico-químicos de ferro, manganês, cloreto e sulfato das amostras de água proveniente das propriedades rurais visitadas.....	53
Tabela 9: Resultados das titulações para alcalinidade, dureza total, dureza de cálcio e dureza de magnésio das amostras de água por fonte de água	54
Tabela 10: Resultados dos demais parâmetros físico-químicos analisados nas amostras de água.....	56
Tabela 11: Gêneros e espécie de plantas associadas aos criadouros naturais de limnédeos onde as amostras de água foram coletadas	58
Tabela 12: Tipo de solo, finalidade dos rebanhos de animais e detecção de <i>F. hepatica</i> nos animais onde as amostras de água foram coletadas.....	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético (do inglês <i>Ethylenediamine Tetraacetic Acid</i>)
GPS	Sistema de posicionamento global (do inglês <i>Global Ppositioning System</i>)
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
IMA	Instituto Mineiro de Agropecuária
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
LabHelVet	Laboratório de Helminologia Veterinária
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
OMS	Organização Mundial de Saúde
SIF	Serviço de Inspeção Federal
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VMP	Valores Mínimos Permitidos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Biologia de <i>Fasciola hepatica</i>	17
2.2 Características da epidemiologia e distribuição de <i>Fasciola hepatica</i>	19
2.3 Ocorrência de <i>Fasciola hepatica</i> em Minas Gerais	21
2.4 Moluscos da família Lymnaeidae como hospedeiros de <i>Fasciola hepatica</i> e sua distribuição geográfica	23
2.5 Características ecológicas de criadouros naturais de limneídeos	25
2.6 Importância da definição de parâmetros físico-químicos da água de criadouros naturais de limneídeos	28
3 JUSTIFICATIVA	31
4 OBJETIVOS	32
4.1 Objetivo Geral	32
4.2 Objetivos específicos	32
5 METODOLOGIA	33
5.1 Área de estudo e metodologia de coleta	33
5.2 Variáveis de estudo	33
5.2.1 Variável dependente	34
5.2.2 Variáveis independentes	34
5.3 Análise de parâmetros físico-químicos da água dos criadouros naturais de limneídeos	35
5.3.1 Teste físico-químico de ferro, manganês, cloreto e sulfato	35
5.3.2 Titulações	35
5.3.3 Análise de cor	37
5.3.4 Análise de turbidez	37
5.3.5 Análise de pH	37
5.3.6 Análise de sólidos totais dissolvidos	37
5.3.7 Análise de nitrato	38
5.4 Coleta e identificação de plantas provenientes de criadouros naturais de limneídeos	38
5.5 Coleta de moluscos	38
5.6 Coleta de dados geográficos e meteorológicos	39
5.7 Análise estatística	40
6 RESULTADOS	42

7 DISCUSSÃO	65
7.1 Aspectos gerais	65
7.2 Associação do hospedeiro intermediário de <i>Fasciola hepatica</i> aos parâmetros físico-químicos da água e condições ambientais	65
7.3 Associação de <i>Fasciola hepatica</i> aos seus hospedeiros intermediários e aos seus hospedeiros definitivos	71
7.4 Associação de <i>Fasciola hepatica</i> e de seus hospedeiros intermediários à vegetação	72
8 CONCLUSÕES	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
ANEXO A - Questionário	86
ANEXO B – Teste físico-químico da água (kit Merck)	88

1 INTRODUÇÃO

Fasciola hepatica (Linnaeus, 1758) é um trematódeo digenético que possui como hospedeiros intermediários moluscos limneídeos. Esses moluscos e os estágios de vida livre do parasito (miracídeos e cercárias), são dependentes de coleções de água doce. O parasito adulto está presente nos ductos hepáticos e biliares de seus hospedeiros definitivos, sendo esses, variadas espécies de mamíferos domésticos e silvestres, além de seres humanos (LIMA, et al., 2009).

A dinâmica de infecções parasitárias como *F. hepatica* possui no seu ciclo biológico muitas características que podem potencializar sua dispersão e/ou transmissão. Uma das variáveis que o parasito possui é a capacidade de infectar diferentes espécies de mamíferos, além disso, os hospedeiros intermediários possuem adaptações que permitem a sua sobrevivência no ambiente com variações nos níveis de água dos mananciais. A importância da água no ciclo de *F. hepatica* vai desde a necessidade de umidade para a sobrevivência dos ovos no ambiente, a presença de cursos d'água para a movimentação de miracídeos e cercárias, até a necessidade da água que as metacercárias requerem, para que não ocorra dessecação até a ingestão pelo hospedeiro definitivo (KENDALL, 1970). Assim como a água, a vegetação em sua proximidade também desempenha um papel importante no ciclo de *F. hepatica*, principalmente na fase de metacercária.

Presume-se que *F. hepatica* seja de origem europeia, e possui distribuição mundial onde há rebanhos de ovinos e bovinos, além de também infectar roedores, equinos e outros animais, incluindo o ser humano (NIKNAM, et al., 2015; DRACZ, et al., 2016; FERREIRA, et al. 2021; CORREA, et al., 2010, SIERRA, et al., 2020). Esses animais são classificados como hospedeiros definitivos do parasito e o ser humano se configura como um hospedeiro acidental. *Fasciola hepatica* possui importância na medicina veterinária e humana, uma vez que é classificado como uma zoonose (DRACZ, et al., 2016). O parasito é endêmico em regiões da América do Sul, norte da África, Ásia e na Europa. As áreas endêmicas estão localizadas em regiões tropicais e subtropicais, com condições climáticas e de temperatura adequadas principalmente ao hospedeiro intermediário (RIBEIRO, et al., 2017). No Brasil, *F. hepatica* já foi notificada em todas as regiões do país e possui maiores focos na região sul, seguidas pelas regiões sudeste e centro-oeste (DRACZ, et al., 2016).

Na medicina veterinária a fasciolose é responsável por causar danos às criações de ruminantes, como diminuição na produção de carne, leite e lã, redução do crescimento e da fertilidade e

morte dos animais (DRACZ, et al., 2016). Além disso, acarreta aos criadores grandes perdas econômicas, devido a condenação de fígados no abate e altos gastos com o tratamento da fasciolose e de infecções secundárias decorrentes do parasito (MENDES, et al., 2021). Em relação à medicina humana, a fasciolose é caracterizada como uma doença parasitária emergente em todo o mundo (MOAZENI e AHMADI, 2016). O aumento da prevalência pode estar associado as mudanças climáticas e a resistência do parasito aos medicamentos usados para o tratamento da parasitose (JOHN, et al. 2020). A epidemiologia de *F. hepatica* se mostra diretamente ligada ao hospedeiro intermediário e seu habitat, bem como as condições climáticas locais (COELHO e LIMA, 2003). Limneídeos podem ser encontrados em associação a plantas presentes nos arredores de corpos d'água e a plantas aquáticas, sendo que, foi observado que essas associações contribuem para o desenvolvimento dos moluscos (COELHO e LIMA, 2003).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) tem classificado a parasitose na lista principal de doenças tropicais negligenciadas, e a fasciolose humana como uma zoonose emergente e reemergente. Zoonose emergente é caracterizada como uma enfermidade exótica que surge em uma localidade, já uma zoonose reemergente se mostra como uma enfermidade que reaparece após sofrer declínio ou que possui possibilidade de aumento de casos futuros (BRASIL, 2016). É estimado que essa parasitose seja emergente em 51 países, com 2,4 milhões de pessoas infectadas e 180 milhões de seres humanos correm o risco de contraírem *F. hepatica*, principalmente na América do Sul e na África (CARMONA e TORT, 2017).

No Brasil, existe uma necessidade da realização de estudos mais aprofundados que busquem informações mais precisas e complementares sobre limneídeos hospedeiros intermediários da fasciolose. Diante disso, observa-se uma importância do conhecimento acerca de fatores ecológicos que envolvem esses moluscos. Em Minas Gerais estudos sobre a biologia e a ecologia de limneídeos envolvendo *F. hepatica* são escassos, o que mostra a relevância da abordagem desse tema no presente estudo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Biologia de *Fasciola hepatica*

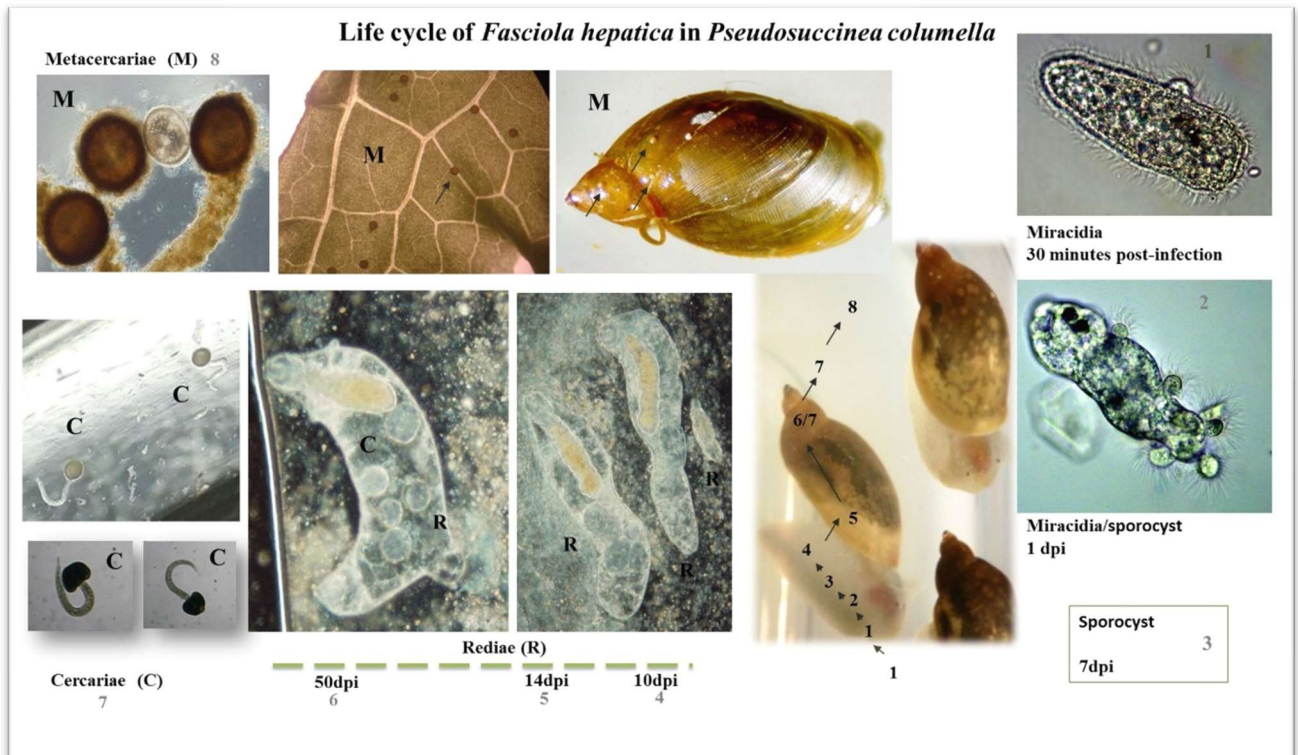
O ciclo biológico de *F. hepatica* é indireto e necessita de dois hospedeiros, um intermediário molusco limneídeo de água doce e um definitivo mamífero (ROSS e McKAY, 1929). Os hospedeiros limneídeos possuem comportamentos anfíbios, o que garante a continuidade da infecção nos mamíferos. Já o sucesso da infecção do parasito em hospedeiros mamíferos é destacado pelos hábitos de pastoreio destes animais e da suscetibilidade frente à parasitose (KENDALL, 1970).

Os ovos operculados são eliminados junto as fezes de seus hospedeiros definitivos, que são principalmente bovinos e ovinos, e o processo de embrionagem dos ovos ocorre quando eles estão livre das fezes e em adequadas condições de umidade, temperatura e oxigenação, em um período de 2-3 semanas (ROWCLIFFE e OLLERENSHAW, 1960; CALVANI e SLAPETA, 2021; FERREIRA, 2019; MOAZENI e AHMADI, 2016). A temperatura ideal para a embrionação dos ovos seria de 25°C. Primeiramente os ovos apresentam o desenvolvimento de uma mórula incipiente seguida de uma mórula avançada, que originam um miracídio (PEREIRA, et al., 2016). Eles eclodem próximo a locais que apresentam coleções de água doce e a eclosão ocorre com auxílio de enzimas proteolíticas pela glândula apical (DAWES, 1960; FERREIRA, 2019; RIBEIRO, et al., 2017). Miracídios são formas móveis e de vida curta devendo dentro de 24 horas, seu tempo de vida, infectar um hospedeiro intermediário, moluscos da família Lymnaeidae (ROSS e McKAY, 1929; RIBEIRO, et al., 2017). A infecção ocorre por penetração dos miracídios no pé, manto ou tentáculos do molusco, com a utilização de enzimas citolíticas (RIBEIRO, et al., 2017). Após a penetração (Figura 1), os miracídios que ultrapassam o sistema de defesa dos limneídeos se transformam em esporocistos, que possuem células germinativas das quais dão origem as rédias através de expansão clonal e delas podem originar cercárias, que emergem do corpo do limneídeo (CALVANI e SLAPETA, 2021; FERREIRA, 2019; MOAZENI e AHMADI, 2016; RIBEIRO, et al., 2017). As rédias possuem ventosa oral, faringe, intestino primitivo e poro de nascimento, essa última sendo uma característica de rédias maduras, além de não possuírem órgãos reprodutivos (ROSS e McKAY, 1929; FERREIRA, 2019). As cercárias emergem do poro de nascimento e saem do corpo do molusco, se movimentam na água com sua cauda não bifurcada até atingir um substrato como a vegetação próxima ou mesmo no fundo de coleções de água onde se encistam na forma de metacercárias,

que são as formas infectantes para os hospedeiros definitivos. O processo de penetração dos miracídeos até a liberação de cercárias dura de 30 a 60 dias, em temperatura entre 10° a 26°C no ambiente (ROSS e McKAY, 1929; FERREIRA, 2019; JOHN, et al., 2019).

As formas encistadas na vegetação são denominadas metacercárias, sendo que nesse estágio o parasito perde a cauda e apresenta um cisto de duas camadas, conferindo proteção contra as mudanças sazonais que ocorrem no meio ambiente (FERREIRA, 2019; JOHN, et al. 2020). As metacercárias se constituem na principal fonte de infecção para os hospedeiros definitivos, e sua sobrevivência está associada a temperaturas amenas e umidade elevadas, sendo que se tornam infectantes entre 24 a 72 horas após o processo de encistamento (TARCZYŃSKI e PODKÓWKA, 1964; JOHN, et al. 2020; MAS-COMA, et al., 2018). Apesar dessas observações, há relatos da sobrevivência de metacercárias sob congelamento e no interior do feno seco por aproximadamente 50 dias, o que mostra que esse estágio do ciclo de *F. hepatica* é o mais resistente (TARCZYŃSKI e PODKÓWKA, 1964; JOHN, et al. 2020; CALVANI e SLAPETA, 2021).

Figura 1: Ciclo de *F. hepatica* em limnéideo hospedeiro intermediário *Lymnaea (Pseudosuccinea) columella*. (1) miracídio 30 min após infectar o hospedeiro intermediário; (2) miracídeos/esporocisto 1 dia após a infecção; (3) esporocisto 7 dias após a infecção; (4, 5, 6) rédias (R) 10, 14 e 50 dias após a infecção; (7) cercárias (C) 50 dias após a infecção; (8) metacercárias (M) 50 dias após a infecção (RIBEIRO et al., 2017).



O hospedeiro definitivo ingere a metacercária que sofre um processo de excistamento, que pode ser ativo ou passivo, onde no passivo enzimas do hospedeiro definitivo digerem a parede do cisto liberando a metacercária, e no ativo a própria metacercária responde aos estímulos recebidos no intestino de seu hospedeiro, culminando no rompimento da parede do cisto (DIXON, 1966). A excisão ocorre em cerca de 1 hora após a ingestão das metacercárias e as formas juvenis atravessam a parede intestinal caindo na cavidade abdominal, de onde migram para o fígado atravessando a cápsula hepática, em 4 a 6 dias após a ingestão (DAWES e HUGUES, 1964; CWIKLINSKI, et al., 2018; ROJAS, et al., 2014; CALVANI e SLAPETA, 2021). A migração dos juvenis pelo parênquima hepático, durante 5-6 semanas, até chegarem aos canais biliares, onde atingem a maturidade sexual e se tornam adultos, em 8-12 semanas após a infecção (CWIKLINSKI, et al., 2018; ROJAS, et al., 2014; CALVANI e SLAPETA, 2021).

No fígado os parasitos se alimentam de tecido hepático e sangue o que faz com que cresçam rapidamente junto ao desenvolvimento de suas estruturas digestivas e reprodutivas (DAWES e HUGUES, 1964; LLOYD, 1986; CWIKLINSKI, et al. 2021). Após se reproduzirem, os ovos operculados do parasito vão para o sistema digestivo por meio dos ductos biliares, e saem para o ambiente juntamente com as fezes do hospedeiro definitivo (DAWES e HUGUES, 1964; CALVANI e SLAPETA, 2021; FERREIRA, 2019).

2.2 Características da epidemiologia e distribuição de *Fasciola hepatica*

Dentre os parasitos digenéticos que possuem como hospedeiro intermediário moluscos, *F. hepatica* apresenta importância diferenciada devido ao impacto causado na saúde veterinária, humana e na economia, bem como pela sua distribuição mundial (ALBA, et al., 2019). A epidemiologia da parasitose depende de alguns fatores que englobam a ecologia dos hospedeiros intermediários, o local onde são encontrados, as condições do ambiente aquático e as características climáticas (LIMA, et al. 2009).

Na medicina veterinária, além de fatores que envolvem os hospedeiros intermediários e definitivos, a epidemiologia de *F. hepatica* pode estar envolvida em características presentes na ocorrência de mudanças climáticas, globais e antropomórficas (LIMA, et al. 2009, SIERRA, et al., 2020). *Fasciola hepatica* possui distribuição mundial sendo que os hospedeiros intermediários geralmente estão localizados em áreas rurais e, por apresentarem um comportamento anfíbio, são facilmente prejudicados pelas mudanças no ambiente (SIERRA, et al., 2020). No que diz respeito a infecção humana, *Lymnaea (Galba) truncatula* é o hospedeiro

intermediário mais envolvido na maioria das áreas endêmicas no continente europeu e nos países andinos. Em outras localidades onde essa espécie de limneídeo não está presente, o ciclo em humanos é mantido por outras espécies do grupo *Galba* (SIERRA, et al., 2020).

Em seu ciclo o parasito e os hospedeiros intermediários possuem sensibilidade às mudanças que ocorrem nos locais onde está presente e dentre as suas características comportamentais que corroboram essa afirmação está o seu caráter zoonótico e a capacidade que *F. hepatica* tem de infectar uma grande quantidade de espécies de hospedeiro intermediários e definitivos. No que diz respeito as mudanças globais que propiciam a disseminação do parasito se incluem as modificações antrópicas, como por exemplo a utilização de sistemas de irrigação, transporte local de animais e a importação/exportação de bovinos (ESTEBAN et al, 2002; AFSHAN AET AL., 2014; SIERRA, et al., 2020).

Quanto ao hospedeiro definitivo, no continente americano os bovinos e ovinos são os principais, seguidos dos suínos, já na África e Asia temos as cabras e búfalos, além de alguns mamíferos herbívoros a nível local (SIERRA, et al., 2020). Os equinos também têm importância como hospedeiros definitivos, devido a sua proximidade com os outros animais (ALVES et al., 1988; SIERRA, et al., 2020; HOWELL et al., 2020). Fatores no manejo das pastagens podem aumentar as chances de hospedeiros definitivos entrarem em contato com as metacercárias, dentre eles a presença de hospedeiros intermediários, a duração das pastagens por período do ano, a quantidade de vegetação ingerida e o modo de abastecimento de água. Esses fatores mencionados podem variar de acordo com o ambiente de cada local e o sistema agrícola utilizado (HOWELL, et al., 2015).

No Reino Unido a prevalência de *F. hepatica* é em torno de 46% a 76%, sendo que o aumento dos valores pode ser devido aos verões estarem mais úmidos e invernos mais quentes (HOWELL, et al., 2015). Em outros países da Europa Ocidental, temos prevalências em torno de 37% na Bélgica, 50% na Alemanha e 61% na Espanha (HOWELL, et al., 2015). Na África, *F. hepatica* é mais comum em regiões temperadas e de maiores altitudes da Etiópia, Tanzânia e Uganda (NYAGURA, et al, 2022).

Nos Estados Unidos, *F. hepatica* é enzoótico em locais como na zona costeira do Golfo e nos estados ocidentais que são locais caracterizados por alta pluviosidade e pastagens mal drenadas, se tornando um ambiente propício para o desenvolvimento de limneídeos (KAPLAN, 2001). Na costa de Louisiana um estudo com o hospedeiro intermediário *Fossaria bulimoides*, mostrou

que no local a transmissibilidade é sazonal devido a intolerância do limneídeo às condições climáticas do verão (ZUKOWSKY, et al., 1991).

Na América do Sul a parasitose ocorre em países que possuem criações de bovinos e ovinos (CARMONA e TORT, 2017). No continente americano a fasciolose em ruminantes foi identificada nos Estados Unidos, México, Cuba, Jamaica, Peru, Uruguai, Chile, Argentina e Brasil (MEHMOOD, et al., 2017). No Brasil, *F. hepatica* possui uma ampla distribuição e pode ser encontrada em todas as regiões do país, com maior prevalência nas regiões sul e sudeste, nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, seguido de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais (ALBUQUERQUE et al., 2022). No período de 2012 a 2015, a perda média anual de fígados afetados pela fasciolose nos estabelecimentos cadastrados no Serviço de Inspeção Federal (SIF), foi de mais de US\$ 1 milhão (BIDONE et al. 2021). Aleixo et al. (2015) mostraram em sua revisão que, segundo dados do SIF do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), entre os anos de 2003 a 2008 o Rio Grande do Sul e Santa Catarina tiveram prevalência de infecções pelo parasito entre 18,6 e 10,1% e entre os anos de 2006 a 2009 o Espírito Santo teve prevalência de 24,9%. Durante o período de 2012 a 2015, o serviço de inspeção estadual do Rio Grande do Sul constatou que a perda média anual por fasciolose foi de US\$ 1,4 milhões, já em 2017 e 2018 as perdas foram de US\$ 1,6 e US\$ 1,9 milhões respectivamente (BIDONE et al. 2021). Entre 2018 a 2021 a prevalência de fasciolose bovina no Espírito Santo, de acordo com dados de inspeção, foi de 10,4%, enquanto no Rio de Janeiro foi de 3,6% (TEIXEIRA et al., 2023). Em Goiás, houve uma prevalência de 0,0026%, no Mato Grosso a prevalência foi de 0,003% e Mato Grosso do Sul foi de 1,002 (AQUINO et al., 2018). Vale ressaltar que os trabalhos das décadas de 2003 até 2023 do Brasil, correspondente a 20 anos, são referentes a dados de fígados condenados no SIF, ou seja, não refletem o verdadeiro cenário da fasciolose no país. Isso acontece pois não se observam, por exemplo, fatores importantes na dispersão da helmintose como a região/propriedade/localidade de origem do animal.

