

Ficha catalográfica elaborada pela  
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

S237 Santos, Isabella Luiza Quesada Simas

Epidemiologia da fasciolose em duas fazendas na região do Vale do Paraíba-SP / Isabella Luiza Quesada Simas Santos. – Rio de Janeiro, 2014.

xii, 50 f. : il. ; 30 cm.

Monografia (Especialização) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Malacologia de Vetores, 2014.

Bibliografia: f. 40-51

1. Lymnaea columella. 2. Fasciola hepatica. 3. Epidemiologia. I.  
Título.

CDD 614.553



Ministério da Saúde  
FIOCRUZ  
Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Oswaldo Cruz  
Curso de Especialização em Malacologia de Vetores

**EPIDEMIOLOGIA DA FASCIIOLOSE EM DUAS FAZENDAS NA REGIÃO  
DO VALE DO PARAÍBA-SP**

Isabella Luiza Quesada Simas Santos

Orientador: Prof. Mauricio Carvalho de Vasconcellos, *PhD*

Rio de Janeiro

Agosto 2014

Isabella Luiza Quesada Simas Santos

**EPIDEMIOLOGIA DA FASCIOLOSE EM DUAS FAZENDAS NA REGIÃO  
DO VALE DO PARAÍBA-SP**

Monografia submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Especialista em Malacologia de Vetores no Curso de Especialização em Malacologia de Vetores pelo Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ.

Orientador: \_\_\_\_\_  
Dr. Mauricio Carvalho de Vasconcellos

Presidente: \_\_\_\_\_  
Dra. Mônica Ammon Fernandez

1º Examinador: \_\_\_\_\_  
Dra. Clélia Christina Mello-Silva

2º Examinador: \_\_\_\_\_  
Dra. Marta Julia Faro dos Santos

Monografia aprova em: 27 / 08 / 2014

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, autor do meu destino.

Ao meu eterno mestre, orientador, irmão e amigo Fernando Batalha (*In memoriam*), que Deus me deu a oportunidade de ter conhecido, agradeço eternamente por tudo que fez por mim e infelizmente mesmo não estando mais presente entre nós, sempre fará parte da minha vida.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Mauricio Carvalho de Vasconcellos, *PhD.*, Pesquisador Titular do Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental – IOC-FIOCRUZ, meu orientador, pela paciência nas horas difíceis, pelo carinho e incentivo que tornaram possível a conclusão desta monografia.

Aos meus pais, Moacyr Santos e Luiza Maria Quesada Simas que sempre me apoiaram nos estudos e nas horas difíceis. Foram eles que me incentivaram a fazer o curso.

Ao Prof. Edison Amarante, da Faculdade Castelo Branco, que sempre ficou disposto para me ajudar em qualquer momento que eu precisasse.

A Tânia de Araújo Fontes, bióloga e futura médica veterinária e eterna amiga irmã e segunda mãe, por estar sempre ao meu lado e me incentivando durante doze anos.

As minhas novas amigas da turma de 2013 do curso de Especialização em Malacologia de Vetores do Instituto Oswaldo Cruz da FIOCRUZ – RJ, pelo companheirismo.

A Dra. Marina Vianna Braga, Pesquisadora do Laboratório de Transmissores de Leishmaniose - IOC-FIOCRUZ, pela revisão do inglês.

Agradeço também a todos os professores do curso de Especialização em Malacologia de Vetores do Instituto Oswaldo Cruz da FIOCRUZ – RJ, que me ajudaram em mais uma etapa de crescimento profissional.

## ÍNDICE

	<b>Página</b>
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	2
2.1. Importância epidemiológica.....	2
2.2. <i>Fasciola hepatica</i> : O Parasita .....	3
2.2.1. Morfologia .....	3
2.3. Ciclo de vida de <i>Fasciola hepatica</i> .....	4
2.4. Hospedeiros intermediário de <i>Fasciola hepatica</i> .....	8
2.5. Hospedeiros definitivos de <i>Fasciola hepatica</i> .....	9
2.6. Distribuição geográfica .....	9
2.7. Medidas de controle da fasciolose .....	11
2.8. Controle dos hospedeiros intermediários.....	12
a) Controle biológico.....	12
b) Controle químico.....	13
c) Controle ambiental .....	13
3. JUSTIFICATIVA.....	14
4. OBJETIVO.....	15
4.1 Objetivo Geral.....	15
4.2. Objetivo Específico.....	15
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
5.1. Local e tempo de estudo.....	15
5.2. Método de coleta.....	16
5.3. Contagem e medição de <i>Lymnaea columella</i> .....	18
5.4. Análise dos animais.....	19
5.5. Análise físico-química da água do habitat de <i>Lymnaea columella</i> .....	20
5.6. Amostragem e exame de fezes de bovinos para avaliação da prevalência da fasciolose.....	21
5.7. Dados climáticos.....	22
5.8. Análise estatística.....	23
6. RESULTADOS.....	23