2.3 Ocorrência de *Fasciola hepatica* em Minas Gerais

No Brasil, um dos fatores que permite a dispersão de *F. hepatica* acontece devido ao comércio e transferência de animais parasitados de regiões onde o parasito é enzoótico para regiões onde há condições favoráveis para a fasciolose se desenvolver (DRACZ e LIMA, 2014). Lima et al. (2009) comprovaram que a região Sul-Sudoeste de Minas Gerais, mais especificamente os municípios de Itajubá, Cachoeira de Minas e São Gonçalo do Sapucaí, apresentam condições ecológicas e epidemiológicas para o desenvolvimento da fasciolose. Dentre essas condições

que interferem na epidemiologia do parasito está o habitat dos hospedeiros intermediários, presença de água e vegetação nos locais, condições climáticas favoráveis e presença e manejo de hospedeiros definitivos (COELHO e LIMA, 2003; LIMA et al., 2009). Já Bennema et al. (2014) coletaram dados de inspeção hepática de locais registrados no SIF/MAPA. Com esses dados os autores mostraram que na região Sul de Minas Gerais, mais especificamente nas localidades Sul-Sudoeste, Zona da Mata, Campo das Vertentes e Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba, apresentam bovinos parasitados por *F. hepatica*. Os dados utilizados por esses autores não incluíram Itajubá, Careacú e Viçosa, localidades comumente conhecidas por serem enzoóticas para o parasito.

Dracz e Lima (2014) mostraram em seu estudo o primeiro relato de infecção natural por *F. hepatica* em búfalos localizados em regiões do estado de Minas Gerais, que comumente não apresentavam casos. As localidades estudadas foram Pedro Leopoldo e São José da Lapa, ambas na região metropolitana de Belo Horizonte. No local, os pesquisadores coletaram fezes de bovinos e bubalinos e ambas apresentaram amostras positivas para *F. hepatica*.

Estudos mais recentes mostram que no estado há focos isolados na região metropolitana de Belo Horizonte, indicando assim uma possível nova área onde a parasitose é disseminada e transmitida (DRACZ, et al., 2016). Ainda a respeito de Minas Gerais, houve casos observados em rebanhos de búfalos em Pedro Leopoldo e São José da Lapa, bovinos em Itajubá e Careacú e em capivaras localizadas em Belo Horizonte (LIMA et al. 2009; DRACZ e LIMA, 2014; DRACZ et al., 2016 FERREIRA, et al., 2021). A proximidade e a variabilidade de hospedeiros definitivos e a presença de hospedeiros intermediários possibilita o aumento de casos humanos de fasciolose nas localidades. Devido a essas observações, se torna necessário um melhor entendimento sobre as relações entre o parasito e seus hospedeiros definitivos e intermediários, uma vez que a incidência da zoonose se mostra elevada em várias localidades pelo mundo.

Durante o período de 2002 a 2011, a ocorrência de *F. hepatica* em Minas Gerais foi de 0,10%, dados provenientes de inspeção hepática em bovinos que foram abatidos em locais cadastrados no SIF/MAPA. Esses dados foram coletados de um total de 25 municípios e todos eles se encontravam na região sul de Minas Gerais (BENNEMA, et al., 2014). O monitoramento da parasitose em bovinos é importante, mas há uma necessidade da centralização dos dados, o que não ocorre em território nacional. Já Lima et al. (2009), comprovam a positividade para *F. hepatica* de 70% dos animais alvo de seus estudos no município de Itajubá em Minas Gerais.

Além do que foi citado, a presença de limneídeos em Minas Gerais tem importância por contribuir por manter o ciclo de *F. hepatica* no ambiente (MEDEIROS, et al., 2014). Como exemplo pode ser citado o que ocorreu no município de Itajubá, próximo ao rio Sapucaí, em São José da Lapa e em Pedro Leopoldo, onde foram encontrados limneídeos naturalmente infectados com o parasito (LIMA, et al., 2009; DRACZ e LIMA, 2014).

2.4 Moluscos da família Lymnaeidae como hospedeiros de *Fasciola hepatica* e sua distribuição geográfica

Os moluscos de importância para este trabalho são classificados como pertencentes ao filo Mollusca, classe Gastropoda, subclasse Heterobranchia, superordem Hygrophila e família Lymnaeidae (AMORIM, et al., 2019). Trabalhos mais recentes propõem que a família possui quase 100 espécies, e um número de gêneros e subgêneros limitado (PEREIRA, et al. 2020). No mundo cerca de 30 espécies de limneídeos foram identificadas como hospedeiros intermediários de *Fasciola* spp. (ALBA, et al., 2019). Limneídeos são moluscos pulmonados de água doce, hermafroditas, concha morfologicamente cônica e dextrogira e possui importância no contexto parasitológico médico e veterinário (MATOS, et al., 2018). Geralmente os moluscos pulmonados de ambientes dulcícolas são bentônicos e vivem em locais mais rasos de lagos, pântanos, lagoas, córregos e valas (RONDELAUD, et al., 2011).

Limneídeos são conhecidos por habitar locais litorâneos baixos, onde há pouca ou nenhuma corrente de água e em sua maioria possuem hábito alimentar herbívoro (AMORIM, et al., 2019). Apesar desse fato, já foram descritos que esses moluscos podem ser onívoros ou herbívoros indiscriminados, ou seja, sua dieta pode ser adaptada ao que estiver disponível no local, como por exemplo algas, bactérias, hifas, perifíton e até alguns animais invertebrados mortos (AMORIM, et al., 2019). Além disso, os limneídeos são fonte de alimento para diversas espécies de animais, como aves, peixes, mamíferos, lagostins e anfíbios (AMORIM, et al., 2019). Diante dessas informações, esses moluscos possuem um papel relevante no bom funcionamento de variados ecossistemas aquáticos (AMORIM, et al., 2019). Além disso, exemplares específicos da família Lymnaeidae possuem importância no campo da Parasitologia, podendo agir como hospedeiros intermediários de *F. hepatica*, contribuindo para o desenvolvimento do ciclo de vida do parasito. Para que o parasito se desenvolva nesses moluscos, ocorre uma dependência de fatores geoclimáticos, ecológicos e antropológicos, como precipitações, tipo de solo e vegetação, umidade, parâmetros físico-químicos da água de criadouros naturais de limneídeos, altitude e período do ano (BEESLEY, et al., 2018).

Trabalhos recentes mostram que algumas espécies de limneídeos possuem melhor capacidade de desenvolver *F. hepatica* até sua forma de metacercária (VIGNOLES, et al., 2016). Duas espécies, *Lymnaea (Galba) truncatula* e *L. (Pseudosuccinea) columella*, são conhecidas na Europa Ocidental como hospedeiros intermediários do parasito, sendo a última uma espécie exótica, que podem se infectar em qualquer fase de suas vidas (VIGNOLES, et al., 2016; NGCAMPHALALA et al., 2021). *Lymnaea (Galba) truncatula* tem como habitats preferidos locais com água rasa, valas, riachos com pouca correnteza, pântanos e juncos (KNUBBENSCHWEISER e TORGERSON, 2015). Outras espécies de limneídeos, na mesma localidade, são conhecidos como hospedeiros intermediários de menor importância, como *Lymnaea fuscus*, *Lymnaea glabra*, *Lymnaea palustris*, *Lymnaea stagnalis*, *Myxas glutinosa*, *Radix auricularia*, *Radix balthica* e *Radix labiata*, que podem desenvolver estágios de *F. hepatica* se em seus primeiros dias de vida esses moluscos entrarem em contato com miracídios do parasito (VIGNOLES, et al., 2016). Além dessas espécies citadas, *Omphiscola glabra*, *Succinea* ssp. e *Potamopyrgus antipodarum* também são considerados como potenciais hospedeiros na Europa (BEESLEY, et al., 2018). Na África, algumas espécies identificadas foram *Radix natalensis*, *L. (Galba) truncatula*, *L. (Pseudosuccinea) columella*, *R. auricularia* e *Radix rubiginosa* (NYAGURA, et al., 2022). Em Cuba, há duas principais espécies hospedeiras de *F. hepatica*, *L. (Galba) cubensis* e *L. (Pseudosuccinea) columella*, sendo a primeira considerada a mais relevante (ALBA, et al., 2019). *Lymnaea (Pseudosuccinea) columella* é considerada uma espécie exótica na América do Sul e possui distribuição mundial, sendo um dos moluscos pulmonados mais encontrados (PEREIRA, et al. 2020).

Na América do Sul há a ocorrência de algumas espécies de limneídeos que possuem importância significativa. *Lymnaea (Pseudosuccinea) columella* é encontrado no Brasil, Argentina, Peru, Venezuela, Uruguai, Paraguai, Colômbia e Equador (PEREIRA, et al. 2020). *Lymnaea shirazensis* ocorre na Venezuela, Colômbia, Equador e Peru, sendo uma espécie caracterizada como grande potencial de invasora; e a espécie *L. (Galba) truncatula* é encontrada na Venezuela, Chile, Argentina, Peru e Bolívia (PEREIRA, et al. 2020). No Brasil, em Minas Gerais, as espécies que podem atuar como hospedeiros intermediários de *F. hepatica* incluem *L. (Pseudosuccinea) columella*, *Lymnaea viator*, *Lymnaea (Galba) cubensis*, *L. (Galba) truncatula* e *Lymnaea (Galba) viatrix* (FERREIRA, et al., 2021; MATOS, et al., 2018). As espécies que foram encontradas naturalmente infectadas com o parasito foram *L. (Pseudosuccinea) columella* e *L. (Galba) cubensis* (COELHO e LIMA, 2003; LIMA et al., 2009; DRACZ e LIMA, 2014, DRACZ et al. 2016)

Os trabalhos de Wladimir Lobato Paraense e Marlene Tiduko Ueta, que descreveram espécies de moluscos, inclusive limneídeos importantes no ciclo de *F. hepatica*. Dentre as espécies descritas pelos autores, a que possui maior importância no ciclo do parasito é *L. (Pseudosuccinea) columella* (PARAENSE, 1883; PARAENSE, 1986; UETA, 1980; UETA, 1980; UETA, 1977). Essa é considerada uma das principais espécies de limneídeos que são hospedeiros intermediários de *F. hepatica*, tendo ampla distribuição mundial (ALBA, et al., 2019). Ngcamphalala et al. (2021) realizaram uma revisão onde foram reunidos os trabalhos sobre a ocorrência de *L. (Pseudosuccinea) columella* no período de 1990 a 2020, separados por continentes. Segundo esses dados, na África essa espécie de limneídeo é encontrada nas ilhas Maiote, Camarões, Zimbábue, Namíbia, Egito, Madagascar e África do Sul; na Oceania é encontrada na Austrália e Polinésia Francesa; na Europa é encontrada na França, Romênia e Itália, na América do Norte e Caribe a espécie é encontrada em Cuba, Guadalupe, Hawaii e nos Estados Unidos; e finalmente na América do Sul é encontrada no Brasil, Argentina, Uruguai, Colômbia e Venezuela, Peru e Paraguai (NGCAMPHALALA et al., 2021). No Brasil *L. (Pseudosuccinea) columella* é encontrada predominantemente nas regiões Sul e Sudeste, além de também já ter sido encontrada nas regiões Norte e Nordeste (UETA, 1980; PARAENSE, 1983 PARAENSE, 1986; COELHO et al. 2008; COELHO et al, 2009).

Há espécies de limneídeos em que foram observadas a capacidade de infecção por *F. hepatica* somente enquanto são juvenis e há hipóteses que defendem que isso acontece devido a imaturidade do sistema imunológico do molusco (BORAY, 1978; BEESLEY, et al., 2018). As diferenças de susceptibilidade a infecção que ocorrem dentro da mesma espécie podem ser explicadas também por diferenças na resposta imune (BEESLEY, et al., 2018).

2.5 Características ecológicas de criadouros naturais de limneídeos

Para que ocorra uma melhor prevenção e entendimento da fasciolose deve ser levado em consideração o controle de hospedeiros intermediários. De maneira geral muitos dos gastrópodes que vivem submersos estão associados à vegetação aquática, rochas ou qualquer outra superfície sólida ou mole (SALMAN e NASSAR, 2014). Na literatura podem-se encontrar trabalhos que citam a importância da acidez do solo para a sobrevivência de algumas espécies de limneídeos, dentre eles o de Varelle-Morel et al. (1999), mas estudos sobre a análise do mesmo parâmetro na água são escassos. Como esses moluscos possuem um comportamento anfíbio, há uma importância em analisar também a água dos criadouros naturais onde eles se estabelecem.

Os habitats naturais de água doce possuem uma considerável variação de suas condições físicas, químicas e tróficas, além de serem transitórios no decorrer do tempo e possuírem um certo grau de isolamento (RONDELAUD, et al., 2011). Para que a qualidade da água de um habitat seja determinada, deve ser feita uma avaliação utilizando parâmetros físicos, químicos e biológicos, com o objetivo de reunir o maior número de informações sobre o ambiente analisado (ZEYBEK, et al., 2012). Moluscos são importantes nesses ambientes pois funcionam como monitoramento biológico, podendo mostrar uma reação muito forte às mudanças ambientais, e a sua distribuição depende de características da água como o pH, cálcio, oxigênio dissolvidos, turbidez, temperatura, dureza, dentre outros (ZEYBEK, et al., 2012; SARKER, et al., 2007). Alguns estudos relatam que a toxicidade da maioria das substâncias que podem estar presentes na água é influenciada pelo oxigênio dissolvido, dureza e pH da água (SAHIN e ZEYBEK, 2016). Diante dessas informações, as populações de gastrópodes de água doce passam por diversas flutuações ambientais e sua sobrevivência depende da capacidade de reagir e tolerar essas mudanças (SALMAN e NASSAR, 2014). Em geral, moluscos necessitam do cálcio na composição de suas conchas, mas há estudos que mostram que sua ausência também pode afetar a reprodução desses animais (HORSÁK, et al. 2007).

Os moluscos pulmonados de água doce são geralmente distribuídos nas partes mais rasas de lagoas, lagos, pântanos, rios, córregos e valas, possuindo um comportamento bentônico (RONDELAUD, et al., 2011). Cada espécie consegue prosperar e se estabelecer dentro de determinadas condições ambientais, reforçando a ideia de nicho ecológico (RONDELAUD, et al., 2011). Espécies de moluscos límnicos podem ser encontradas em ambientes aquáticos, onde há substrato ou vegetação próximos e sua ocorrência está ligada às características físico-químicas da água, como por exemplo a dureza total ou parcial, e ligada também à presença de recursos alimentares, como a matéria orgânica em decomposição (MARÇAL e CALLIL, 2017). Segundo Rondelaud et al. (2011) a distribuição da espécie *Lymnaea (Galba) truncatula* nos ambientes aquáticos é favorecida em locais onde há muito cálcio dissolvido na água e onde o valor do pH seja maior que 5, em locais que apresentam solo ácido, mas esses valores não foram dosados pelos autores, foram somente inferidos. O estudo feito por Sarker et al. (2007) mostra que a temperatura da água, dureza de cálcio e pH influenciaram reduzindo o período de incubação dos embriões de *Lymnaea acuminata*, os valores não foram dosados, somente inferidos. Os mesmos autores também inferiram que a dureza total, dureza do magnésio e oxigênio dissolvido aumentaram o período de incubação dos embriões da mesma espécie.

No que diz respeito à temperatura, é importante destacar qual a sua interferência nas populações de limnédeos. Em *L. (Galba) truncatula* (Europa) foi mostrado que eles conseguem se desenvolver melhor em temperaturas que variam de 10 a 25°C juntamente com alta umidade relativa, o que depende das precipitações locais (DREYFUSS, et al., 2018). Isso sugere que essa espécie é mais comum em locais com clima temperado (DREYFUSS, et al., 2018). Kock et al. (2003) mostram que a temperatura do ambiente afeta a distribuição geográfica de *L. (Galba) truncatula* na Europa, uma vez que há uma elevação na taxa de reprodução nas estações frias, para que haja população suficiente nos meses mais quentes. Os mesmos autores também mostram que o tipo de ambiente pode influenciar na distribuição geográfica dessa espécie, que no caso são mais encontradas em locais pantanosos.

Por fim, a vegetação próxima aos criadouros naturais possui um papel importante nas populações de limnédeos e no ciclo de *F. hepatica*, uma vez que as metacercárias se encistam nessa vegetação. Algumas espécies de plantas também podem funcionar como indicadores da presença de limnédeos. Rondelaud et al. (2011) citam o exemplo do que acontece com *L. (Galba) truncatula* na Bélgica, em que a presença das plantas *Glyceria fluitans* e/ou *Alopecurus geniculatus* indica que há condições favoráveis para o estabelecimento dessa espécie de caramujo. Além desse exemplo, temos que *Lymnaea* spp. em associação com as plantas *Brachiaria* spp., *Juncus* spp., *Heteranthera* spp., *Typha* spp. e *Salvinia* spp. devem ser levado em consideração, pois se houver a presença de metacercárias e essas plantas forem ingeridas pelos animais o ciclo de *F. hepatica* pode ser fechado (RIBEIRO, 2016). No geral, o tipo de vegetação que predomina os criadouros naturais de moluscos, como por exemplo os do gênero *Biomphalaria*, consiste em plantas herbáceas que são encontradas em locais alagados ou úmidos. Esse tipo de vegetação propicia uma otimização das condições climáticas fornecendo proteção solar contra altas temperaturas e proteção contra correntezas. O solo às margens dos criadouros aquáticos geralmente é argiloso e rico em matéria orgânica que podem servir de alimento aos moluscos (BRASIL, 2008).

Mas-Coma et al., (2018) inferiu que a maioria dos locais endêmicos da fasciolose humana possui transmissão que segue padrões de sazonalidade envolvendo os hospedeiros intermediários. Os mesmos autores também disseram, sem maiores observações a respeito, que cada espécie de limnédeo possui características ecológicas diferentes como o tipo de habitat, limiar de temperatura de acordo com cada região, dinâmica populacional e susceptibilidade do hospedeiro definitivo. Em suma, uma zona endêmica deve ter sua caracterização ambiental e

padrões de infecção considerados primariamente antes de serem implementadas medidas de controle do parasito ou de seus hospedeiros intermediários (ASHRAFI et al., 2015).

2.6 Importância da definição de parâmetros físico-químicos da água de criadouros naturais de limneídeos

A água possui importância fundamental na sobrevivência de moluscos, uma vez que ambientes úmidos são essenciais na fisiologia desses animais. Em geral, gastrópodes de água doce desempenham um papel importante na medicina humana e veterinária, como hospedeiros intermediários de trematódeos, sendo necessário um número maior de estudos científicos a respeito (SADDOZAI et al., 2013). Caramujos são saprofíticos, atuando como bioindicadores e como purificadores da água no ambiente onde vivem (SADDOZAI et al., 2013). A sobrevivência desses gastrópodes no ambiente aquático depende de vários fatores físico-químicos que ajudam na determinação das características ecológicas e na abundância das diferentes espécies (SADDOZAI et al., 2013). Além disso, a distribuição de moluscos de água doce é utilizada para observar alguns parâmetros físico-químicos da água, como por exemplo a quantidade de cálcio e a alcalinidade (COSTIL E CLEMENT, 1996). Para a espécie *Biomphalaria glabrata*, Vieira (1967) mostrou que deficiências de nutrientes em meio básico e a presença de substâncias tóxicas podem causar problemas reprodutivos nesses caramujos.

Na literatura não há disponível valores limítrofes para padrões físico-químicos da água suportados por moluscos da família Lymnaeidae, então devido a esse contexto, a comparação foi feita com valores padrões para potabilidade da água. Para ser apropriada para consumo, a água precisa seguir alguns valores padronizados para a sua potabilidade o que garante a sua qualidade. Dentre esses valores está o padrão organoléptico, que é caracterizado como propriedades que afetam os sentidos de um organismo vivo e que possuem valores mínimos permitidos (VMP), mesmo que não promovam riscos à saúde (BRASIL, 2021). Dentro desse padrão se tem como exemplo cloreto, cor, dureza total, ferro, manganês, sólidos dissolvidos totais, sulfato e turbidez. Além das citadas, há outras substâncias químicas inorgânicas importantes, dentre elas o nitrato. Os VMP podem ser observados na Tabela 1, mas alcalinidade, dureza de cálcio e de magnésio não possuem VMP. Já o valor de pH para ser considerável aceitável deve estar entre 5,0 e 9,5 (BRASIL, 2021).

Tabela 1: VMP para padrão organoléptico e para substância inorgânica

	Parâmetro	Unidade	VMP
Padrão organoléptico	Cloreto	mg/L	250
	Cor Aparente	uH	15
	Dureza total	mg/L	300
	Ferro	mg/L	0,3
	Manganês	mg/L	0,1
	Sólidos dissolvidos totais	mg/L	500
	Sulfato	mg/L	250
	Turbidez	uT	5
Substância inorgânica	Nitrato	mg/L	10

Fonte: Adaptado de BRASIL, 2021.

Cada parâmetro possui um significado que ajuda na determinação da qualidade da água, sendo cada um deles descrito a seguir. A cor está ligada ao quanto a intensidade da luz consegue ser reduzida ao atravessar uma amostra de água que possui sólidos orgânicos e inorgânicos dissolvidos. Os sólidos dissolvidos significam os resíduos que permanecem após a água sofrer algum processo de evaporação. A turbidez é o quanto a intensidade da luz é atenuada ao atravessar uma amostra de água, devido a presença de partículas orgânicas e inorgânicas em suspensão. A alcalinidade significa a capacidade da água de reagir com um ácido forte de forma quantitativa, até que um valor específico de pH seja alcançado. O cálcio e o magnésio juntos são os principais responsáveis pela dureza da água, e esses íons estão presentes devido a partículas de solo e rochas dissolvidas. O cloreto e o sulfato podem representar produtos vindos de excretas humanos e de animais que ocorre próximo a fonte de água ou por descargas de esgoto sanitário. O ferro pode ser encontrado devido a erosão do solo e carreamento do minério dissolvido que ocorre principalmente em épocas chuvosas. O manganês ocorre naturalmente na água, mas a ação antropogênica também é responsável pela sua presença. Por último, o nitrato é uma das formas que o nitrogênio pode ser encontrado na água e em altas concentrações ele pode ser prejudicial à saúde (CETESB, 2022).

No que diz respeito aos gastrópodes em geral, alguns parâmetros físico-químicos presentes em seus ambientes aquáticos são necessários para sua sobrevivência. Sendo assim, existe um limiar de tolerância desses parâmetros que é suportado por esses moluscos. Alguns deles podem ser vistos na Tabela 2, que mostra valores mínimos e máximos tolerados por algumas espécies de gastrópodes *Biomphalaria* sp. devido à ausência dos mesmos valores observados para limneídeos.

Tabela 2: Valores mínimos e máximos de parâmetros físico-químicos suportados por espécies de gastrópodes (*Biomphalaria* sp.)

Parâmetros físico-químicos	Valores mínimos	Valores máximos
Cálcio (mg/L)	2,4	129
Ferro (mg/L)	0,0	5,4
Alcalinidade (mg/L de CaCO₃)	20	415
Cloreto (mg/L)	1	3500
Turbidez (fator de turbidez)	3,7	230
pH	5,6	9,1

Fonte: Adaptado de BRASIL, 2008.

Gastrópodes de água doce, dentre eles os limneídeos, são encontrados em variados tipos de ambientes aquáticos como lagos, córregos, rios, pântanos, brejos, nascentes, aquíferos subterrâneos e coleções de água temporárias ou sazonais (SALMAN e NASSAR, 2014).

3 JUSTIFICATIVA

Moluscos da família Lymnaeidae possuem importância no ciclo de transmissão de *Fasciola hepatica*, mas apesar disso, o que é conhecido sobre a ocorrência e distribuição desses moluscos no Brasil ainda é defasado. No estado de Minas Gerais há a presença de espécies de limnédeos hospedeiros intermediários de *F. hepatica* em potencial. *Pseudosuccinea (Lymnaea) columella* já foi encontrado naturalmente infectado com *F. hepatica* no estado, além de ser notificado infecções em bovinos, bubalinos e roedores, como as capivaras, nascidos e criados em fazendas mineiras. Como há estudos que mostram a ocorrência da fasciolose na mesorregião metropolitana de Belo Horizonte deve-se dar importância a presença, distribuição e comportamento dos moluscos nessa região para que se conheçam os fatores de risco no estabelecimento e controle da fasciolose. É importante também conhecer sobre a ecologia desses moluscos, pois através de seus comportamentos no ambiente será possível melhor entender sobre a biologia e fatores que ajudam no seu estabelecimento e disseminação.

A análise de parâmetros ecológicos dos criadouros naturais de limnédeos em propriedades rurais localizadas nos municípios de Carmo do Cajuru, Crucilândia, Itaguara, Rio Manso, Pedro Leopoldo, Lagoa Santa e Brumadinho torna-se importante. Essa importância se justifica devido a escassez de estudos a respeito desse tema, que possui relevância na sobrevivência e no desenvolvimento de limnédeos, assim como na dispersão de *F. hepatica*.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Realizar a avaliação de parâmetros ecológicos de moluscos da família Lymnaeidae, hospedeiros intermediários de *Fasciola hepatica*, coletados nos municípios de Carmo do Cajuru, Crucilândia, Itaguara, Rio Manso, Pedro Leopoldo, Lagoa Santa e Brumadinho localizados em Minas Gerais, Brasil.

4.2 Objetivos específicos

- Avaliar parâmetros físico-químicos da água de criadouros naturais de limneídeos, para determinar fatores que contribuam para a sobrevivência deles no ambiente;
- Identificar as espécies de plantas estabelecidas às margens dos criadouros naturais e compará-las com espécies encontradas em outros estudos para verificar a importância delas no ciclo de *F. hepatica*;
- Realizar coleta e identificação morfológica de limneídeos encontrados nos criadouros naturais alvo de estudo.

5 METODOLOGIA

5.1 Área de estudo e metodologia de coleta

Foram coletadas, em 14 propriedades rurais, 20 amostras de caramujos, da água dos piquetes onde os rebanhos de animais e caramujos estavam inseridos e das vegetações associadas às coleções de água alvo dos estudos. Os locais de estudo abrangem os municípios de Carmo do Cajuru, Itaguara, Crucilândia, Rio Manso, Pedro Leopoldo, Lagoa Santa e Brumadinho. Eles estão localizados na mesorregião Metropolitana de Belo Horizonte, exceto Carmo do Cajuru que se encontra na mesorregião Oeste de Minas no estado de Minas Gerais (Figura 2). Todos os municípios são banhados pelos afluentes da bacia do rio São Francisco. As propriedades rurais escolhidas como áreas de estudo se configuram como locais onde ocorreram positividade para *Fasciola hepatica* seguindo critérios do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) que possui parceria com o Laboratório de Helminologia Veterinária (LabHelVet), no departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Essa parceria foi firmada de acordo com assinatura de termo de confidencialidade entre as instituições. Além das amostras mencionadas foram coletadas também informações complementares sobre a ecologia das localidades através de um questionário (Anexo A). Nos locais também foram coletadas amostras de limnédeos e da vegetação associada às coleções de água alvo do estudo, além de informações complementares sobre a ecologia das localidades.

A caracterização das coleções de água respeitou as definições de lagoas, córregos e brejos.

- Lagoas são locais caracterizados como coleções de água estagnada com pouco ou nenhum fluxo, em geral possui quantidade delimitada de água;
- Córregos são locais que se apresentam como uma pequena passagem corrente que ocorre em um sulco estreito no solo;
- Brejos são terrenos constantemente alagados onde o solo se apresenta amolecido geralmente localizado próximo a lagoas ou minas de água.

5.2 Variáveis de estudo

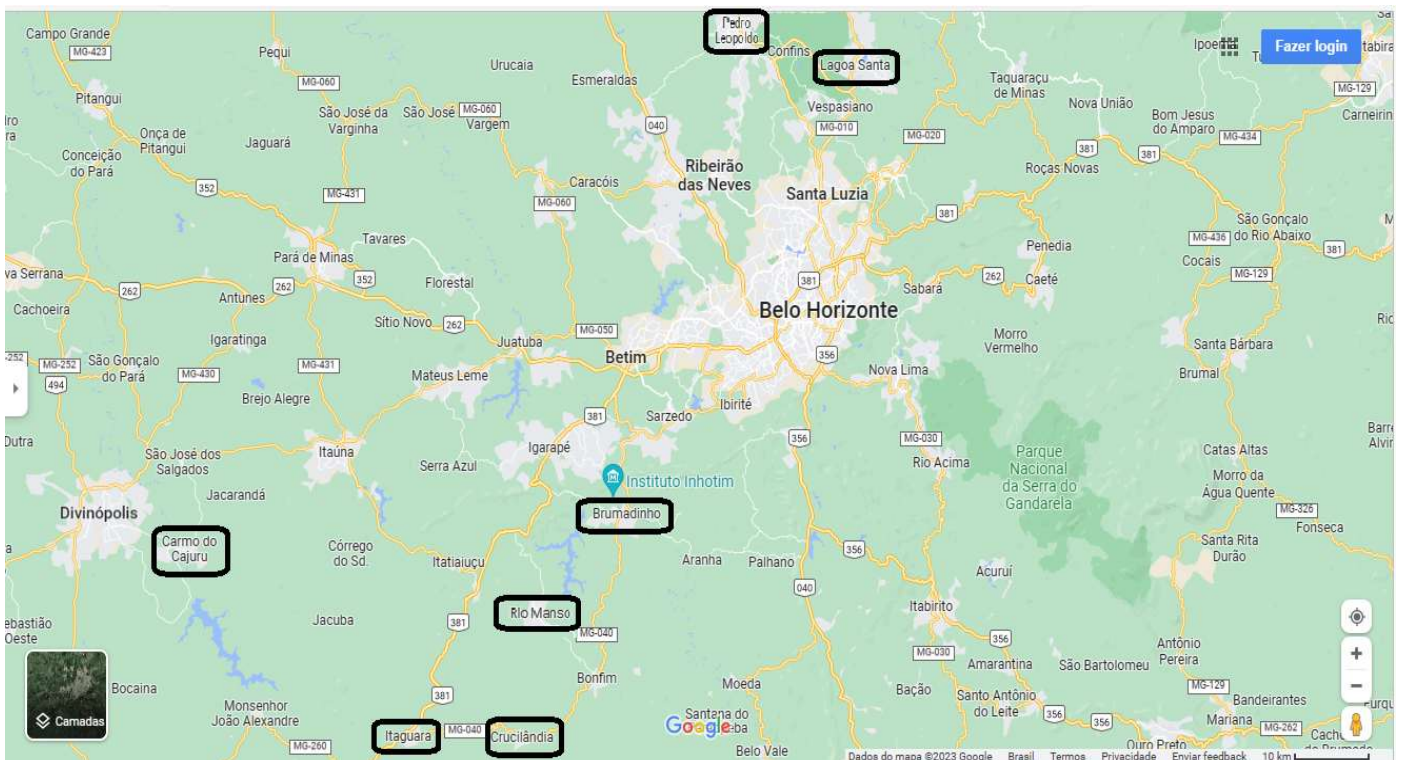
As variáveis avaliadas neste estudo foram obtidas através da avaliação dos parâmetros físico-químicos da água dos criadouros naturais de limnédeos, coleta de vegetação associada a esses

criadouros e do preenchimento de um questionário (Anexo A) com as observações de características ambientais em cada local visitado.

5.2.1 Variável dependente

A variável dependente analisada foi a presença de limnédeos nos criadouros naturais de cada propriedade rural visitada (SIM/NÃO).

Figura 2: Mapa do estado de Minas Gerais indicando os municípios de coleta das amostras



Fonte: Google Maps (2023)

5.2.2 Variáveis independentes

As variáveis independentes que foram utilizadas para a identificação e associação à presença de limnédeos nos criadouros naturais em cada propriedade estão descritas a seguir.

- Variáveis relacionadas ao ambiente: análise de parâmetros físico-químicos da água, tipo de fonte e qualidade da água habitada pelos moluscos, presença de esgoto ou água tratada, vegetação predominante na propriedade rural, vegetação e tipo de solo associados aos criadouros naturais de limnédeos;

- Variáveis relacionadas ao manejo do rebanho de animais do local: utilização da água de criadouros naturais de limneídeos pelos animais, finalidade do rebanho de animais (corte/leite), presença de infecção por *F. hepatica* na localidade.

5.3 Análise de parâmetros físico-químicos da água dos criadouros naturais de limneídeos

Em cada propriedade coletou-se diretamente do local uma amostra de 1 litro da água proveniente de criadouros naturais de limneídeos, que foi acondicionada em recipiente plástico de 2 litros e refrigerada em temperatura entre 1°C e 3°C, até o momento de suas análises. O acondicionamento foi feito colocando-se os recipientes nas prateleiras do refrigerador. A refrigeração na temperatura mencionada inicialmente realizou-se no LabHelVet ICB/UFMG, até o momento de suas análises que ocorreu no Laboratório de Saúde Pública / Água na Faculdade de Farmácia / UFMG. Foram feitos testes físico-químicos de ferro, manganês, cloreto e sulfato; as titulações de alcalinidade e dureza total e parcial; e as análises de cor, pH, turbidez, sólidos dissolvidos e por fim, valor de nitrato (BRASIL, 2021). Antes do início das análises, cada amostra de água foi filtrada em papel filtro com porosidade de 3 micras acoplado em funil de vidro. Após esse processo as amostras foram colocadas em recipiente plástico estéril individual com volume de 1 litro. Cada procedimento seguiu um protocolo diferente descrito nos próximos tópicos.

5.3.1 Teste físico-químico de ferro, manganês, cloreto e sulfato

Os testes de ferro, manganês, cloreto e sulfato foram feitos utilizando o kit Merck específico para cada elemento químico a ser quantificado e seguiram protocolo fornecido pelo fabricante, descrito no Anexo B. As leituras de cada solução final foram feitas em espectrofotômetro Spectroquant® Prove 100 com comprimento de onda de 320 - 1100 nanômetros (nm). A leitura foi realizada de acordo com a cubeta especificada no protocolo do próprio aparelho e dos kits utilizados (Anexo B).

5.3.2 Titulações

As titulações seguiram procedimentos padrão e protocolos estabelecidos pelo Laboratório de Saúde Pública / Água (Faculdade de Farmácia / UFMG), descritos nos tópicos abaixo.

5.3.2.1 Teste de alcalinidade

Para os testes de alcalinidade, em Erlenmeyers individuais de vidro com capacidade de 250 mL, foram adicionados 100 mL de cada uma das amostras de água e colocados 120 microlitros de fenolftaleína. Esse composto é utilizado como um indicador de pH, onde apresenta coloração

rosa na presença de soluções básicas e incolor na presença de soluções ácidas. Após esse procedimento as amostras foram homogeneizadas e caso necessário, a titulação com H_2SO_4 (massa molecular: 98 g/mol) foi realizada. Em seguida foram adicionados 120 microlitros de alaranjado de metila ($\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{NaO}_3\text{S}$) e novamente realizada a homogeneização das soluções. O alaranjado de metila é um indicador de pH usado em titulações de ácidos, devido a sua propriedade em mudar de cor em função da acidez da amostra. Após esse procedimento, foi feita a titulação das soluções com H_2SO_4 , onde a cada titulação feita, a quantidade de H_2SO_4 utilizada em mL foi quantificada.

Após obtenção dos valores, o resultado da titulação de cada amostra foi submetido na fórmula:

- Valor da titulação x 10 x Fator de correção

O valor do fator de correção indicado na fórmula acima foi obtido no frasco de H_2SO_4 e possui valor de 0,9185.

5.3.2.2 Teste de dureza total

Para os testes de dureza total, em Erlenmeyers individuais de vidro com capacidade de 250 mL, foram adicionados 100 mL de cada amostra de água e colocados 1 mL de solução tampão de pH 10, sendo que cada amostra foi homogeneizada em seguida. Após este procedimento, foram adicionados 15 mg de negro de eriocromo T ($\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{NaO}_7\text{S}$) e a titulação com ácido etilenodiamino tetra-acético (do inglês *Ethylenediamine tetraacetic acid*, ou EDTA) foi realizada. A cada titulação feita, a quantidade de EDTA utilizada em mL foi quantificada. O negro de eriocromo T é um indicador que possui propriedade de mudar sua cor na presença de íons metálicos, especialmente íons de cálcio e magnésio.

Após obtenção dos valores, o resultado da titulação de cada amostra foi submetido na fórmula:

- Valor da titulação x 10 x Fator de correção

O valor do fator de correção indicado na fórmula acima foi obtido no frasco de EDTA e possui valor de 0,9890.

5.3.2.3 Teste de dureza parcial

Para os testes de dureza parcial, em Erlenmeyers individuais de vidro com capacidade de 250 mL, foram adicionados 100 mL de cada amostra de água, 1 mL de NaOH 5% (5 mL de NaOH diluídos em 100 mL de água destilada) e 15 mg de murexida ($\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_6\text{O}_6$). Após esse

procedimento, as soluções foram homogeneizadas e tituladas com EDTA 0,01 M. A murexida é um composto orgânico útil na detecção de íons metálicos, especialmente os íons de cálcio.

Os resultados das titulações de cada amostra foram submetidos em duas fórmulas descritas a seguir, para cálculo da dureza de cálcio e de magnésio.

- Dureza de cálcio: volume titulado x 4 x Fator de correção;
- Dureza de magnésio: (volume da titulação da dureza total – volume da titulação da dureza parcial) x fator de correção x 2.431.

O valor do fator de correção indicado nas fórmulas acima foi obtido no frasco de EDTA e possui valor de 0.9890.

5.3.3 Análise de cor

A análise de cor das amostras de água foi feita em espectrofotômetro em comprimento de onda de 455 nm, submetendo para leitura 50 mL de cada amostra em cubeta de vidro de 50 mm. A leitura ocorreu selecionando a opção “cor hazen 30” no visor do aparelho. Essa opção foi escolhida por ser a escala padrão utilizada na avaliação de cor da água, na detecção de cores que indicam a presença de matéria orgânica. Após cada leitura, os valores correspondentes a cada amostra foram anotados.

5.3.4 Análise de turbidez

As amostras de água foram colocadas em cubeta de vidro, tampadas e submetidas ao turbidímetro com espectro de 0,02-1000 nm para leitura. Durante a leitura a cubeta foi lentamente girada para que toda a amostra fosse lida. Após cada leitura, os valores correspondentes a cada amostra foram anotados.

5.3.5 Análise de pH

A tampa do eletrodo do pHmetro foi retirada e o eletrodo lavado com água destilada. Após esse procedimento, o eletrodo foi mergulhado em Becker individual de vidro com capacidade de 200 mL, contendo 100 mL de amostra de água, para que a leitura do pH fosse realizada. O valor da leitura do pH que foi mostrado no visor do pHmetro foi anotado.

5.3.6 Análise de sólidos totais dissolvidos

A tampa do eletrodo do medidor de sólidos dissolvidos totais de bancada foi retirada e o eletrodo foi lavado com água destilada. Após esse procedimento, o eletrodo foi mergulhado em cada Becker individual de vidro com capacidade de 200mL contendo cada um 100 mL das

amostras de água, para que a leitura de sólidos totais dissolvidos fosse realizada. As amostras foram homogeneizadas por 10 segundos durante a leitura e o primeiro valor estabilizado que apareceu no visor do aparelho foi anotado, antes que os sólidos presentes nas amostras se precipitassem no fundo de cada Becker.

5.3.7 Análise de nitrato

Em cada Becker de vidro com capacidade de 250 mL, foram adicionados 10 mL de cada amostra de água e 1 mL de salicilato de sódio 5% (5 g de salicilato de sódio diluídos em 100 mL de água destilada). Após esse procedimento, as amostras foram aquecidas a 400° C em um aquecedor de laboratório com chapa de metal, até que foi obtido um pó branco no fundo de cada Becker. As amostras foram retiradas do aquecedor e ao resfriarem, foram acrescentados 2 mL de H₂SO₄ em cada uma e permaneceram em repouso por 10 minutos. Após esse período, foram acrescentados 15 mL de água destilada e 15 mL de tartarato de sódio e potássio 25% (dissolver 40 g de NaOH em 60 mL de água Milli-Q; preparar 25 mL de solução de tartarato de sódio e potássio diluindo 6,25 mg em 25mL de água; colocar 20 mL dessa solução juntamente com a solução de NaOH previamente preparada e completar o volume para 100 mL com água Milli-Q), em cada solução, que permaneceu em repouso por 10 minutos.

A leitura foi feita utilizando 20 mL de cada solução em espectrofotômetro em comprimento de onda de 415 nm, submetidas em cubeta de vidro de 20 mm.

5.4 Coleta e identificação de plantas provenientes de criadouros naturais de limneídeos

Além das amostras de água, foram coletadas também amostras de folhas, caule e raízes de plantas que estavam estabelecidas nos locais. As coletas das vegetações foram realizadas de forma aleatória, onde foram feitas demarcações em quadrantes de 1 m² nas margens desses locais (RIBEIRO, 2016). No momento de suas coletas nas propriedades rurais, essas amostras foram armazenadas em recipientes plásticos com tampa e levadas até o LabHelVet (ICB/UFMG) para posterior identificação.

5.5 Coleta de moluscos

Nas mesmas propriedades rurais onde foram coletadas amostras de água e de vegetação foram também coletadas amostras de limneídeos. Essas coletas foram realizadas às margens dos criadouros naturais desses moluscos, onde os rebanhos de animais nas propriedades utilizavam a água para consumo. A captura desses moluscos foi feita com o auxílio de pinças de madeira, com o objetivo de minimizar os danos em suas conchas e partes moles. Após a captura eles

foram acondicionados em recipientes plásticos de 1 L, juntamente com água e resíduos de matéria orgânica proveniente de seus locais de origem. As coletas nos criadouros foram realizadas de forma aleatória, onde foram feitas demarcações em quadrantes de 1 m² nas margens desses locais (RIBEIRO, 2016). Essas demarcações foram feitas com quadros de ripas de madeira de 1 m x 1 m, que foram colocadas nas margens das coleções de água com 50 cm inserido no interior da água e 50 cm no exterior (RIBEIRO, 2016).

Após a coleta, os limnédeos foram levados e mantidos sob cuidados no LabHelVet (ICB/UFMG), onde foram dispostos individualmente em placas de Petri contendo 10 mL de água, em temperatura ambiente e alimentados com pequenos fragmentos de alface. Diariamente os caramujos foram colocados sob um microscópio estereoscópico para a observação de seu desenvolvimento, postura de ovos e verificação da possível eliminação de cercárias e da presença e metacercárias. Além disso, foi feita também a identificação dos gêneros dos caramujos coletados, com base em observações morfológicas de suas conchas. Posteriormente as conchas desses limnédeos foram armazenadas e separadas por localidade de coleta. Esse armazenamento foi feito para que as conchas tivessem suas medidas de comprimento total aferidas.

Uma amostra de 15 conchas de limnédeos de cada localidade foi separada para a medição, esse número foi escolhido de acordo com protocolo de identificação morfológica descrito por Ferreira (2019). As medições do comprimento total das conchas seguiram protocolo estabelecido por Ueta, 1980 (Figura 3) e foram realizadas com o auxílio de um paquímetro digital de 200 mm disponibilizado pelo LabHelVet (ICB/UFMG). No processo de medição, as conchas foram dispostas em superfície lisa e de cor clara e o paquímetro foi posicionado na borda inferior da abertura das conchas, seguindo a prega columelar, até o ápice da primeira espira presente na parte superior (UETA, 1980).