7. DISCUSSÃO.....	34
8. CONCLUSÃO.....	39
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

## ÍNDICE DAS TABELAS

	<b>Página</b>
<b>Tabela 1.</b> Total de <i>Lymnaea columella</i> pelo tamanho de concha (mm) coletadas na fazenda Sítio Recreio em São Luís do Paraitinga-SP (FSR-SLP) e fazenda São Joaquim em Redenção da Serra-SP (FSJ-RS) em outubro, dezembro/2013 e março/2014.....	25
<b>Tabela 2.</b> Valores médios de parâmetros físico-químicos encontrados nas amostras de água das fazendas Sítio Recreio em São Luis do Paraitinga (FSR-SLP) e Fazenda São Joaquim em Redenção da Serra-SP (FSR-RS) e no habitat natural de <i>Lymnaea columella</i> .....	33

## ÍNDICE DAS FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> Verme adulto de <i>Fasciola hepatica</i> Linnaeus, 1758.....	4
<b>Figura 2.</b> Ovo de <i>Fasciola hepatica</i> Linnaeus, 1758 com opérculo.....	5
<b>Figura 3.</b> Miracídio de <i>Fasciola hepatica</i> Linnaeus, 1758.....	5
<b>Figura 4.</b> Rédia e cercária de <i>Fasciola hepatica</i> Linnaeus, 1758.....	6
<b>Figura 5.</b> Metacercária de <i>Fasciola hepatica</i> Linnaeus, 1758.....	6
<b>Figura 6.</b> Canais biliares calcificados.....	7
<b>Figura 7.</b> Esquema do ciclo de vida de <i>Fasciola hepatica</i> Linnaeus, 1758.....	7
<b>Figura 8.</b> Molusco <i>Lymnaea columella</i> Say, 1817.....	8
<b>Figura 9.</b> Distribuição da fasciolose no Brasil.....	11
<b>Figura 10.</b> Foto do Biótopo da Fazenda São Joaquim em Redenção da Serra- SP.....	16
<b>Figura 11.</b> Biótopo da Fazenda Sítio Recreio em São Luis do Paraitinga- SP.....	16
<b>Figura 12.</b> Vista do quadrat (local de amostragem dos moluscos).....	17
<b>Figura 13.</b> Vista da extensão do córrego e método de coleta.....	17
<b>Figura 14.</b> Contagem e medição de <i>Lymnaea columella</i> Say, 1817.....	18
<b>Figura 15.</b> Exposição de <i>Lymnaea columella</i> Say à luz.....	19

<b>Figura 16.</b> Esmagamento de <i>Lymnaea columella</i> entre lâminas .....	20
<b>Figura 17.</b> Coleta de água para análise em laboratório.....	21
<b>Figura 18.</b> Coleta das fezes dos bovinos diretamente da ampola retal.....	22
<b>Figura 19.</b> Quatro tamises utilizados para obtenção dos ovos de <i>Fasciola hepatica</i> das fezes dos bovinos.....	22
<b>Figura 20.</b> Total de <i>Lymnaea columella</i> coletadas na Fazenda Sítio Recreio (São Luis do Paraitinga-SP) e Fazenda São Joaquim (Redenção da Serra-SP) em outubro e dezembro/2013 e março/2014.....	24
<b>Figura 21.</b> Total de <i>Lymnaea columella</i> distribuídas pelo tamanho de concha (mm) coletadas na fazenda Sítio Recreio em São Luís do Paraitinga-SP (FSR-SLP) nos meses outubro e dezembro/2013 e março/2014.....	26
<b>Figura 22.</b> Total de <i>Lymnaea columella</i> distribuídas pelo comprimento de concha (mm), coletadas na Fazenda São Joaquim em Redenção da Serra-SP (FSJ-RS), nos meses outubro e dezembro/2013 e março/2014.....	26
<b>Figura 23.</b> Frequência total (%) de caramujos jovens e adultos coletados nas fazendas Sítio Recreio em São Luis do Paraitinga-SP e Fazenda São Joaquim em Redenção da Serra-SP.....	27
<b>Figura 24.</b> Frequência total (%) de caramujos jovens e adultos coletados nos meses de outubro, dezembro/2013 e março/2014 nas fazendas Sítio Recreio em São Luis do Paraitinga-SP (FSR-SLP) e Fazenda São Joaquim em Redenção da Serra-SP (FSR-RS).....	28
<b>Figura 25.</b> Frequência total (%) de caramujos jovens e adultos coletados por	