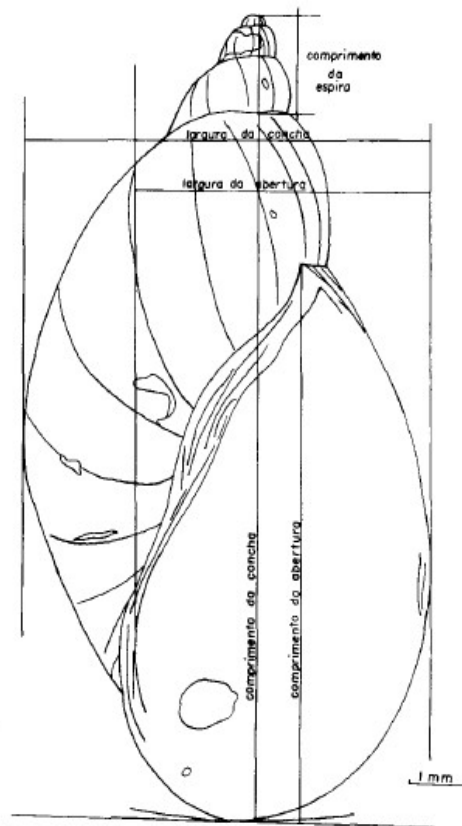
5.6 Coleta de dados geográficos e meteorológicos

Os dados geográficos correspondentes à altitude de cada município visitado foram coletados no portal eletrônico do Google Earth (<https://www.google.com.br/earth/index.html>). Já as coordenadas geográficas foram obtidas através do sistema de posicionamento global (do inglês *Global Positioning System*, ou GPS) disponível em *smartphones*.

Os dados correspondentes à temperatura e pluviosidade foram coletados no portal eletrônico do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET <https://portal.inmet.gov.br>). Esses dados foram fornecidos pelas estações meteorológicas próximas às regiões visitadas, pois não há uma

estação disponível em cada município. A disposição desses dados no portal ocorre de maneira ao longo de alguns horários do dia e de acordo com essa informação, todos os dados foram correspondentes ao horário das 12:00 h, que foi o horário médio em que as coletas foram feitas em cada dia. Para o município de Carmo do Cajuru, os dados foram coletados da estação meteorológica de Divinópolis, já para os demais, os dados foram coletados de estações meteorológicas de Belo Horizonte.

Figura 3: Medidas padrão para conchas de limneídeos



Fonte: UETA, 1980.

5.7 Análise estatística

Para a análise estatística foram utilizados os resultados obtidos nos itens anteriores (análise físico-química da água e coleta de vegetação e moluscos) juntamente com dados complementares que foram coletados através do preenchimento de um questionário (ver Anexo A). A análise estatística foi realizada utilizando o software estatístico R (versão 4.2.1), onde primeiramente foi feito um teste de Shapiro-Wilk com o objetivo de verificar a normalidade dos dados. Em seguida os resultados obtidos de cada amostra foram comparados entre si com

a utilização da análise de variância para dados não paramétricos (Kruskal-Wallis) ou paramétricos (ANOVA). Os valores de $p < 0,05$ (correspondentes a 95% de confiança) foram considerados como diferença estatisticamente significativa nas análises. Na confecção de gráficos com valores de média e desvio padrão foi utilizado o programa GraphPad Prism (versão 9.5.0).

6 RESULTADOS

Ao submeter os resultados à análise estatística pelo software R (versão 4.2.1), verificou-se que não havia um número amostral suficiente de dados (20 amostras) para que correlações fossem estabelecidas pelo programa. Então optou-se pela realização de uma estatística descritiva.

Não foi encontrado nenhum limneídeo eliminando cercárias e/ou com presença de metacercárias de *F. hepatica* nas placas de Petri ao longo do período de observação no LabHelVet (ICB/UFMG), mas desovas foram identificadas. Além de limneídeos (n = 2099), os seguintes gêneros de moluscos foram encontrados, *Physa* sp. (n = 30), *Drepanotrema* sp. (n = 22), *Biomphalaria* sp. (n = 6) e espécimes da família Thiaridae (n = 4) também foram observados durante as coletas (Tabela 3).

Tabela 3: Número de moluscos gastrópodes da família Lymnaeidae e presença de gastrópodes da família Thiaridae e gêneros *Physa* sp., *Drepanotrema* sp. e *Biomphalaria* sp. por local visitado

Identificação do local	Município	Data de coleta das amostras	Família Lymnaeidae	Família Thiaridae	Espécie <i>Physa</i> sp.	Espécie <i>Drepanotrema</i> sp.	Espécie <i>Biomphalaria</i> sp.
cruci-1	Crucilândia	17/12/2021	31	Não	Não	Não	Não
caju-1	Carmo do Cajuru	29/09/2021	0	Não	Não	Não	Não
cruci-2	Crucilândia	10/12/2021	67	Não	Não	Não	Não
ita-1	Itaguara	10/12/2021	30	Não	Não	Sim	Não
ita-2	Itaguara	20/04/2022	84	Não	Sim	Não	Não
ita-4	Itaguara	03/08/2022	0	Não	Não	Não	Não
ita-5	Itaguara	03/08/2022	0	Não	Não	Não	Não
cruci-4	Crucilândia	12/08/2022	0	Não	Sim	Não	Não
cruci-5	Crucilândia	12/08/2022	0	Não	Não	Não	Não
rio-1	Rio Manso	17/08/2022	414	Não	Sim	Não	Não
peleo-1	Pedro Leopoldo	05/09/2022	688	Sim	Sim	Não	Sim
lsanta-1	Lagoa Santa	05/09/2022	96	Não	Sim	Não	Não
peleo-2	Pedro Leopoldo	05/09/2022	122	Não	Não	Não	Não
peleo-3	Pedro Leopoldo	05/09/2022	93	Não	Não	Não	Não
rio-2	Rio Manso	09/09/2022	326	Não	Sim	Não	Não
bruma-1	Brumadinho	07/10/2022	148	Não	Não	Não	Não

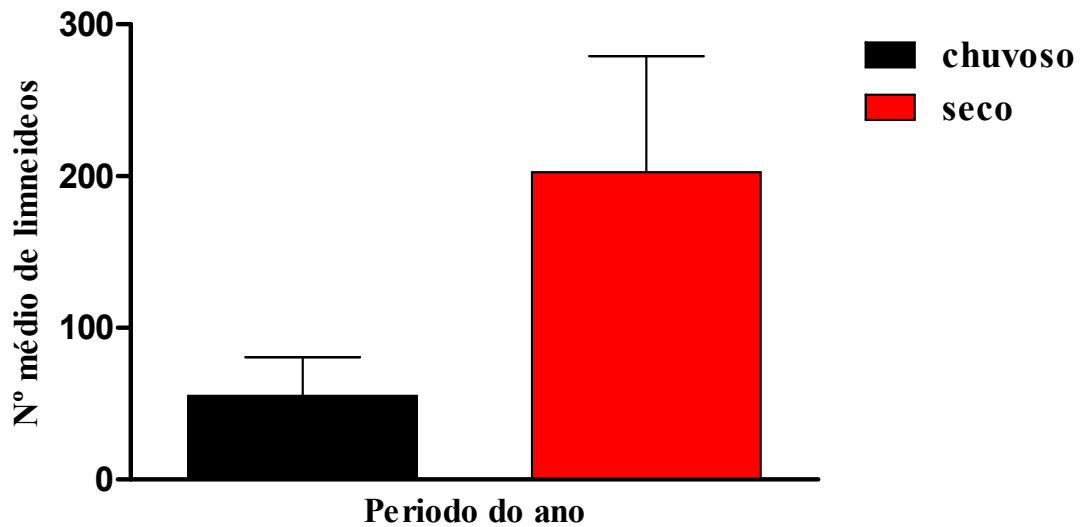
cruci: Crucilândia; caju: Carmo do Cajuru; ita: Itaguara; rio: Rio Manso; peleo: Pedro Leopoldo; lsanta: Lagoa Santa; bruma: Brumadinho

Fonte: Do próprio autor

De acordo com observações morfológicas das conchas, a maioria dos limneídeos encontrados foram da espécie *Lymnaea (Pseudosuccinea) columella*. A identificação dessa espécie foi feita com base nas medidas do comprimento das conchas e na relação do tamanho da abertura de suas conchas com o comprimento total que tem uma relação de 2/3 (ver Esquema 2) (UETA, 1977; PARAENSE, 1982; FERREIRA, 2016).

Na Figura 4 observou-se que o número médio de limneídeos encontrados durante o período seco foi 3,7 vezes maior que no período chuvoso, embora não se tenha verificado diferenças estatísticas entre o número médio de limneídeos obtidos entre os períodos observados. Ocorreu um maior número de coletas durante o período seco, o que também pode explicar esse resultado.

Figura 4: Gráfico comparativo da quantidade de limneídeos encontrados nas fazendas por período do ano. A barra preta representa o valor médio de limneídeos encontrados no período chuvoso do ano (setembro a dezembro) e acima da barra é mostrado o desvio padrão. A barra vermelha representa o valor médio de limneídeos encontrados no período seco do ano (abril a setembro) e acima da barra é mostrado o desvio padrão.



Fonte: Do próprio autor

Ao analisar o tamanho médio das conchas desses moluscos no período seco do ano (abril a setembro) verificou-se que em Pedro Leopoldo, região com predominância de lagoas como criadouros naturais de limneídeos, a média do tamanho das conchas obtidas de diferentes propriedades rurais foi de $3,90 \pm 1,34$ mm (média \pm desvio padrão), $3,58 \pm 0,69$ mm e $7,57 \pm 2,70$ mm; já em Rio Manso, que também possui predominância de lagoas, observou-se valores de $13,93 \pm 2,89$ mm e $7,75 \pm 1,64$ mm para diferentes propriedades rurais. Para a medida das conchas provenientes de limneídeos originados de córregos de fazendas localizadas em Rio Manso, observou-se valores de $7,28 \pm 1,19$ mm. Para os limneídeos coletados em lagoas na região de Brumadinho durante o período chuvoso, observou-se que as médias do tamanho de suas conchas foi de $10,94 \pm 1,19$ mm (Tabela 4). Observou-se que os maiores valores de tamanhos médios das conchas foram encontrados em rio-2 e bruma-1, em amostras encontradas no período seco e chuvoso respectivamente. O período chuvoso observado foi correspondente a transição de seco para chuvoso (mês de outubro).

Tabela 4: Medida de conchas de limneídeos correspondentes ao local visitado e à fonte de água

Identificação do local	Medida de conchas (mm)						
	peleo-2	bruma-1	peleo-3	peleo-1	rio-2	ita-2	rio-1
	Município Pedro Leopoldo	Brumadinho	Pedro Leopoldo	Pedro Leopoldo	Rio Manso	Rio Manso	Rio Manso
Fonte de água	Lagoa	Lagoa	Lagoa	Lagoa	Lagoa	Córrego	Lagoa
	7.36	11.95	5.01	9.24	13.03	5.45	8.56
	5.94	10.70	3.82	5.12	12.60	7.35	7.38
	5.22	8.04	2.56	10.92	13.21	7.56	9.93
	2.44	10.82	3.65	12.01	18.10	7.53	8.40
	4.70	10.58	3.40	5.03	11.88	9.87	5.55
	3.37	11.71	4.39	10.56	11.32	7.60	5.17
	2.81	12.83	3.93	8.49	10.38	7.64	6.76
	3.01	11.82	2.92	8.60	17.74	7.27	10.13
	3.08	10.76	3.25	10.60	18.30	7.71	7.48
	4.26	10.22	3.36	7.05	15.43	9.09	7.36
	2.53	10.86	4.59	5.99	12.52	6.16	7.05
	3.34	10.03	3.70	7.02	14.96	7.70	9.99
	3.92	9.73	3.22	4.77	11.32	5.72	9.29
	3.00	11.83	2.88	4.44	10.38	6.24	7.83
	3.51	12.21	2.96	3.71	17.74	6.37	5.44
Média	3.90	10.94	3.58	7.57	13.93	7.28	7.75
Desvio Padrão	1.34	1.19	0.69	2.70	2.89	1.19	1.64

cruci: Crucilândia; caju: Carmo do Cajuru; ita: Itaguara; rio: Rio Manso; peleo: Pedro Leopoldo; lsanta: Lagoa Santa; bruma: Brumadinho

Fonte: Do próprio autor

A temperatura média e pluviosidade tiveram seus valores obtidos no portal eletrônico do INMET, onde estão disponíveis os dados coletados pelas estações meteorológicas próximas às localidades (Tabela 5). Não foram observadas correlações entre a quantidade de moluscos com a temperatura média e o valor de pluviosidade nos dias de visita às propriedades rurais, mas na Figura 5 observou-se que houve um aumento na quantidade de limnédeos encontrados no mês de setembro, correspondendo ao final do período seco.

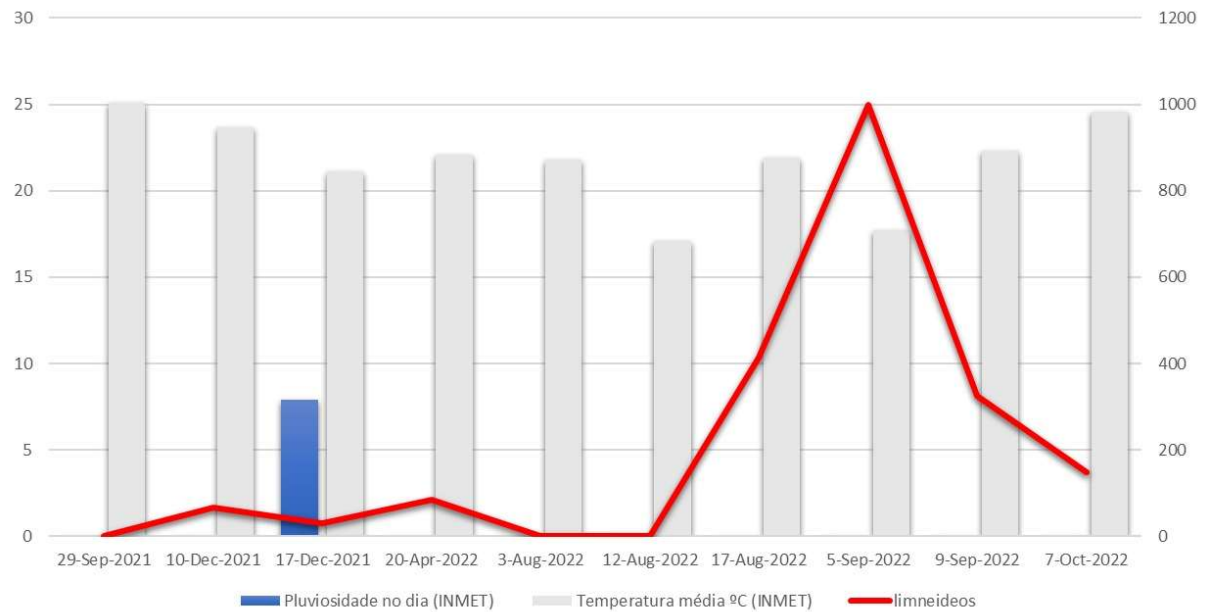
Tabela 5: Dados climáticos das propriedades rurais visitadas

Identificação do local	Data de coleta das amostras	Período do ano (INMET adaptado)	Temperatura média (INMET)	Pluviosidade no dia (INMET)	Fonte de água
cruci-1	17/12/2021	Chuvoso	21,1° C	7,9 mm	Brejo
caju-1	29/09/2021	Chuvoso	25,1° C	0,0 mm	Córrego
cruci-2	10/12/2021	Chuvoso	23,7° C	0,0 mm	Córrego
cruci-3	10/12/2021	Chuvoso	23,7° C	0,0 mm	Córrego
ita-1	10/12/2021	Chuvoso	23,7° C	0,0 mm	Córrego
ita-2	20/04/2022	Seco	22,1° C	0,0 mm	Córrego
ita-3	20/04/2022	Seco	22,1° C	0,0 mm	Córrego
ita-4	03/08/2022	Seco	21,8° C	0,0 mm	Córrego
ita-5	03/08/2022	Seco	21,8° C	0,0 mm	Córrego
cruci-4	12/08/2022	Seco	17,1° C	0,0 mm	Brejo
cruci-5	12/08/2022	Seco	17,1° C	0,0 mm	Lagoa e Brejo
rio-1	17/08/2022	Seco	21,9° C	0,0 mm	Lagoa
peleo-1	05/09/2022	Seco	17,7° C	0,0 mm	Lagoa
lsanta-1	05/09/2022	Seco	17,7° C	0,0 mm	Lagoa
peleo-2	05/09/2022	Seco	17,7° C	0,0 mm	Lagoa
peleo-3	05/09/2022	Seco	17,7° C	0,0 mm	Lagoa
rio-2	09/09/2022	Seco	22,3° C	0,0 mm	Lagoa
rio-3	09/09/2022	Seco	22,3° C	0,0 mm	Lagoa
bruma-1	07/10/2022	Chuvoso	24,6°C	0,0 mm	Lagoa
bruma-2	07/10/2022	Chuvoso	24,6°C	0,0 mm	Lagoa

cruci: Crucilândia; caju: Carmo do Cajuru; ita: Itaguara; rio: Rio Manso; peleo: Pedro Leopoldo; lsanta: Lagoa Santa; bruma: Brumadinho; INMET: Instituto Nacional de Meteorologia

Fonte: Do próprio autor

Figura 5: Gráfico comparativo da quantidade de limnédeos por data, pluviosidade e temperatura. A barra azul representa a pluviosidade de acordo com o dia de coleta das amostras. As barras de cor cinza representam a média da temperatura em °C no dia de coleta das amostras. A linha vermelha representa a quantidade de limnédeos coletados nas propriedades rurais visitadas.



Fonte: Do próprio autor

Na Tabela 6 estão relacionados os valores das altitudes dos municípios e as coordenadas geográficas das fazendas visitadas. Os valores das altitudes não apresentaram variações significativas entre si e não foram observadas relações com a presença de limneídeos ou de *F. hepatica*. Apesar do valor das altitudes mostrado na Tabela 3 serem elevados, todos os locais avaliados foram planos. Houve propriedades rurais onde não foram possíveis obter suas localizações por GPS e isso ocorreu devido a falhas na internet.

Tabela 6: Dados geográficos das propriedades rurais visitadas

Identificação do local	Altitude (Google Earth)	Coordenadas Geográfica	Fonte de água
cruci-1	928 m	-	Brejo
caju-1	756 m	-	Córrego
cruci-2	928 m	20.41100; 44.50933	Córrego
cruci-3	928 m	20.41100; 44.50933	Córrego
ita-1	844 m	20.4059551; 44.521935	Córrego
ita-2	844 m	-	Córrego
ita-3	844 m	-	Córrego
ita-4	844 m	-	Córrego
ita-5	844 m	-	Córrego
cruci-4	928 m	-	Brejo
cruci-5	928 m	-	Lagoa e Brejo
rio-1	869 m	-	Lagoa
peleo-1	734 m	-	Lagoa
lsanta-1	799 m	19°38'54,2"; 43°54'39,2"	Lagoa
peleo-2	734 m	19°37'12"; 44°2'38"	Lagoa
peleo-3	734 m	19°37'12"; 44°2'38"	Lagoa
rio-2	869 m	20.321587; 44.309395	Lagoa
rio-3	869 m	20.321587; 44.309395	Lagoa
bruma-1	754 m	-	Lagoa
bruma-2	754 m	-	Lagoa

cruci: Crucilândia; caju: Carmo do Cajuru; ita: Itaguara; rio: Rio Manso; peleo: Pedro Leopoldo; lsanta: Lagoa Santa; bruma: Brumadinho

Fonte: Do próprio autor

Como pode ser observado na Tabela 7, todas as amostras de água são provenientes de fonte natural não tratada, todas as propriedades rurais apresentaram fossa séptica. As amostras de água são originadas de lagoas (10), córregos (8) e brejos (3) (Figura 8 A, 8 B e 8 C). Nenhuma das amostras foi proveniente de rios, ribeirões ou poços artesianos. Os animais presentes nas propriedades utilizavam essa fonte de água para consumo, se alimentando também das plantas encontradas às margens desses locais (Figura 6).

Tabela 7: Procedência das amostras de água coletadas

Identif. Do local	Qualidade da água			Fonte de água					
	Água tratada	Fonte natural	Fossa séptica	Lagoa	Rio	Ribeirão	Córrego	Poço artesiano	Brejo
cruci-1	Não	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Sim
caju-1	Não	Sim	Sim	Não	Não	Não	Sim	Não	Não
cruci-2	Não	Sim	Sim	Não	Não	Não	Sim	Não	Não
cruci-3	Não	Sim	Sim	Não	Não	Não	Sim	Não	Não
ita-1	Não	Sim	Sim	Não	Não	Não	Sim	Não	Não
ita-2	Não	Sim	Sim	Não	Não	Não	Sim	Não	Não
ita-3	Não	Sim	Sim	Não	Não	Não	Sim	Não	Não
ita-4	Não	Sim	Sim	Não	Não	Não	Sim	Não	Não
ita-5	Não	Sim	Sim	Não	Não	Não	Sim	Não	Não
cruci-4	Não	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Sim
cruci-5	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Sim
rio-1	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não
peleo-1	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não
lsanta-1	Não	Não	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não
peleo-2	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não
peleo-3	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não
rio-2	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não
rio-3	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não
bruma-1	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não
bruma-2	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não

cruci: Crucilândia; caju: Carmo do Cajuru; ita: Itaguara; rio: Rio Manso; peleo: Pedro Leopoldo; lsanta: Lagoa Santa; bruma: Brumadinho

Fonte: Do próprio autor

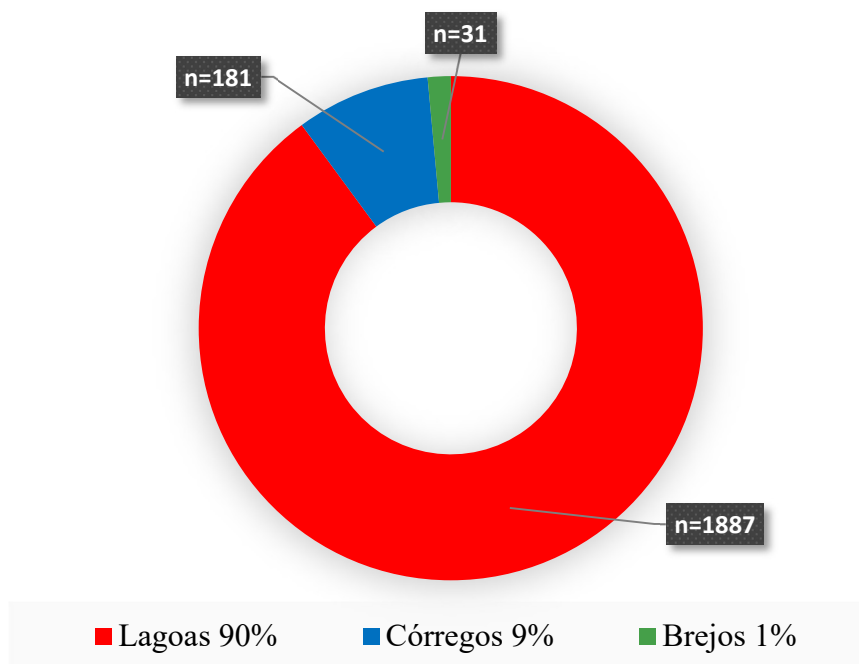
Figura 6: Animal consumindo água e vegetação em brejo (*Brachiaria decumbens*)



Fonte: Do próprio autor

O total de 2099 (100%) limneídeos foram separados de acordo com o ambiente aquático onde foram encontrados. Em locais caracterizados como lagoa, observou-se que a porcentagem de limneídeos coletados foi de 90% (n=1887), em ambientes caracterizados como córregos a porcentagem foi de 9% (n=181) e em ambientes caracterizados como brejos foi de 1% (n=31). Na Figura 7 observam-se esses valores dispostos em um gráfico comparativo e na Tabela 7 a caracterização do ambiente aquático pode ser observada e comparada.

Figura 7: Porcentagem de limneídeos encontrados nos diferentes tipos de ambientes aquáticos caracterizados nas propriedades rurais. No gráfico, a cor vermelha indica a quantidade de limneídeos em porcentagem, encontrados em ambientes caracterizados como lagoas (90%). A cor azul indica a quantidade de limneídeos em porcentagem, encontrados em ambientes caracterizados como córregos (9%). A cor verde indica a quantidade de limneídeos em porcentagem, encontrados em ambientes caracterizados como brejo (1%). Em destaque nos boxes cinza, observa-se o valor do N amostral para as diferentes quantidades de limneídeos encontradas em cada localidade.



Fonte: Do próprio autor

Figura 8: 8A, 8B e 8C - Fonte dos criadouros naturais de limnédeos

8 A: Lagoa caracterizada no município de Pedro Leopoldo



Fonte: Do próprio autor

8 B: Brejo caracterizado no município de Crucilândia



Fonte: Do próprio autor

|8 C: Córrego caracterizado no município de Itaguara

Fonte: Do próprio autor

A Tabela 8 mostra os valores dos testes físico-químicos que as amostras de água foram submetidas. Esses testes avaliaram a concentração de elementos como ferro, manganês, cloreto e sulfato.

Devido à falta de parâmetros de comparação suportados por espécies de limnédeos, os valores encontrados foram comparados com parâmetros para potabilidade da água. Os valores atribuídos a cloreto e sulfato estão dentro da normalidade permitida para potabilidade da água, em que ambos possuem como valor mínimo permitido 250 mg/L (Tabela 1). No teste de ferro 12 das localidades (caju-1, cruci-2, cruci-3, ita-1, ita-3, ita-4, ita-5, cruci-4, rio-1, peleo-1, rio-3 e bruma-1) apresentaram valores dentro da normalidade para o mínimo permitido (0,3 mg/L, Tabela 1), que foram as amostras correspondentes as localidades cruci-1, ita-2, cruci-5, lsanta-1, peleo-2, peleo-3, rio-2 e bruma-2 (Tabela 8). Já no teste de manganês as amostras de água que apresentaram valores abaixo do mínimo permitido (0,1 mg/L, Tabela 1) foram as

correspondentes as localidades cruci-1, ita-1, ita-2, ita-4, cruci-5, peleo-3, rio-2 e bruma-2 (Tabela 8).

A totalidade das amostras apresentou valores dentro da normalidade suportada por gastrópodes, que varia de 1 a 3500 mg/L (Tabela 2 e Tabela 8). Para o ferro também pode ser afirmado que a totalidade das amostras está dentro da faixa suportada por gastrópodes, que varia de 0,0 a 5,4 mg/L (Tabela 2 e Tabela 8).

Tabela 8: Resultados dos testes físico-químicos de ferro, manganês, cloreto e sulfato das amostras de água proveniente das propriedades rurais visitadas

Identificação do local	Ferro (mg/L)	Manganês (mg/L)	Cloreto (mg/L)	Sulfato (mg/L)	Fonte de água	Número de limneídeos
cruci-1	<0,05	<0,010	15,7	<1,3	Brejo	31
caju-1	2,12	0,198	19,9	3,9	Córrego	0
cruci-2	0,45	0,128	17,4	3,3	Córrego	67
cruci-3	2,24	0,113	16,3	2,5	Córrego	-
ita-1	0,62	<0,010	11	<1,3	Córrego	30
ita-2	0,03	0,045	2	1,1	Córrego	84
ita-3	2,23	0,149	11	3,1	Córrego	-
ita-4	0,47	0,076	1	1,3	Córrego	0
ita-5	2,56	0,238	14	3,6	Córrego	0
cruci-4	3,06	1,896	14	7,5	Brejo	0
cruci-5	0,01	0,042	10	1,2	Lagoa e Brejo	0
rio-1	1,57	0,559	18	10,8	Lagoa	414
peleo-1	0,45	0,381	19,1	6,9	Lagoa	688
lsanta-1	0,10	0,249	15,2	1,4	Lagoa	96
peleo-2	0,26	0,157	12,9	2,8	Lagoa	122
peleo-3	0,04	0,031	9,6	0,2	Lagoa	93
rio-2	0,02	0,040	25	11,1	Lagoa	326
rio-3	0,56	0,415	16	7,8	Lagoa	-
bruma-1	0,32	0,342	17	6,3	Lagoa	148
bruma-2	0,02	0,036	15	0,4	Lagoa	-

cruci: Crucilândia; caju: Carmo do Cajuru; ita: Itaguara; rio: Rio Manso; peleo: Pedro Leopoldo; lsanta: Lagoa Santa; bruma: Brumadinho

Fonte: Do próprio autor

Foram avaliadas também as titulações de elementos importantes para presença de moluscos gastrópodes, como alcalinidade, dureza total, dureza de cálcio e dureza de magnésio (Tabela 9). Os valores encontrados para alcalinidade estão dentro dos padrões mínimos e máximos (de 20 a 415 mg/L) tolerados por espécies de gastrópodes (*Biomphalaria* sp.) como mostra a Tabela 2. Os valores de dureza total encontrados nas análises estão dentro do valor mínimo permitido (até 300mg/L) para a potabilidade da água (Tabela 1). De acordo com as análises, não houve diferenças estatisticamente significativas entre amostras analisadas.

Tabela 9: Resultados das titulações para alcalinidade, dureza total, dureza de cálcio e dureza de magnésio das amostras de água por fonte de água

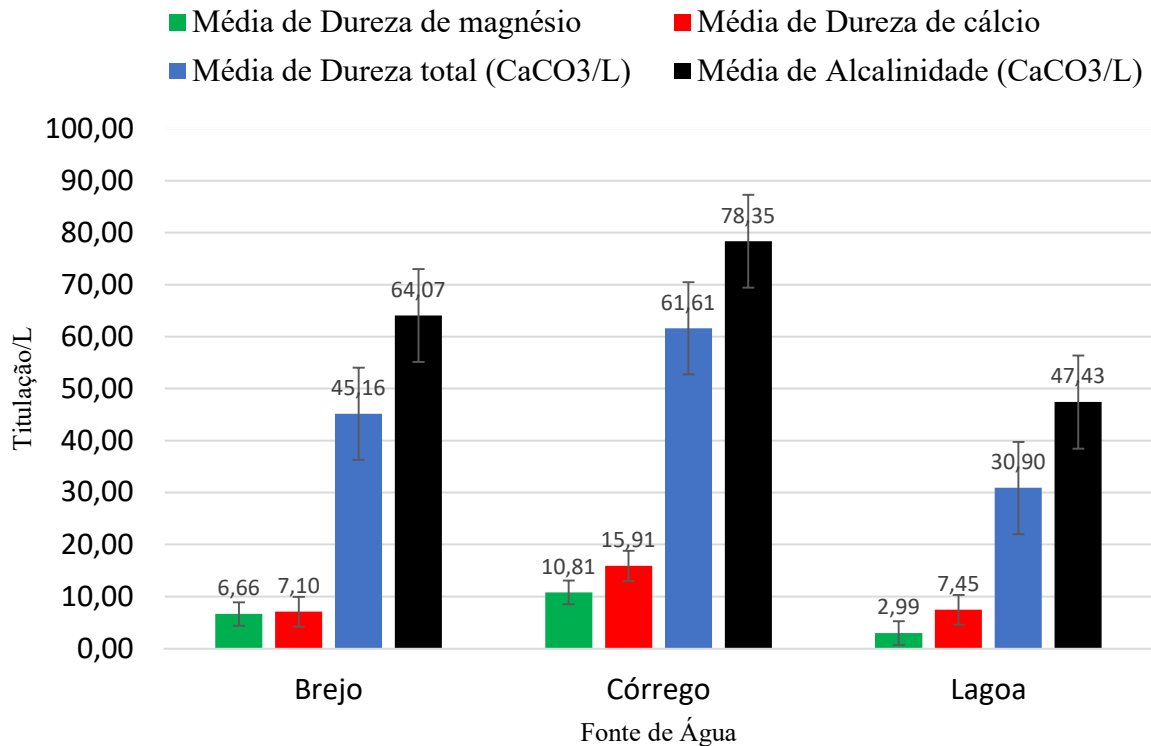
Identificação do local	Alcalinidade (CaCO ₃ /L)	Dureza total (CaCO ₃ /L)	Dureza de cálcio	Dureza de magnésio	Fonte de água	Número de limnédeos
cruci-1	97,36	59,34	7,93	9,6	Brejo	31
caju-1	96,44	58,35	8,30	9,1	Córrego	0
cruci-2	158,9	183,95	48,69	10,1	Córrego	67
cruci-3	114,8	80,10	23,14	54,5	Córrego	-
ita-1	106,54	83,07	28,22	3,1	Córrego	30
ita-2	37,19	21,06	5,57	1,73	Córrego	84
ita-3	35,45	20,27	4,78	2,01	Córrego	-
ita-4	37,10	19,97	3,99	2,42	Córrego	0
ita-5	40,41	26,10	4,62	3,53	Córrego	0
cruci-4	41,85	28,87	5,69	3,55	Brejo	0
cruci-5	52,99	47,27	7,67	6,82	Lagoa e Brejo	0
rio-1	31,78	18,19	4,50	1,68	Lagoa	414
peleo-1	57,86	46,48	7,75	6,58	Lagoa	688
lsanta-1	70,72	52,12	19,97	0,52	Lagoa	96
peleo-2	40,04	19,58	5,06	1,68	Lagoa	122
peleo-3	82,38	56,66	12,77	6,01	Lagoa	93
rio-2	49,59	26,90	6,13	2,81	Lagoa	326
rio-3	36,64	16,81	4,47	1,37	Lagoa	-
bruma-1	28,68	14,14	3,52	1,37	Lagoa	148
bruma-2	23,60	10,87	2,61	1,05	Lagoa	-

cruci: Crucilândia; caju: Carmo do Cajuru; ita: Itaguara; rio: Rio Manso; peleo: Pedro Leopoldo; lsanta: Lagoa Santa; bruma: Brumadinho

Fonte: Do próprio autor

Na Figura 9 observa-se que nas áreas que possuem lagoa como criadouro natural de limnédeos, a alcalinidade média tem valor de 47,43, a dureza total de 30,90, a dureza de cálcio 7,45 e a dureza de magnésio 2,99. Em locais que possuem córrego, observou-se valores médios de 78,35 para alcalinidade, 61,61 para dureza total, 15,91 para dureza de cálcio e 10,81 para dureza de magnésio. Já em locais que possuem brejo observou-se valores médios para alcalinidade 64,07, para dureza total 45,16, para dureza de cálcio 7,10 e para dureza de magnésio 6,66. Apesar dessas variações nos níveis de dosagens das titulações, não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre elas.

Figura 9: Valores médios e desvio padrão das titulações para alcalinidade, dureza total, dureza de cálcio e dureza de magnésio por fonte de água. A barra preta representa o valor médio da alcalinidade das amostras de água. A barra azul representa o valor médio da dureza total das amostras de água. A barra vermelha representa o valor médio da dureza de cálcio das amostras de água. A barra verde representa o valor médio da dureza de magnésio das amostras de água. Sobre cada barra está mostrado o desvio padrão correspondente a cada variável.



Fonte: Do próprio autor

Quanto ao pH observado, valores entre $5 < \text{pH} < 6$ não foram muito propícios ao estabelecimento de limneídeos em seus criadouros naturais, como pode ser visto nos resultados das amostras ita-4, ita-5, cruci-4 e cruci-5 (Tabela 3 e Tabela 10). Exceções percebidas neste trabalho são as amostras caju-1, rio-1 e peleo-3. A primeira possui o pH com valores maiores que 6, em relação às outras citadas, apesar desse fato não foram encontrados moluscos no local e as duas em sequência possuem pH com valores entre $5 < \text{pH} < 6$, como as outras citadas, e mesmo assim nos locais foram encontradas grandes quantidades (414 e 93 respectivamente) de limneídeos (Tabela 3 e Tabela 10).

Os valores de nitrato foram considerados aceitáveis em todas as fontes de água que foram analisadas (Tabela 1, Tabela 2 e Tabela 10). As diferenças estatísticas observadas entre as fontes de água analisadas podem ser vistas na Figura 10. Nos criadouros caracterizados como lagoas observou-se valores médios e de desvio padrão de $0,22 \pm 0,15$, em córregos os valores observados foram de $0,48 \pm 0,58$ e em brejos de $0,09 \pm 0,05$.

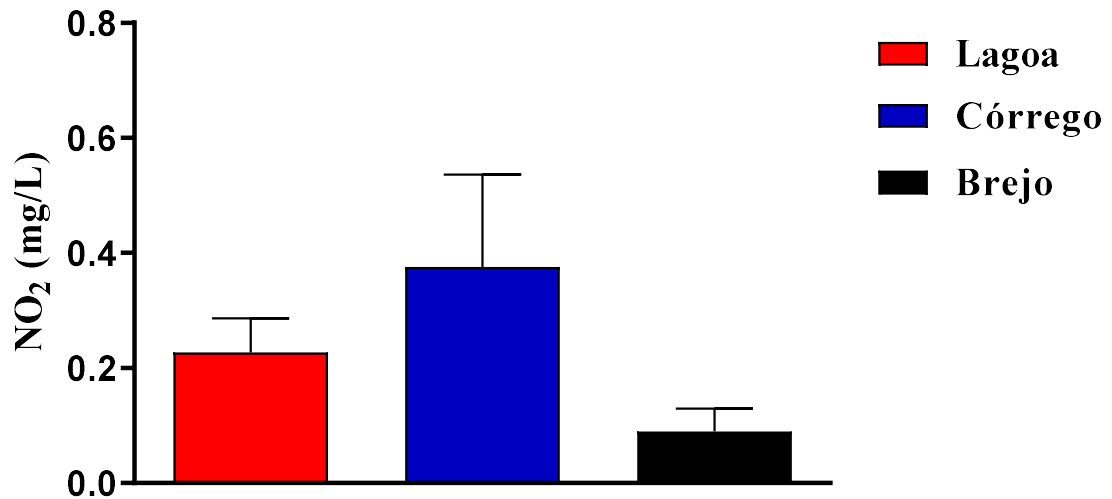
Tabela 10: Resultados dos demais parâmetros físico-químicos analisados nas amostras de água

Identificação do local	Cor (uH)	Turbidez (uT)	pH	Sólidos dissolvidos totais (mg/L)	Nitrato (mg/L)	Fonte de água
cruci-1	2,4	0,36	7,12	114	0,05	Brejo
caju-1	44,3	6,48	6,80	69,5	0,22	Córrego
cruci-2	22,7	4,80	6,73	174	0,14	Córrego
cruci-3	39,0	2,81	6,72	89,1	0,04	Córrego
ita-1	72,9	2,65	6,52	103	0,22	Córrego
ita-2	5,3	0,75	6,50	50,9	1,24	Córrego
ita-3	40,2	1,01	6,20	41,3	0,14	Córrego
ita-4	13,1	2,55	5,95	44,1	0,25	Córrego
ita-5	40,4	4,47	5,86	62,8	0,03	Córrego
cruci-4	75,7	17,64	5,81	43,4	0,13	Brejo
cruci-5	2,6	0,46	5,66	58,3	0,11	Lagoa e Brejo
rio-1	75,9	38,87	5,67	37,3	0,21	Lagoa
peleo-1	42,2	17,79	6,50	6,60	0,36	Lagoa
lsanta-1	7,2	4,11	6,16	8,31	0,05	Lagoa
peleo-2	22,8	9,82	6,06	4,39	0,06	Lagoa
peleo-3	1,9	0,86	5,85	8,61	0,19	Lagoa
rio-2	3,1	1,84	6,09	133	1,41	Lagoa
rio-3	59,6	28,89	6,16	49,6	0,07	Lagoa
bruma-1	46,1	18,59	6,43	39,6	0,23	Lagoa
bruma-2	1,3	0,30	6,40	27,1	0,49	Lagoa

cruci: Crucilândia; caju: Carmo do Cajuru; ita: Itaguara; rio: Rio Manso; peleo: Pedro Leopoldo; lsanta: Lagoa Santa; bruma: Brumadinho

Fonte: Do próprio autor

Figura 10: Valores médios e de desvio padrão de nitrato por fonte de água dos criadouros naturais de limneídeos. A barra vermelha representa o valor médio do nitrato em amostras de água coletadas de lagoas. A barra azul representa o valor médio do nitrato em amostras de água coletadas de córregos. A barra preta representa o valor médio de nitrato em amostras de água coletadas de brejos. Sobre cada barra está mostrado o desvio padrão correspondente a cada variável.



Fonte: Do próprio autor

Associadas às amostras de água coletadas nos criadouros naturais de limnédeos foram identificados predominantemente os gêneros *Eichhornia* (80%), *Juncus* (80%) e a espécie *Brachiaria decumbens* (85%) (Tabela 11 e Figura 11 A, 11 B e 11 C). Essa vegetação foi encontrada predominantemente (80 a 85%) às margens dos cursos d'água ou seu leito, como é o caso do gênero *Eichhornia*, que é caracterizado como planta aquática. Nos locais cruci-5, peleo-3 e bruma-2 não foram encontradas amostras de plantas pois onde as amostras de água proveniente desses locais foram coletadas, não havia crescimento de vegetação em sua proximidade.

Tabela 11: Gêneros e espécie de plantas associadas aos criadouros naturais de limnédeos onde as amostras de água foram coletadas

Vegetação associada à água				
Identif. do local	<i>Eichhornia</i>	<i>Juncus</i>	<i>Brachiaria decumbens</i>	Fonte de água
cruci-1	Sim	Sim	Sim	Brejo
caju-1	Sim	Sim	Sim	Córrego
cruci-2	Sim	Sim	Sim	Córrego
cruci-3	Sim	Sim	Sim	Córrego
ita-1	Não	Sim	Sim	Córrego
ita-2	Sim	Sim	Sim	Córrego
ita-3	Sim	Sim	Sim	Córrego
ita-4	Sim	Sim	Sim	Córrego
ita-5	Sim	Sim	Sim	Córrego
cruci-4	Sim	Sim	Sim	Brejo
cruci-5	Não	Não	Não	Lagoa e Brejo
rio-1	Sim	Sim	Sim	Lagoa
peleo-1	Sim	Sim	Sim	Lagoa
lsanta-1	Sim	Sim	Sim	Lagoa
peleo-2	Sim	Sim	Sim	Lagoa
peleo-3	Não	Não	Não	Lagoa
rio-2	Sim	Sim	Sim	Lagoa
rio-3	Sim	Sim	Sim	Lagoa
bruma-1	Não	Não	Sim	Lagoa
bruma-2	Não	Não	Não	Lagoa

cruci: Crucilândia; caju: Carmo do Cajuru; ita: Itaguara; rio: Rio Manso; peleo: Pedro Leopoldo; lsanta: Lagoa Santa; bruma: Brumadinho

Fonte: Do próprio autor

Figura 11: 11 A, 11 B e 11 C - Gêneros e espécie de plantas associadas aos criadouros naturais de limnédeos

11 A: *Brachiaria decumbens*



Fonte: Do próprio autor

11 B: *Eichhornia* sp.



Fonte: Do próprio autor

11 C: *Juncus* sp.



Fonte: Do próprio autor

A Tabela 12 mostra o tipo de solo associado aos criadouros naturais de limnédeos, juntamente com a finalidade dos animais criados nas propriedades rurais e a presença de *F. hepatica*. Equinos não foram citados na tabela pois sua finalidade não englobava produção de carne ou leite. Na Figura 12 observa-se destacado nas setas, limnédeos associados concomitantemente ao solo, vegetação e água que podem estar sendo utilizados como fonte de alimentação. Seguindo a mesma premissa na Figura 13 observa-se destacado nas setas, limnédeos associados às fezes de animais.

A presença do parasito foi confirmada na maioria dos locais visitados (75%), com os casos de bovinos, bubalinos e equinos parasitados. Apenas nos locais identificados como caju-1, ita-1, cruci-4, cruci-5, lsanta-1 não foram encontrados animais positivos para *F. hepatica* (Tabela 12).

Tabela 12: Tipo de solo, finalidade dos rebanhos de animais e detecção de *F. hepatica* nos animais onde as amostras de água foram coletadas

Identif. do local	Tipo de solo				Finalidade do rebanho de animais		
	Argiloso	Arenoso	Rico em mat. Orgânica	Solo pisoteado	Corte	Leite	Presença de <i>F. hepatica</i>
cruci-1	Não	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
caju-1	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Não
cruci-2	Não	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
cruci-3	Não	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
ita-1	Não	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Não
ita-2	Não	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
ita-3	Não	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
ita-4	Não	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
ita-5	Não	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
cruci-4	Sim	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Não
cruci-5	Sim	Não	Sim	Não	Não	Sim	Não
rio-1	Sim	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
peleo-1	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
lsanta-1	Sim	Não	Sim	Sim	Não	Não	Não
peleo-2	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Sim
peleo-3	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
rio-2	Sim	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
rio-3	Sim	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
bruma-1	Não	Não	Sim	Sim	Não	Sim (búfalos também)	Sim
bruma-2	Não	Não	Sim	Sim	Não	Sim (búfalos também)	Sim

cruci: Crucilândia; caju: Carmo do Cajuru; ita: Itaguara; rio: Rio Manso; peleo: Pedro Leopoldo; lsanta: Lagoa Santa; bruma: Brumadinho

Fonte: Do próprio autor

Figura 12: Em destaque, limnéideos encontrados associados ao solo próximo às margens das coleções de água e à vegetação



Fonte: Do próprio autor

Figura 13: Em destaque, limneídeos encontrados associados às fezes de animais que eram criados nas propriedades rurais visitadas



Fonte: Do próprio autor

7 DISCUSSÃO

7.1 Aspectos gerais

A discussão apresentada nesta seção diz respeito as amostras encontradas na Mesorregião Metropolitana de Belo Horizonte e a única amostra proveniente da Mesorregião do Oeste de Minas (amostra caju-1), que se mostrou negativa para a presença de limneídeos e de *Fasciola hepatica*. Observou-se também nesse estudo que a fasciolose possui associação com as características climáticas e ambientais, além de possuir relação com a presença de hospedeiros intermediários. A dispersão dessa helmintose também é influenciada pelas mudanças climáticas e antrópicas (AFSHAN et al., 2014).

Nas fazendas visitadas observou-se que bovinos, bubalinos e equinos nascidos e criados nas propriedades estavam positivos para ovos de *F. hepatica* de acordo com Becattini (2022) e Dracz (2016). Além disso, neste trabalho observou-se a presença de moluscos limneídeos, hospedeiros intermediários desse trematódeo, bem como fatores associados a presença do parasito, descritos nos tópicos a seguir.

7.2 Associação do hospedeiro intermediário de *Fasciola hepatica* aos parâmetros físico-químicos da água e condições ambientais

As amostras de água coletadas foram de fontes naturais e perenes, não abrangendo coleções de água temporárias e/ou transitórias. Nenhuma das amostras de água passou por algum tipo de tratamento de água e todos os locais possuíam fossa séptica. No que diz respeito às variáveis ambientais, como por exemplo temperatura e pluviosidade, sabe-se que as informações disponíveis possuem limitações em sua quantificação devido a sazonalidade, quantidade de amostras, distância dos locais de coleta, dentre outros (HORSÁK, et al., 2007).

Os valores de pH estão diretamente ligados ao teor de CO₂ encontrado na água, sendo associado à atividade de fotossíntese das plantas que depende de luz e temperaturas adequadas, sendo essas características uma das causas de variações no pH em coleções de água doce (HUBENDICK, 1958). Neste trabalho observou-se que os moluscos limneídeos, toleram melhor ambientes aquáticos com um valor de pH mais básico (pH > 6), sendo que a ocorrência desses moluscos em pH com os valores inferiores é menor. Gastrópodes de água doce possuem tolerância reduzida em locais que apresentam pH baixo, sugere-se que isso ocorre devido aos ácidos presentes nesses locais degradarem suas conchas (HUNTER, 1987). Ao se tratar

especificamente de limneídeos, as informações sobre o pH são em sua maioria a respeito do solo, sobre a água os estudos são limitados a determinadas espécies, como *L. (Pseudosuccinea) columella* e *L. (Galba) truncatula* citados a seguir. Alba, et al. (2019) citam em seu estudo feito em Cuba que o fenótipo de *L. (Pseudosuccinea) columella* que é resistente à infecção por *F. hepatica* habita locais onde há menor quantidade de outras espécies de moluscos e com valores de pH entre 6 e 6,5. Os mesmos autores também citaram que valores baixos de pH interferem negativamente nessa espécie independentemente se seu fenótipo é suscetível ou não à infecção pelo parasito. Na Europa, a espécie *L. (Galba) truncatula* sobrevive melhor em pH acima de 5, em locais onde o solo é mais ácido (RONDELAUD et al., 2011). Já no estudo feito em Cuba por Cañete, et al. (2004), os autores analisaram amostras de água em que o pH variou entre 7,5 e 8,0 concluindo que essa variação não interferiu na quantidade de caramujos encontrados.

Nenhum dos resultados para dureza total analisados neste trabalho apresentou valores entre 4 e 10, o que segundo Alba et al. (2019) propicia o desenvolvimento de um fenótipo de *L. (Pseudosuccinea) columella* resistente à infecção por *F. hepatica*. Essa espécie de limneídeo foi a mais encontrada nas propriedades rurais visitadas, o que pode sugerir uma associação entre essas duas variáveis. Cañete, et al (2004) verificaram também que a temperatura e dureza total desempenham um papel importante na quantidade de limneídeos, mas os autores não souberam se os valores dessa associação eram fracos ou instáveis ou se dependiam de fatores não analisados, como a presença de plantas aquáticas associadas. A dureza total analisada apresentou resultados dentro do padrão estabelecido de potabilidade e sua importância para os moluscos que possuem conchas é devido a presença do cálcio. Seguindo essa premissa, são apresentados no próximo parágrafo as durezas de cálcio e magnésio, que se caracterizam como componentes da dureza total.

A dureza de cálcio é uma variável que pode ter importância na presença de caramujos, pois suas conchas possuem como componente o carbonato de cálcio. Apesar desse contexto, quando se trata de limneídeos não há muitas informações disponíveis. Ao se comparar os valores de dureza de cálcio com o tamanho médio das conchas, os resultados encontrados neste trabalho mostraram que não houve correlações entre essas duas variáveis. Esses resultados podem ter ocorrido devido ao número reduzido das amostras (20). Moluscos que possuem concha necessitam do cálcio para o crescimento e desenvolvimento das mesmas e a falta de cálcio pode também acarretar problemas reprodutivos (HORSÁK, et al., 2007). O cálcio geralmente pode ser encontrado na água ou no substrato que os gastrópodes utilizam para sua alimentação (SADDOZAI et al., 2013). Complementando essa informação, sugere-se que a maioria do

cálcio que é depositado nas conchas é proveniente da água onde os moluscos estão inseridos, ao invés da quantidade que está disponível na sua alimentação (HUNTER, 1987). Geralmente o pH de um ecossistema aquático que possui moluscos varia entre 6 a 8 e em um local com pH ácido (menor que 5,6), algumas espécies de gastrópodes como, *Biomphalaria glabrata* e *Biomphalaria straminea*, não conseguem realizar a deposição de cálcio necessária para a composição de suas conchas (BRASIL, 2008). Quantidades reduzidas de cálcio são suficientes para os moluscos e que quando há grandes quantidades desses animais em um local, geralmente a água tem valor de dureza de cálcio mais elevados (BRASIL, 2008). Segundo Rondelaud et al. (2011) a espécie europeia *L. (Galba) truncatula* sobrevive melhor em ambientes aquáticos com valores de dureza de cálcio mais elevados. Sobre a dureza de magnésio, este trabalho não mostrou estatísticas significativas que associasse essa variável à presença de limneídeos. Na literatura também não foram encontradas informações importantes que associam essa variável a limneídeos.

Os valores de ferro e cloreto encontrados neste trabalho possuem valores dentro dos limites suportados por gastrópodes. A presença de cloreto e de sulfato pode significar a existência de matéria orgânica de origem fecal na água das propriedades rurais analisadas, visto que ao saciarem sua sede com essa água os animais defecam próximo do local. A alimentação de moluscos é baseada em matéria orgânica presente nos lugares onde eles se estabelecem e, conforme mencionado anteriormente, os limneídeos presentes no local poderiam se alimentar dessa matéria orgânica proveniente das fezes de bovinos, bubalinos ou equinos.

Ao se analisar a alcalinidade foi percebido que seus valores estão dentro dos limites suportados por gastrópodes. Esse fato justifica a presença de moluscos, mas não foram encontradas correlações entre a quantidade dos moluscos presente nas propriedades rurais e a alcalinidade. Uma constatação interessante neste trabalho foi que a alcalinidade possui valor médio mais alto em locais onde as amostras de água foram coletadas em córregos, mas não foram encontradas justificativas para esse fato. As outras fontes de água, lagoas e brejos, apresentaram valores médios com variação pouco significativa. Kendall e McCullough (1951) mostraram que moluscos sobrevivem e toleram bem ambientes aquáticos alcalinos e Hunter (1987) complementa essa afirmação quando diz que reduções dos valores de alcalinidade nos ambientes onde moluscos estão inseridos são prejudiciais.

No que diz respeito a cor e a turbidez da água esse parâmetro pode ter vários significados como contaminações, presença de matéria orgânica, minerais dissolvidos, plâncton ou até mesmo devido aos parâmetros analisados neste trabalho (concentração de ferro por exemplo). Essas

duas variáveis também não exerceram papel importante na presença ou ausência de hospedeiros intermediários do parasito nos locais visitados. Em alguns lugares, o valor da turbidez encontrado foi menor do que o valor limite suportado por espécies de gastrópodes (*Biomphalaria* sp.), mas esse fato não se mostrou relevante na presença e na quantidade de limneídeos, talvez por alguma particularidade na fisiologia desse grupo de moluscos. A turbidez da água é um fator que causa limitação na intensidade com que a fotossíntese acontece e consequentemente causa a diminuição da produção de oxigênio, devido a baixa incidência de luz solar (HUBENDICK, 1958). Diante dessa informação, percebe-se que a turbidez pode interferir na quantidade de fitoplâncton que pode servir de alimento aos moluscos estabelecidos no local.

Seguindo outras variáveis, tanto as análises para sólidos dissolvidos totais quanto as análises para nitrato, não foram feitas observações significativas quando comparadas a quantidade de limneídeos encontrada. Os sólidos dissolvidos totais podem representar partículas de solo do fundo e/ou das margens dos corpos d'água e matéria orgânica dissolvida. A quantidade e proporção desses sólidos dissolvidos dependem de alguns fatores como a sua ocorrência nos locais de drenagem, dimensão e topografia da região, nível pluviométrico e granulometria do solo (HUBENDICK, 1958). A água que possui partículas minerais dissolvidas pode ser usada como fonte de nutrição para a vegetação aquática presente no local e nessas partículas também podem conter cálcio dissolvido, que pode ser importante para os moluscos estabelecidos nesse ambiente (HUBENDICK, 1958). Já o nitrato é um composto que pode causar alterações em plantas e uma vez que ele está presente na água será utilizado pela vegetação encontrada próxima como fonte de nutrientes. As plantas aquáticas e/ou localizadas nas bordas das coleções de água, desempenham papel fundamental no ciclo de *F. hepatica*. Em locais com níveis elevados de nitrato, as plantas podem absorver e consequentemente causar uma condição denominada clorose, onde ocorre a deficiência de ferro devido a sua má absorção (SMOLDERS et al., 1997). *Juncus acutiflorus* é uma das espécies englobada por um dos gêneros de plantas encontradas neste estudo, sendo considerada uma espécie que possui absorção ineficiente de ferro, portanto, na presença de altas concentrações de nitrato, a clorose pode ser induzida (SMOLDERS et al., 1997). O nitrato também exerce papel importante na alimentação dos moluscos, pois é um nutriente de extrema importância para o plâncton que os caramujos utilizam em sua alimentação (BRASIL, 2008).

Ao se considerar fatores climáticos, observou-se que temperaturas com valores entre 17 e 22° C influenciaram no aumento da quantidade de moluscos encontrados no ambiente. Isso pode

ser devido a redução da pluviosidade que ocorre no inverno e outono, período seco do ano em Minas Gerais, fazendo com que a concentração de caramujos aumentasse, pois não há chuvas para carregá-los nas enchentes para outros locais através do aumento da vazão das águas. Coelho (2001) observou um padrão semelhante em Itajubá, onde ocorria uma diminuição na quantidade de *L. (Pseudosuccinea) columella* durante o período chuvoso e um aumento durante o período seco. Os dados pluviométricos e de temperatura média, confirmam essas afirmações, mas também pode ser visto que em temperaturas mais altas a quantidade de moluscos não é tão reduzida e mantém-se alta.

A quantidade de limneídeos é maior no período seco do que no período chuvoso, podendo significar que esses caramujos aproveitaram esse período para a reprodução, conforme observações realizadas no LabHelVet (ICB/UFMG), onde foram observadas desovas. Essas observações confirmam que após quatro semanas de eclosão, limneídeos isolados de Minas Gerais, mais especificamente das regiões de Pedro Leopoldo e Itajubá, já atingiram 5 mm tamanho considerado de maior suscetibilidade a infecção por *F. hepatica* (dados não publicados do LabHelVet ICB/UFMG). Já os dados de época do ano, chuvoso ou seco, sugerem não interferir no tamanho das conchas dos limneídeos presentes nos dados amostrais analisados. No entanto vale ressaltar que a coleta no período chuvoso ocorreu 30 dias após a última coleta do período seco, ou seja, logo após a primeira chuva em um período ainda da primavera. Uma observação importante sobre a localidade de coleta das amostras utilizadas nesse estudo, é a maior quantidade de limneídeos encontrados em áreas caracterizados como lagoas. Elas possuem águas mais paradas e com nível de correnteza reduzido fazendo com que um maior número desses caramujos possa se estabelecer e se reproduzir. Quando os níveis de pluviosidade aumentam, não há formação de correntezas que levam os caramujos a outras localidades, mantendo-os no mesmo ambiente. O mesmo não pode ser observado em córregos que possuem uma vazão maior de água ou em brejos, que apresentam períodos de dessecação durante as estações secas (outono/inverno). A quantidade de moluscos encontrados nessas localidades é muito menor (10%) ao se comparar com as lagoas (90%).

As informações que associam limneídeos à temperatura e ao período do ano são relevantes devido a importância exercida por esse grupo de moluscos no ciclo de *F. hepatica*. O Brasil é caracterizado por ser um país de temperaturas elevadas e com períodos chuvosos nas estações mais quentes, mas independente desses fatos existem focos de *F. hepatica* durante o ano todo. Um estudo feito em Santa Catarina por Silva et al. (2020) mostra que houve uma distribuição bem dispersa da fasciolose no decorrer das estações do ano, pois as condições climáticas locais

foram propícias ao desenvolvimento do parasito. Além disso, os mesmos autores defenderam que as temperaturas elevadas e a umidade promovem condições adequadas ao desenvolvimento dos limneídeos. Outro trabalho que também destaca as mesmas observações no país é o de Dracz e Lima (2014), onde é dito que temperaturas e umidade elevadas juntamente com níveis de precipitação adequadas propiciam um ambiente adequado aos hospedeiros intermediários.

Em trabalhos feitos fora do Brasil, Mas-Coma et al. (2018), com seu estudo feito na América do Sul, traz que globalmente a transmissão da fasciolose pode ocorrer de forma permanente no ano, monosazonal ou bisazonal. Nas localidades onde as temperaturas médias mensais variam pouco, fazendo com que o desenvolvimento larval se mantenha nos limites máximos e mínimos e há coleções de água permanentes onde são encontrados limneídeos, ocorre a transmissão permanente no ano (VALERO et al., 1998; MAS-COMA et al., 2018). Os outros dois tipos de transmissão ocorrem quando os moluscos possuem a capacidade de reprodução rápida em coleções de água temporárias e de hibernação durante os períodos que não são adequados ao seu desenvolvimento (ROSS, 1977; AFSHAN et al., 2014; MAS-COMA et al., 2018). A transmissão monosazonal, que ocorre na Patagônia por exemplo, acontece em altitudes extremas onde ocorre apenas um pequeno período de temperatura propícia aos limneídeos, sendo comum em locais mais frios ao norte ou ao sul do planeta (AFSHAN et al., 2014; MAS-COMA et al., 2018). Já a bisazonal, que ocorre nos Estados Unidos, Europa e Austrália, é caracterizada por uma baixa transmissão na primavera em contrapartida de uma alta transmissão no outono, com alta incidência de animais em agosto e setembro indo até dezembro a fevereiro, sendo que a situação se inverte em locais onde a maior incidência ocorre no primeiro semestre do ano (ROSS, 1977; MAS-COMA et al., 2018). Mas essa sazonalidade da parasitose pode ser modificada por manejo de irrigação em plantações e lagos/lagoas artificiais (MAS-COMA et al., 2018). Seguindo a mesma premissa, Mas-Coma et al., (2009) também mostraram a existência da influência das alterações de pluviosidade e da temperatura em *F. hepatica* e em seus hospedeiros intermediários. Howel, et al, (2015) relataram que as condições climáticas e ambientais são determinantes para as populações de limneídeos, mas o contato das metacercárias com os hospedeiros definitivos dependem de outros fatores mais abrangentes, como o manejo dos rebanhos e a presença de limneídeos no ambiente por exemplo. Diante dessas informações, as condições meteorológicas e geográficas podem promover a transmissão de *F. hepatica* a nível regional, mas fatores epidemiológicos potencializam o risco a nível de local individual (KNUBBEN-SCHWEISER e TORGERSON, 2015). A nível de espécie de hospedeiro intermediário, em seu estudo feito em Cuba, Cañete et al., (2004) mostraram que

estações secas ou chuvosas não favoreceram positivamente ou negativamente as espécies *L. (Pseudosuccinea) columella* e *Fossaria cubensis*. Apesar dessa observação feita por esses autores, o presente estudo mostrou a interferência positiva que o período seco exerce nas populações de moluscos limneídeos.

Sobre variáveis geográficas, neste trabalho não foram encontradas correlações entre elas e a presença e/ou ausência tanto de limneídeos quanto de *F. hepatica*. Isso pode ter ocorrido devido a variação dos valores de altitude entre os municípios avaliados não serem muito discrepantes, não permitindo observações conclusivas. Outra possibilidade seria que a altitude esteja ligada a alguma outra variável para que exerça papel importante na presença de limneídeos. Afshan et al. (2014) mostraram em seu estudo que os fatores que exercem influência na transmissibilidade de *F. hepatica* como a temperatura, a pluviosidade e a umidade variam conforme a altitude. Para a espécie de limneídeo *L. (Galba) truncatula*, Rondelaud et al. (2011) e Dreyfuss et al., (2018) relataram que a altitude exerce um papel importante no ambiente, mas esse papel é limitado sendo associado à temperatura local e outras condições climáticas. Embora Silva et al., (2020) ter utilizado somente dados de fígados condenados em abate, os autores sugerem que nacionalmente a altitude pode influenciar na prevalência de *F. hepatica* quando está relacionada com as temperaturas a nível local. Dutra et al. (2010) utilizando dados do SIF, mostraram em seu estudo feito na região sul do Brasil que as localidades com baixas altitudes, de até 154 m, são mais propensas à infecção por *F. hepatica*. Já Alves et al. (2011), verificaram em seu trabalho que a altitude não teve relação com os casos positivos de *F. hepatica* observados em propriedades rurais no sul do Espírito Santo. Portanto, a altitude pode ser uma variável que realmente não interfere de forma isolada na presença de limneídeos e de *F. hepatica*.

7.3 Associação de *Fasciola hepatica* aos seus hospedeiros intermediários e aos seus hospedeiros definitivos

A existência de limneídeos é imprescindível para que a incidência do parasito seja confirmada, pois ao se encontrar hospedeiros intermediários no local, o ciclo do parasito pode se tornar bem estabelecido.

Em uma das propriedades rurais amostradas (ita-4 e ita-5 que são da mesma propriedade, mas coletadas em pontos diferentes) houve detecção positiva para *F. hepatica* em animais nascidos e residentes na propriedade, mas não foi encontrado o hospedeiro intermediário. Tais informações sugerem que as coletas ocorreram em áreas do curso d'água onde não havia

limneídeos. Em investigação posterior descobriu-se que o mesmo proprietário possuía também uma fazenda em Rio Manso (que foi visitada e identificada como rio-1) e que realizava o transporte de animais de uma propriedade para a outra. Na propriedade rio-1 a positividade para *F. hepatica* foi confirmada.

No Brasil há focos espalhados nas diferentes regiões do país e isso contribui para que a disseminação do parasito ocorra de maneira mais eficaz, principalmente se houver o encontro do parasito com seus hospedeiros intermediários. Dracz e Lima (2014) confirmaram essas afirmações ao enfatizarem que no país a dispersão da fasciolose acontece devido ao comércio e transferência de animais infectados de locais onde ocorrem casos da parasitose para locais onde *F. hepatica* ainda não tem seu ciclo estabelecido. Os autores ainda citam a importância de condições epidemiológicas favoráveis, como a presença de hospedeiro intermediários, o que também foi defendido por Coelho et al. (2009).

A maioria dos animais das fazendas eram mantidos com o objetivo de produção de leite (90%) e sua minoria para corte (10%). É importante ressaltar sobre o solo pisoteado, onde quase a totalidade dos locais apresentou essa característica próximo às coleções de água, indicando que os animais utilizavam a água e conseqüentemente a vegetação próxima, para consumo. A matéria orgânica presente nas fezes depositadas próximo a água pode ser utilizada como alimento pelos limneídeos encontrados no local, uma vez que a alimentação desses moluscos é baseada em matéria orgânica (AMORIM, et al., 2019). Essas observações feitas são importantes no ciclo de *F. hepatica*, pois se houver a presença limneídeos pode haver a presença de metacercárias encistadas na vegetação, então o ciclo do parasito pode se completar (FERREIRA, 2019). A positividade dos animais para *F. hepatica* nascidos e criados nas propriedades rurais visitadas foi confirmada nesse trabalho.

Nas propriedades rurais visitadas foi observado que os animais, independentemente de sua finalidade (corte ou leite) inclusive os equinos, eram criados da mesma forma não havendo distinções, sendo colocados livres nas pastagens onde consumiam a vegetação e água encontradas no local. Devido a essas condições a probabilidade de haver discrepâncias na disponibilidade de acesso à vegetação com possíveis metacercárias de *F. hepatica* é baixa.

7.4 Associação de *Fasciola hepatica* e de seus hospedeiros intermediários à vegetação

A vegetação submersa pode se apresentar flutuante ou enraizada próximo aos corpos d'água, com partes que alcançam acima da superfície (HUBENDICK, 1958). A vegetação associada à água que os animais utilizam para saciar sua sede exerce papel fundamental no ciclo de *F.*

hepatica. As cercárias ao emergirem dos limneídeos vão de encontro à vegetação, onde se encistam em metacercárias e permanecem até eventualmente serem ingeridas por seus hospedeiros definitivos. De acordo com trabalhos de campo e em laboratórios observou-se que as cercárias podem não ter preferência por algum tipo de vegetação, se tornando dependentes da ecologia dos limneídeos presentes no local. Nos locais visitados foram encontrados predominantemente dois gêneros de vegetação, sendo eles *Eichhornia*, *Juncus* e a espécie *Brachiaria decumbens*, havendo uma predominância desses tipos de vegetação encontrada de modo geral em cada propriedade rural.

Ao associar a presença de *F. hepatica* aos gêneros das plantas coletadas não houve observações significativas, o que pode indicar que não há necessariamente uma especificidade de vegetação por parte das metacercárias de *F. hepatica*. Ao se levar em consideração os limneídeos, também não há especificidade por parte deles com a vegetação. A presença e ausência de cada gênero de planta teve diferenças muito pequenas, 75% dos locais havia *Eichhornia*, 80% dos locais havia *Juncus* e 85% dos locais havia *B. decumbens*, e ao se comparar com a presença de limneídeos não são encontradas correlações. Para esses moluscos a vegetação encontrada às margens das coleções de água possuem papel na sobrevivência e na alimentação, uma vez que eles são encontrados associados a elas, onde podem permanecer próximos ao solo e à água ao mesmo tempo. Paraense (1986) relatou em seu trabalho no Brasil que a vegetação aquática, no caso um dos gêneros predominantes era *Eichhornia*, contribuía para a sobrevivência e permanência de moluscos no local. Também em território nacional, Coelho e Lima (2003) e Lima, et al. (2009) encontraram a espécie *L. (Pseudosuccinea) columella* associada às vegetações aquáticas *Eichhornia azurea* e *Heteranthera reniformis*. Além disso, os mesmos autores encontraram ovos da mesma espécie de limneídeo associados à essas plantas e a *Brachiaria decumbens*. Na Europa a espécie de limneídeo *L. (Galba) truncatula*, mesmo não apresentando ligação direta com a vegetação, possui algumas espécies de plantas que são mais citadas como seus potenciais marcadores como *Glyceria fluitans*, *Glyceria plicata*, *Alopecurus geniculastus*, *Ranunculus repens*, *Veronica beccabunga*, *Glyceria declinata*, *Juncus inflexus*, *Ranunculus repens*, *Juncus gerardii*, *Glaux marítima*, *Ranunculus flammula*. *Juncus acutiflorus* e *Juncus effusus* (MAS-COMA et al., 2018). Rondelaud et al. (2011) encontraram em seu estudo que a espécie *L. (Galba) truncatula* estava principalmente mais associada às plantas *J. acutiflorus*, *J. effusus* e *G. fluitans*.

8 CONCLUSÕES

- Observou-se a que os fatores físico-químicos da água das mesorregiões estudadas, principalmente pH, dureza de cálcio e alcalinidade, podem exercer importância na ocorrência de limneídeos no ambiente;
- Valores de pH acima de 6 foram os mais adequados para a presença de limneídeos no ambiente aquático analisado;
- Os períodos secos do ano possuem ligação com o tamanho médio das conchas e a quantidade de limneídeos no ambiente;
- A maior quantidade de limneídeos foi encontrada nas margens de lagoas, seguida das margens de córregos;
- Verificou-se que temperaturas com valores entre 17 e 22° C influenciaram no aumento da quantidade de moluscos encontrados no ambiente;
- A espécie *Brachiaria decumbens* foi a vegetação mais encontrada nas proximidades dos criadouros naturais de limneídeos das propriedades rurais visitadas, seguidos pelos gêneros *Eichhornia* e *Juncus*;
- Observou-se através da morfologia das conchas que os limneídeos encontrados são da espécie *L. (Pseudosuccinea) columella*;
- Nenhum limneídeo encontrado nas propriedades rurais visitadas apresentou positividade para *F. hepatica*;
- Os padrões físico-químicos da água analisados como ferro, cloreto e turbidez, estão dentro dos padrões de normalidade suportados por gastrópodes;
- Os padrões de sulfato e cloreto estão dentro das características observadas para os ambientes aquáticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFSHAN, K.; FORTES-LIMA, C. A.; ARTIGAS, P.; VALERO, A. M.; QAYYUM, M.; MAS-COMA, S. Impact of climate change and man-made irrigation systems on the transmission risk, long-term trend and seasonality of human and animal fascioliasis in Pakistan. **Geospatial Health**, vol. 8, n, 2, p. 317-334, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4081/gh.2014.22>. Acesso em: 21/01/2023.

ALBA, A.; TETREAU, G.; CHAPARRO, C.; SÁNCHEZ, J.; VÁSQUEZ, A. A.; GOURBAL, B. Natural resistance to *Fasciola hepatica* (Trematoda) in *Pseudosuccinea columella* snails: A review from literature and insights from comparative “omic” analyses. **Developmental & Comparative Immunology**, vol. 101, dez. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.dci.2019.103463>. Acesso em: 02/11/2022.

ALBUQUERQUE, R. B. F.; PEREIRA, S. A.; MELO, S. N.; BELO, V. S.; ARRUDA, M. M.; MAZETTO, D.; FIGUEIREDO, F. B. Spatial distribution analysis of bovine fascioliasis cases recorded in an abattoir in the state of Santa Catarina, Brazil. **Ciência Rural**, vol. 52, n. 3, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20210030>. Acesso em: 20/02/2023.

ALEIXO, M. A.; FREITAS, D. F.; DUTRA, L. H.; MALONE, J.; MARTINS, I. V. F.; MOLENTO, M. B. *Fasciola hepatica*: epidemiology, perspectives in the diagnostic and the use of geoprocessing systems for prevalence studies. **Semina Ciências Agrárias**, vol. 36, p. 1451-1466, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n3p1451>. Acesso em: 16/03/2023.

ALVES, D. P.; CARNEIRO, M. B.; MARTINS, I. V. F.; BERNARDO, C. C.; DONATELE, D. M.; PEREIRAJUNIOR, 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. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, vol. 17, n. 3, p. 271-276, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1678-91992011000300006>. Acesso em: 25/01/2011.

ALVES, R. M.; VAN RESBURG, L. J.; VAN WYK, J. A.; *Fasciola* in horses in the Republic of South Africa: a single natural case of *Fasciola hepatica* and the failure to infest ten horses either with *F. hepatica* or *Fasciola gigantica*. **The Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, vol. 55, n. 3, p. 157-163, set, 1988. Disponível em: <https://repository.up.ac.za/handle/2263/42378>. Acesso em: 14/02/2023.

AMORIM, J.; ABREU, I.; RODRIGUES, P.; PEIXOTO, D.; PINHEIRO, C.; SARAIVA, A., CARVALHO, A. P.; GUIMARÃES, L.; OLIVA-TELES, L. *Lymnaea stagnalis* as a freshwater model invertebrate for ecotoxicological studies. **Science of the Total Environment**, vol. 669, n. 2, p. 11-28, jun. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.035>. Acesso em: 12/01/2022.

AQUINO, F. M.; SOARES, V. E.; ROSSI, G. A. M.; NICARETTA, J. E.; BASTOS, T. S. A.; CRUVINEL, L. B.; COUTO, L. F. M.; CAVALCANTE, A. S. A.; FELIPPELLI, G.; CRUZ, B. C.; MACIEL, W. G.; GOMES, L. V. C.; LOPES, W. D. Z. Prevalence of bovine

fascioliasis, areas at risk and ensuing losses in the state of Goiás, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, vol. 27, n. 2, p. 123-130, abr-jun. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1984-296120180024>. Acesso em: 16/02/2023.

ASHRAFI, K.; VALERO, M. A.; PEIXOTO, R. V.; ARTIGAS, P.; PANOVA, M.; MAS-COMA, S. Distribution of *Fasciola hepatica* and *F. gigantica* in the endemic área of Guilan, Iran: Relationships between zonal overlap and phenotypic traits. **Infection Genetics and Evolution**, vol. 31, p. 95-109, abr. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.01.009>. Acesso em: 21/31/3023.

BECATTINI, R. M. **Levantamento epidemiológico de *Fasciola hepatica* em bovinos na mesorregião metropolitana de Belo Horizonte**. Orientador: Walter dos Santos Lima. 2022. 77 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2022.

BEESELEY, N. J.; CAMINADE, C.; CHARLIER, J.; FLYNN, R. J.; HODGKINSON, J. E.; MARTINEZ-MORENO, A.; MARTINEZ-VALLADARES, M.; PEREZ, J.; RINALDI, R.; WILLIAMS, D. J. L. *Fasciola* and fasciolosis in ruminants in Europe: identifying research needs. **Transboundary and Emerging Diseases**, vol. 65, p. 199-219, mai. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/tbed.12682>. Acesso em: 21/02/2022.

BENNEMA, S. C.; SCHOLTE, R. G. C.; MOLENTO, M. B.; MEDEIROS, C.; CARVALHO, O. S. *Fasciola hepatica* in bovines in Brazil: data availability and spatial distribution. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, vol. 56, n. 1, p. 35-41, jan-fev. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0036-46652014000100005>. Acesso em: 23/02/2022.

BIDONE, N. B.; GONÇALVES, A. P.; BREMM, C.; GIROTTO, A. F.; SOARES, A. G.; SANTOS, P.; PINTO, A. T.; SOARES, J. F. Slaughter condemnation in bovine due to parasitic lesions and their economic impact in Federal Inspection System establishments in Brazil and in State inspection System in Rio Grande do Sul State. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, vol. 30, n. 1, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1984-296120201079>. Acesso em: 19/02/2023.

BORAY, J. C. The potential impact of exotic *Lymnaea* spp. on fascioliasis in Australasia. **Veterinary Parasitology**, vol. 4, n. 2, p. 127-141, jun. 1968. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(78\)90004-3](https://doi.org/10.1016/0304-4017(78)90004-3). Acesso em: 15/02/2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de vigilância, prevenção e controle de zoonoses: normas técnicas e operacionais [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – **Brasília: Ministério da Saúde**, 2016. Disponível em: https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_prevencao_controle_zoonoses.pdf. Acesso em: 24/03/2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica: diretrizes técnicas: **Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE) / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde**, Departamento de Vigilância

Epidemiológica. – **Brasília: Editora do Ministério da Saúde**, 2º edição (Série A. Normas e Manuais Técnicos), 2008. Disponível em: [Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica – Diretrizes técnicas – Portal da Vigilância em Saúde \(saude.mg.gov.br\)](http://vigilanciaecontrolede.moluscos.de.importancia.epidemiologica-diretrizes-tecnicas-portal-da-vigilancia-em-saude.saude.mg.gov.br). Acesso em: 27/01/2023.

BRASIL. Portaria GM/MS Nº 888, de 4 de maio de 2021. Altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS nº 5, de 28 de setembro de 2017, para dispor sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, D.F., 2021. Disponível em: [Ministerio da Saude \(saude.gov.br\)](http://ministerio-da-saude.saude.gov.br). Acesso em: 27/01/2023.

CALVANI, N. E. D.; SLAPETA, J. *Fasciola* species introgression: just a fluke or something more? **Trends in Parasitology**, vol. 37, n. 1, p. 25-34, jan. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.09.008>. Acesso em: 16/02/2022.

CAÑETE, R.; YONG, M.; SÁNCHEZ, J.; WONG, L.; GUTIÉRREZ, A. population dynamics of intermediate snail hosts of *Fasciola hepatica* and some environmental factors in San Juan y Martinez Municipality, Cuba. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, vol. 99, n. 3, p. 257-262, mai. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762004000300003>. Acesso em: 18/11/2022.

CARMONA, C.; TORT, J. F. Fasciolosis in South America: epidemiology and control challenges. **Journal of Helminthology**, vol. 91, n. 2, p. 99-109, set, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0022149X16000560>. Acesso em: 19/11/2022.

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo / Apêndice C: Significado ambiental e sanitário das variáveis de qualidade das águas e dos sedimentos e metodologias analíticas e de amostragem. **Relatório**. São Paulo, 2022. Recurso eletrônico. Disponível em: [Publicações e Relatórios | Águas Interiores \(cetesb.sp.gov.br\)](http://publicacoes.e-relatorios-aguas-interiores.cetesb.sp.gov.br). Acesso em: 31/01/2023.

COELHO, L. H. L.; GUIMARÃES, M. P.; LIMA, W. S. Influence of shell size of *Lymnaea columella* on infectivity and development of *Fasciola hepatica*. **Journal of Helminthology**, vol. 82, n. 1, p. 77-80, mar. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0022149X08873579>. Acesso em: 14/02/2023.

COELHO, L. H. L.; LIMA, W. S.; GUIMARÃES, M. P. Sympatric and allopatric combinations of *Lymnaea columella* and *Fasciola hepatica* from southern and south-eastern Brazil. **Journal of Helminthology**, vol. 83, vol. 3, p. 285-288, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0022149X09222930>. Acesso em: 26/01/2023.

COELHO, L. H. L.; LIMA, W. S. Population dynamics of *Lymnaea columella* and its natural infection by *Fasciola hepatica* in the State of Minas Gerais, Brazil. **Journal of Helminthology**, vol. 77, n. 1, p. 7-10, mar. 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1079/JOH2002138>. Acesso em: 12/05/2022.

COELHO, L. H. L. **Variação populacional e dinâmica de infecções de *Lymnaea columella* por *Fasciola hepatica* no município de Itajubá, MG**. Orientador: Walter dos Santos Lima. 2001. 66f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2001.

CORREA, A. C.; ESCOBAR, J. S.; DURAND, P.; RENAUD, F.; DAVID, P.; JARNE, P.; POINTIER, J. P.; HURTREZ-BOUSSÈS, S. Bridging gaps in the molecular phylogeny of the Lymnaeidae (Gastropoda: Pulmonata), vectors of fascioliasis. **BMC Evolutionary Biology**, vol. 10, dez. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-381>. Acesso em: 21/01/2022.

COSTIL, K.; CLEMENT, B. Relationship between freshwater gastropods and plant communities reflecting various trophic levels. **Hydrobiologia**, vol. 321, p. 7-16, mar. 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00018672>. Acesso em: 30/01/2023.

CWIKLINSKI, K.; JEWURST, H.; McVEIGH, P.; BARBOUR, T.; MAULE, A. G.; TORT, J.; O'NEILL, S. O.; ROBINSON, M. W.; DONNELLY, S.; DALTON, J. P. Infection by the helminth parasite *Fasciola hepatica* requires rapid regulation of metabolic, virulence, and invasive factors to adjust to its mammalian host. **Molecular & Cellular Proteomics**, vol. 17, n. 4, p. 792-809, abr. 2018. Disponível em: [10.1074/mcp.RA117.000445](https://doi.org/10.1074/mcp.RA117.000445). Acesso em: 25/01/2022.

CWIKLINSKI, K.; ROBINSON, M. W.; DONNELLY, S.; DALTON, J. P. Complementary transcriptomic and proteomic analyses reveal the cellular and molecular processes that drive growth and development of *Fasciola hepatica* in the host liver. **BMC Genomics**, vol. 22, jan. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12864-020-07326-y>. Acesso em: 14/02/2022.

DAWES, B. Elucidation of the life-cycle of *Fasciola hepatica*. **Nature**, vol. 185, p. 331-332, 1960. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/185331b0>. Acesso em: 11/02/2023.

DAWES, B.; HUGUES, D. L.; Fascioliasis: The Invasive Stages of *Fasciola hepatica* in Mammalian Hosts. **Advances in Parasitology**, vol. 2, p. 97-168, 1964. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)60587-4](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60587-4). Acesso em: 14/02/2023.

DIXON, K. E. The physiology of excystment of the metacercaria of *Fasciola hepatica* L. **Parasitology**, vol. 56, n. 3, p. 431-456, ago. 1966. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0031182000068931>. Acesso em: 13/12/2023.

DRACZ, R. M. **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**. Orientador: Walter dos Santos Lima. 2016. 173 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1843/BUBD-AP7NCT>. Acesso em: 12/02/2023.

DRACZ, R. M., RIBEIRO, V. M. A.; PEREIRA, C. A. J.; LIMA, W. S. Occurrence of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) in capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) (Linnaeus, 1766) in Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, vol. 25, n. 3, p. 364-367, jul-set. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612016021>. Acesso em: 13/01/2022.

DRACZ, R. M.; LIMA, W. S. Autochthonous infection of buffaloes and cattle by *Fasciola hepatica* in Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, vol. 23,

n. 3, p. 413-416, jul-set. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612014054>. Acesso em: 22/02/2022.

DREYFUSS, G.; VIGNOLES, P.; RONDELAUD, D. Relationships between the distribution of *Galba truncatula* (Gastropoda: Lymnaeidae) climatic conditions and the altitude of municipalities in Haute Vienne (France). **Ann. Limnol. - International Journal of Limnology**, vol. 54, abr. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1051/limn/2018010>. Acesso em: 20/10/2022.

DUTRA, L. H.; MOLENTO, M. B.; NAUMANN, C. R. C.; BIONDO, A. W.; FORTES, F. S.; SAVIO, D.; MALONE, J. B. Mapping risk of bovine fasciolosis in the south of Brazil using Geographic Information Systems. **Veterinary Parasitology**, vol. 169, n. 1-2, p. 76-81, abr. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.12.015>. Acesso em: 20/02/2023.

ESTEBAN, J. G.; GONZÁLEZ, C.; BARGUES, M. D.; ÂNGULOS, R.; SÁNCHEZ, C.; NÁQUIRA, S.; MAS-COMA, S. High fascioliasis infection in children linked to a man-made irrigation zone in Peru. **Tropical Medicine & International Health**, vol. 7, n. 4, p. 339-348, abr. 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.2002.00870.x>. Acesso em: 14/02/2002.

FERREIRA, A. P. P. N.; COSTA, A. L. O.; BECATTINI, R. M.; FERREIRA, M. A. N. D.; PAIXÃO, H. P. R.; COSCARELLI, D.; VIDIGAL, T. H. D. A.; LIMA, W. S.; PEREIRA, C. A. J. Integrative taxonomy: combining molecular and morphological characteristics to identify *Lymnaea (Galba) cubensis*, intermediate host of *Fasciola hepatica*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, vol. 30, n. 2, abr. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612021052>. Acesso em: 14/01/2022.

FERREIRA, A. P. P. N. **Suscetibilidade de *Galba cubensis* (Pfeiffer, 1839), proveniente de Lagoa Santa – MG, infectado por *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) em condições experimentais.** Orientador: Cintia Aparecida de Jesus Pereira. 2019. 75 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019. Disponível em: [Programa de Pós-Graduação em Parasitologia - UFMG](#). Acesso em: 01/03/2022.

HORSÁK, M.; HÁJEK, M.; TICHÝ, L.; JURICKOVÁ, L. Plant indicator values as a tool for land mollusc autecology assessment. **Acta Oecologica**, vol. 32, n. 2, p. 161-171, set.-out. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.actao.2007.03.011>. Acesso em: 17/10/2022.

HOWELL, A.; BAYLIS, M.; SMITH, R.; PINCHBECK, G.; WILLIAMS, D. Epidemiology and impact of *Fasciola hepatica* exposure in high-yielding dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, vol. 121, p. 41-48; set, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.05.013>. Acesso em: 14/11/2022.

HOWELL, A. K.; MALALANA, F.; BEESLEY, N. J.; HODGKINSON, J. E.; RHODES, H.; SEKIYA, M.; ARCHER, D.; CLOUGH, H. E.; GILMORE, P.; WILLIAMS, D. J. L. *Fasciola hepatica* in UK horses. **Equine Veterinary Journal**, vol. 52, n. 2, p. 194-199, mar. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/evj.13149>. Acesso em: 14/02/2023.

HUBENDICK, B. Factors conditioning the habitat of freshwater snails. **Bulletin of the World Health Organization**, vol. 18, n. 5-6, p. 1072 – 1080, 1958. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/265523>. Acesso em: 03/04/2023.

HUNTER, R. D. Effects of acid water on shells, embryos, and juvenile survival of *Planorbella trivolvis* (Gastropoda: Pulmonata): a laboratory study. **Journal of Freshwater Ecology**, vol. 4, n. 3, p. 315-327, jun. 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/02705060.1988.9665181>. Acesso em: 02/04/2022.

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia (BR). Disponível em: [Instituto Nacional de Meteorologia - INMET](http://www.inmet.gov.br).

JOHN, B. C.; DAVIES, D. R.; HOWELL, A. K.; WILLIAMS, D. J. L.; HODGKINSON, J. E. Anaerobic fermentation results in loss of viability of *Fasciola hepatica* metacercariae in grass silage. **Veterinary Parasitology**, vol. 285, set. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109218>. Acesso em: 25/01/2022.

JOHN, B. C.; DAVIES, D. R.; WILLIAMS, D. J. L.; HODGKINSON, J. E. A review of our current understanding of parasite survival in silage and stored forages, with a focus on *Fasciola hepatica* metacercariae. **Grass and Forage Science**, vol. 74, n. 2, p. 211-217, jun. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/gfs.12429>. Acesso em: 13/11/2022.

KAPLAN, R. M. *Fasciola hepatica*: A review of the economic impact in cattle and considerations for control. **Veterinary Therapeutics**, vol. 2, n. 1, p. 40-50, winter 2001. Disponível em: [Fasciola hepatica: a review of the economic impact in cattle and considerations for control - PubMed \(nih.gov\)](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11588888/). Acesso em: 06/11/2022.

KENDALL, S. B.; McCULLOUGH. The emergence of the cercariae of *Fasciola hepatica* from the snail *Limnaea truncatula*. **Journal of Helminthology**, vol. 25, n. 1-2, p. 77-92, 1951. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0022149X0001899X>. Acesso em: 24/01/2023.

KENDALL, S. B. Relationships between the species of *Fasciola* and their molluscan hosts. **Advances in Parasitology**, vol. 8, p. 251-258, 1970. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)60256-0](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60256-0). Acesso em: 27/07/2022.

KNUBBEN-SCHWEISER, G.; TORGERSON, P. R. Bovine fasciolosis: Control strategies based on the location of *Galba truncatula* habitats on farms. **Veterinary Parasitology**, vol. 208, ed. 1-2, p. 77-83, fev. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.12.019>. Acesso em: 17/11/2022.

KOCK, K. N.; WOLMARANS, C. T.; BORNMAN, M. Distribution and habitats of the snail *Limnaea truncatula*, intermediate host of the liver fluke *Fasciola hepatica*, in South Africa. **Journal of the South African Veterinary Association**, vol. 74, n. 4, p. 117-122, dez. 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.4102/jsava.v74i4.523>. Acesso em: 20/10/2022.

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

30, abr.-jun. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.4322/rbpv.01802006>. Acesso em: 12/05/2022.

LLOYD, G. M. Energy metabolism and its regulation in the adult liver fluke *Fasciola hepatica*. **Parasitology**, vol. 93, n. 1, p. 217-248, ago. 1986. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0031182000049957>. Acesso em: 14/02/2023.

MARÇAL, S. F.; CALLIL, C. T. Composição e distribuição de conchas de moluscos límnicos no Parque SESC Baía das Pedras, Pantanal de Poconé, Mato Grosso. **Revista Brasileira de Zoociências**, vol. 18, n. 1, p. 21-40, jan. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.34019/2596-3325.2017.v18.24578>. Acesso em: 15/05/2022.

MAS-COMA, S.; BARGUES, M. D.; VALERO, M. A.; Human fascioliasis infection sources, their diversity, incidence factors, analytical methods and prevention measures. **Parasitology**, vol. 145, p. 1665-1699, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0031182018000914>. Acesso em: 03/11/2022.

MAS-COMA, S.; VALERO, M. A.; BARGUES, M. D. Climate change effects on trematodiasis, with emphasis on zoonotic fascioliasis and schistosomiasis. **Veterinary Parasitology**, vol. 163, p. 264-280, ago. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.03.024>. Acesso em: 16/01/2023.

MATOS, A. C.; THIENGO, S. C.; CORRÊA-ANTONIO, J.; CANTANHEDE, S. P. D.; PINTO, M. C.; FERNANDEZ, M. A. *Galba cubensis* (Pfeiffer, 1839) no Brasil: novos registros. **Informativo SBMa**, n. 204, ano 49, jun. 2018. Disponível em: [Especíes do complexo Sarasinula: a identificação morfológica \(sbmalacologia.com.br\)](https://www.sbmecologia.com.br/complexo/Sarasinula: a identificação morfológica). Acesso em: 18/02/2022.

MEDEIROS, C.; SCHOLTE, R. G. C.; D'AVILA, S.; CALDEIRA, R. L.; CARVALHO, O. S. Spatial distributin of Lymnaeidae (Mollusca, Basommatophora), intermediate host of *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 (Trematoda, Digenea) in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, vol. 56, n. 3, p. 235-252, mai-jun. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0036-46652014000300010>. Acesso em: 25/02/2022.

MEHMOOD, K.; ZHANG, H.; SABRI, A. J.; ABBAS, R. Z.; IJAZ, M.; DURRANI, A. Z.; SALEEM M. H.; REHMAN, M. U.; IQBAL, M. K.; WANG. Y.; AHMAD, H. I.; ABBAS, T.; HUSSAIN, R.; GHORI, M. T.; ALI, S.; KHAN, A. U.; LI, J. A review on epidemiology, global prevalence and economical losses of fasciolosis in ruminants. **Microbial Pathogenesis**, vol. 109, p. 253-262, jun. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.06.006>. Acesso em: 29/11/2022.

MENDES, E. A.; PEREIRA, C. A. J.; LIMA, W. S. Immune response in Santa Inês sheep during *Fasciola hepatica* infection. **Semina: Ciências Agrárias**, vol. 42, n. 6, p. 3289-3304, nov.-dez. 2021. Disponível em: [10.5433/1679-0359.2021v42n6p3289](https://doi.org/10.5433/1679-0359.2021v42n6p3289). Acesso em: 12/05/2022.

MOAZENIM.; AHMADI, A. Controversial aspects of the life cycle of *Fasciola hepatica*. **Experimental Parasitology**, vol. 169, p. 81-89, out. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2016.07.010>. Acesso em: 02/08/2022.

NGCAMPHALALA, P. I.; MALATJI, M. P.; MUKARATIRWA, S. Geography and ecology of invasive *Pseudosuccinea columella* (Gastropoda: Lymnaeidae) and implications in the transmission of *Fasciola* species (Digenea: Fasciolidae) – a review. **Journal of Helminthology**; vol. 96, nov. 2021. Disponível em:

<https://doi.org/10.1017/S0022149X21000717>. Acesso em: 14/02/2023.

NIKNAM, R; KAZEMI, M. H.; MAHMOUDI, L. Three living *Fasciola hepatica* in the biliary tract of a woman. **Iranian Journal of Medical Science**, vol. 40, n. 5, p. 465-468, set. 2015. Disponível em: [Three Living Fasciola Hepatica in the Biliary Tract of a Woman \(nih.gov\)](#). Acesso em: 12/01/2022.

NYAGURA, I.; MALATJI, M. P.; MUKARATIRWA, S. Occurrence of *Fasciola* (Digenea: Fasciolidae) species in livestock, wildlife and humans, and the geographical distribution of their intermediate hosts in South Africa - a scoping review. **Frontiers in Veterinary Science**, vol. 9, jul. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.935428>. Acesso em: 22/11/2022.

PARAENSE, W. L. *Lymnaea columella* in northern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, vol. 78, n. 43, p. 477-482, dez. 1983. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02761983000400011>. Acesso em: 25/11/2022.

PARAENSE, W. L. *Lymnaea columella*: two new Brazilian localities in the states of Amazonas and Bahia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, vol. 81, n. 1, p. 121-123, jan./mar. 1986. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02761986000100016>. Acesso em: 25/11/2022.

PARAENSE, W. L. *Lymnaea rupestris* sp. n. from Southern Brazil (Pulmonata: Lymnaeidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, vol. 77, n. 4, p. 437-443, out./dez. 1982. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02761982000400011>. Acesso em: 28/02/2023.

PEREIRA, A. E.; URIBE, N.; POINTIER, J. P. Lymnaeidae from Santander and bordering departments of Colombia: Morphological characterization, molecular identification and natural infection with *Fasciola hepatica*. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, vol. 20, abr. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100408>. Acesso em: 21/01/2022.

PEREIRA, C. A. J.; OLIVEIRA, L. L. S.; COAGLIO, A. L.; SANTOS, F. S. O.; CEZAR, R. S. M.; MENDES, T.; OLIVEIRA, F. L. P.; CONZENZA, G.; LIMA, W. S. Anti-helminthic activity of *Momordica charantia* L. against *Fasciola hepatica* eggs after twelve days of incubation in vitro. **Veterinary Parasitology**, vol. 228, p. 160-166, set. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.08.025>. Acesso em: 12/05/2022.

RIBEIRO, V. M. A. **Cinética da infecção por *Fasciola hepatica* em *Lymnaea (=Pseudosuccinea) columella* proveniente do município de Confins - Minas Gerais**. Orientador: Walter dos Santos Lima. 2016. 106 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016. Disponível em: [Repositório Institucional da UFMG: Cinética da infecção por Fasciola hepatica em Lymnaea \(=Pseudosuccinea\) columella proveniente do município de Confins - Minas Gerais](#) Acesso em: 26/10/2022.

- 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*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, vol. 26, n. 4, p. 411-418, out.-dez. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612017057>. Acesso em: 12/05/2022.
- ROJAS, C. A. A.; JEX, A. R.; GASSER, R. B.; SCHEERLINCK, J. P. Y. Techniques for the diagnosis of *Fasciola* infections in animals: room for improvement. **Advances in Parasitology**, vol. 85, p. 65-107, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800182-0.00002-7>. Acesso em: 14/02/2022.
- RONDELAUD, D.; HOURDIN, P.; VIGNOLES, P.; DREYFUSS, G.; CABARET, J. The detection of snail host habitats in liver fluke infected farms by use of plant indicators. **Veterinary Parasitology**, vol. 181, ed. 2-4, p. 166-173, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.03.056>. Acesso em: 18/02/2022.
- ROSS, I. C.; McKAY, A. C. The bionomics of *Fasciola hepatica* in New South Wales and of the intermediate host *Limnea brazieri* (Smith). **Council for Scientific and Industrial Research (Australia)**, n. 43, 64 p., 1929. Disponível em: <https://doi.org/10.25919/d0p8-h376>. Acesso em: 14/02/2023.
- ROSS, J. G. A five-years study of the epidemiology of fascioliasis in the north, east and west of Scotland. **British Veterinary Journal**, vol. 133, n. 3, p. 263-272, mai-jun. 1977. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0007-1935\(17\)34088-5](https://doi.org/10.1016/S0007-1935(17)34088-5). Acesso em: 15/02/2023.
- ROWCLIFFE, S. A.; OLLENRENSHAW, C. B. Observations on the bionomics of the egg of *Fasciola hepatica*. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, vol. 52, n. 2, p. 172-181, 1960. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00034983.1960.11685973>. Acesso em: 13/02/2023.
- SAHIN, S. K.; ZEYBEK, M. Distribution of Mollusca fauna in the streams of Tunceli Province (East Anatolia, Turkey) and its relationship with some physicochemical parameters. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, vol. 16, n. 1, p. 187-195, mar. 2016. Disponível em: [10.4194/1303-2712-v16_1_19](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v16_1_19). Acesso em: 16/05/2022.
- SADDOZAI, S.; BALOCH, W. A.; ACHAKZAI, M.; MEMON, N. Population dynamics and ecology of freshwater gastropods in Manchar Lake Sindh, Paquistan. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, vol. 23, n. 4, p. 1089-1093, jan. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/15627020.2004.11407286>. Acesso em: 30/01/2023.
- SALMAN, J. M.; NASSAR, A. J. Variation of some physico-chemical parameters and biodiversity of gastropods species in Euphrates River, Iraq. **International Journal of Environmental Science and Development**, vol. 5, n. 3, p. 328-331, jun. 2014. Disponível em: [10.7763/IJESD.2014.V5.502](https://doi.org/10.7763/IJESD.2014.V5.502). Acesso em: 16/05/2022.
- SARKER, Md. M.; NESA, B.; JAHAN, Md. S. Embryonic developmental ecology of freshwater snail *Lymnaea acuminata* (Lymnaeidae: Gastropoda). **Pakistan Journal of Biological Sciences**, vol. 10, n. 1, p. 23-31, 2007. Disponível em: [10.3923/pjbs.2007.23.31](https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.23.31). Acesso em: 16/05/2022.

- SIERRA, R. M.; NEIRA, G.; BARGUES, M. D.; CUERVO, P. F.; ARTIGAS, P.; LOGARZO, L.; CORTIÑAS, G.; IBACETA, D. E. J.; LOPEZ GARRIDO, A.; BISUTTI, E. Equines as reservoirs of human fascioliasis: transmission capacity, epidemiology and pathogenicity in *Fasciola hepatica* -infected mules. **Journal of Helmintology**, vol. 94, set. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0022149X20000693>. Acesso em: 26/10/2022.
- SILVA, A. E.P.; FREITAS, C. C.; DUTRA, L. V.; MOLENTO, M. B. Correlation between climate data and land altitude for *Fasciola hepatica* infection in cattle in Santa Catarina, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, vol. 29, n. 3, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612020065>. Acesso em: 18/01/2023.
- SMOLDERS, A. J. P.; HENDRIKS, R. J. J.; CAMPSCHREUR, H. M.; ROELOFS, J. G. M. Nitrate induced iron deficiency chlorosis in *Juncus acutiflorus*. **Plant and Soil**, n. 196, p. 37-45, set, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1004293012462>. Acesso em: 24/01/2023.
- TARCZYŃSKI, S.; PODKÓWKA, W. Effect of ensilage of green roughage and drying of hay on viability and infectivity of *Fasciola hepatica* metacercariae. I. metacercariae in the silage. **Acta Parasitologica Polonica**, vol. 12, n. 20, p. 201-208, 1964. Disponível em: [Effect of Ensilage of Green Roughage and Drying of Hay on Viability and Infectivity of Fasciola hepatica Metacercariae. I. Metacercariae in the Silage. \(cabdirect.org\)](https://doi.org/10.1007/BF02456111). Acesso em: 14/02/2023.
- TEIXEIRA, J. N.; BARCELLOS, R. R.; LINK, D. T.; MATHIAS, L. A.; TOBIAS, F. L.; BRAGA, F. R.; ROSSI, G. A. M. Prevalence of bovine fascioliasis and economic losses in an abattoir located in the state of Espírito Santo, Brazil. **Ciência Rural**, vol. 53, n. 4, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20220121>. Acesso em: 20/02/2023.
- UETA, M. T. Estudo morfológico da concha de *Lymnaea columella* say, 1817 (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, vol. 13, n. 1, p. 119-141, dez. 1980. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0037-86821980000100016>. Acesso em: 25/11/2022.
- UETA, M. T. Ocorrência de infecção natural de *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 em *Lymnaea columella* Say, 1817 no Vale do Paraíba, SP, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, vol. 14, n. 2, p. 230-233, jun. 1980. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0034-89101980000200010>. Acesso em: 25/11/2022.
- UETA, M. T. Variações anatômicas em *Lymnaea columella* (Mollusca, Gastropoda). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, vol. 11, n. 6, p. 217-237, dez. 1977. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0037-86821977000600004>. Acesso em: 25/11/2022.
- VALERO, M. A.; MARTI, R.; MARCOS, M. D.; ROBLRES, F.; MAS-COMA, S. Le mollusque *Lymnaea truncatula* (Lymnaeidae) dans les rizières de l'Est de l'Espagne. **Vie et Milieu**, vol. 48, n. 1; p. 73-78, 1998. Disponível em: [\(PDF\) LE MOLLUSQUE LYMNAEA TRUNCATULA \(LYMNAEIDAE\) DANS LES RIZIÈRES DE L'EST DE L'ESPAGNE \(researchgate.net\)](https://doi.org/10.1080/00141801.1998.10512344). Acesso em: 15/02/2023.
- VAREILLE-MOREL, C.; DREYFUSS, G.; RONDELAUD, D. The characteristics of habitats colonized by three species of *Lymnaea* (Mollusca) in swampy meadows on acid soil: their

interest for control of fasciolosis. **Ann. Limnol. - International Journal of Limnology**, vol. 35, n. 3, p. 173-178, set. 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1051/limn/1999024>. Acesso em: 24/10/2022.

VIEIRA, E. C. **Crescimento e reprodução de *Biomphalaria glabrata* em condições axênicas**. 1967. Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais para habilitação ao concurso de docência livre em Bioquímica, Belo Horizonte, 1967.

VIGNOLES, P.; RONDELAUD, D.; DREYFUSS, G. Aptitude of *Lymnaea palustris* and *L. stagnalis* to *Fasciola hepatica* larval development through the infection of several successive generations of 4-mm-high snails. **Parasitology Research**, vol. 115, p. 2263-2268, mar. 2016. Disponível em: [10.1007/s00436-016-4969-6](https://doi.org/10.1007/s00436-016-4969-6). Acesso em: 14/01/2022.

ZEYBEK, M.; KALYONCU, H.; ERTAN, Ö. O. Species composition and distribution of Mollusca in relation to water quality. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, vol. 12, n. 3, p. 719-727, set. 2012. Disponível em: [10.4194/1303-2712-v12_3_21](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v12_3_21). Acesso em: 16/05/2022.

ZUKOWSKY, S. H.; HILL, J. M.; JONES, F. W.; MALONE, J. B. Development and validation of a soil-based geographic information system model of habitat of *Fossaria bulimoides*, a snail intermediate host of *Fasciola hepatica*. **Preventive Veterinary Medicine**, vol. 11, p. 221-227, dez. 1991. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(05\)80006-6](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(05)80006-6). Acesso em: 14/11/2022.

ANEXO A - QUESTIONÁRIO**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE PARASITOGIA
PPG Parasitologia ICB/UFMG****Questionário****Localização por GPS:****Identificação e controle:****Código do município:****Entrevistador:****Data:**

1- Quanto ao local de coleta dos moluscos, qual opção se adequa melhor às condições:

- Local próximo às pastagens de animais, onde os mesmos utilizam o lugar como fonte de alimentação ou como fonte de água;
- Local afastado das pastagens de animais, onde os mesmos não utilizam o lugar com frequência.

2- A onde foi realizada a coleta do caramujo?

- Lagoa
- Cocho
- Rio
- Nascente

3- Quanto ao local onde os animais utilizam como fonte de água para saciar sua sede pode-se observar:

- Local com coleções de águas naturais (água corrente ou não), com presença de vegetação rasteira em suas proximidades;

Tipo de coleção de água natural:

- Lago;
- Córrego;
- Rio;
- Córrego;
- Charco/Brejo.

- Local com água proveniente de rede de tratamento, armazenada em reservatório próprio para o consumo dos animais.

Tipo de reservatório:

- Cocho coletivo;
- Bebedouro.

Água proveniente de:

- Rede encanada;
- Poço artesiano.

4- Nas proximidades do local onde a água foi encontrada, há a presença de vegetação no entorno?

- Sim;
 Não.

Em caso positivo, qual o tipo da vegetação:

- Mata densa;
- vegetação rasteira;
- Arbustos;
- Horta.

5- Tem sistema de esgoto?

- Sim;
 Não.

6- Qual o tipo de solo observado nas proximidades das coleções de água encontradas?

- Arenoso;
 Argiloso;
 Solo rico em matéria orgânica (cor escura);
 Solo pisoteado.

7- Possui plantação de hortaliças nas proximidades?

- Sim;
 Não.

8- A pessoa responsável pelo cuidado com os animais tem algum tipo de conhecimento do que é um caramujo ou lesma?

- Sim;
 Não.

9- Os rebanhos de bovinos criados no local de coleta das amostras possuem a finalidade de:

- Corte;
 Produção de leite.

10- Foram encontrados caramujos na localidade?

- Sim;
 Não.

Em caso positivo, os caramujos eram limneídeos:

- Sim;
- Não.

11- Positividade para infecção por *Fasciola hepatica* na propriedade?

- Sim;
 Não.

ANEXO B – TESTE FÍSICO-QUÍMICO DA ÁGUA (KIT MERCK)

Teste físico-químico de ferro, manganês, cloreto e sulfato

Teste físico-químico de ferro

O kit Merck utilizado foi o Teste Ferro 0,005-5,00mg/L Fe, registrado com número de catálogo 1147610001. Para o teste físico-químico de ferro, 5 mL de cada amostra de água foram transferidas, com o auxílio de uma pipeta, para tubos de ensaio de vidro com capacidade de 20 mL. Após esse procedimento, foram acrescentados 90 microlitros do reagente Fe-1 presente no kit, em cada tubo de ensaio e, depois da solução ser homogeneizada, permaneceu em repouso por 3 min, para sua estabilização. A leitura da totalidade de cada amostra foi feita no espectrofotômetro em comprimento de onda de 565 nm, em cubeta de vidro de 10 mm. A calibração do aparelho foi feita com a utilização de um QRcode que foi disponibilizado pelo fabricante dentro da embalagem do kit.

Teste físico-químico de manganês

O kit Merck utilizado foi o Teste de Manganês, registrado com número de catálogo 1147700001. Para o teste físico-químico de manganês, foram transferidas com o auxílio de uma pipeta, 10 mL de cada amostra de água para tubos de ensaio de vidro com capacidade de 20 mL. Após esse procedimento foram utilizados os reagentes do kit, adicionando 340 microlitros do reagente Mn-1 e 160 microlitros do reagente Mn-2. As soluções foram homogeneizadas e mantidas em repouso por 2 min para sua estabilização. Após esse período foram acrescentadas 160 microlitros do reagente Mn-3, e as soluções novamente foram homogeneizadas e mantidas em repouso por mais 10 minutos. Por fim as soluções finais foram submetidas ao espectrofotômetro em comprimento de onda de 445 nm, em cubeta de vidro de 50 mm para leitura. A calibração do aparelho foi feita com a utilização de um QRcode que foi disponibilizado pelo fabricante dentro da embalagem do kit.

Teste físico-químico de cloreto

O kit Merck utilizado foi o Teste Cloreto 2,5-250mg/l Cl, registrado com número de catálogo 1148970002. Para o teste físico-químico de cloreto, com o auxílio de uma pipeta, 1 mL de cada amostra de água foi transferida para tubos de ensaio de vidro com capacidade de 20 mL. Após a execução desse procedimento foram colocados nas amostras os reagentes do kit, nas quantidades de 2,5 mL de Cl-1 e 0,5 mL de Cl-2. As soluções foram homogeneizadas e mantidas em repouso por 1 min, para sua estabilização. Após aguardar esse período, elas foram

colocadas no espectrofotômetro em cubeta de vidro de 10 mm para leitura em comprimento de onda de 500 nm. A calibração do aparelho foi feita com a utilização de um QRcode que foi disponibilizado pelo fabricante dentro da embalagem do kit.

Teste físico-químico de sulfato

O kit Merck utilizado foi o Teste de Sulfato, registrado com número de catálogo 1018120001. Para o teste físico-químico de sulfato, com o auxílio de uma pipeta, 10 mL de cada amostra de água foi colocada em tubos de ensaio de vidro com capacidade de 20 mL. Após esse procedimento, foram adicionados nas amostras 0,5 mL de SO_4^{-1} e 15 mg de SO_4^{-2} , dos reagentes presentes no kit. As soluções foram homogeneizadas e colocadas em repouso por 2 min, para sua estabilização. Após esse período, foram submetidas no espectrofotômetro em cubeta de vidro de 20 mm para leitura, em comprimento de onda de 525 nm. A calibração do aparelho foi feita com a utilização de um QRcode que foi disponibilizado pelo fabricante dentro da embalagem do kit.