fazenda, nas fazendas Sítio Recreio em São Luis do Paraitinga-SP (FSR-SLP) e Fazenda São Joaquim em Redenção da Serra-SP (FSR-RS)..... 28

**Figura 26.** Valores diários de temperatura média (°C) ambiente nos meses de outubro, dezembro/2013 e março/2014 e total de moluscos coletados em 30/out/13, 10/dez/13 e 18/mar/14, na Fazenda São Joaquim em Redenção da Serra-SP..... 29

**Figura 27.** Valores diários de temperatura média (°C) ambiente nos meses de outubro e dezembro/2013 e março/2014 e total de moluscos coletados em 30/out/13, 10/dez/13 e 18/mar/14, na Fazenda Sítio Recreio em São Luis do Paraitinga-SP..... 30

**Figura 28.** Valores diários de pluviosidade (mm) nos meses de outubro, dezembro/2013 e março/2014 em Redenção da Serra-SP e São Luis do Paraitinga-SP..... 31

**Figura 29.** Densidade total de moluscos coletados e precipitação pluviométrica (mm) nos meses de outubro e dezembro/2013 e março/2014 em São Luis do Paraitinga-SP (FSR-SLP,  $r = 0,9818$ ) e Redenção da Serra-SP (FSJ-RS,  $r = 0,9165$ )..... 31

**Figura 30.** Comprimento médio de concha (mm) e precipitação pluviométrica (mm) nos meses de outubro e dezembro/2013 e março/2014 em São Luis do Paraitinga-SP (FSR-SLP,  $r = 0,7380$ ) e Redenção da Serra-SP (FSJ-RS,  $r = 0,1603$ )..... 32

**Figura 31.** Taxa de infecção (%) de bovinos por *Fasciola hepatica*, nos meses de outubro e dezembro de 2013 e março de 2014, nas fazendas Sítio Recreio em São Luis do Paraitinga-SP (FSR-SLP) e Fazenda São Joaquim em Redenção da Serra-SP (FSJ-RS)..... 34

## RESUMO

A fasciolose é causada pelo trematódeo parasita *Fasciola hepatica* que acomete criações zootécnicas extensivas e tem considerável importância médico-veterinária uma vez que acomete o homem na qualidade de hospedeiro acidental. Seu ciclo envolve um caramujo de água doce da espécie *Lymnaea columella* como hospedeiro intermediário. A dinâmica populacional desta espécie de molusco e a prevalência da doença em gado bovino de duas fazendas: Fazenda Sítio Recreio (FSR-SLP) em São Luís do Paraitinga-SP e Fazenda São Joaquim (FSJ-RS) em Redenção da Serra - SP, foram avaliadas neste trabalho no intuito de comparar e atualizar dados da literatura. Em três meses (outubro/2013, dezembro/2013 e março/2014) de estudo, foram coletados um total de 648 moluscos, sendo 342 exemplares (98; 93 e 151, respectivamente) na FSR-SLP e 306 exemplares (143; 133; 30, respectivamente) na FSR-RS. A população de moluscos era composta por 7,9% de animais jovens (até 5 mm de comprimento de concha) e 92,1% de adultos na FSR-SLP e 20,3% e 79,7%, respectivamente, na FSJ-RS. O tamanho de comprimento de concha médio que predominou em ambas populações foi de 8mm. Houve pequena variação na temperatura ambiente entre as duas cidades e em ambas a precipitação pluviométrica e os parâmetros físico-químicos das águas dos habitats de *L. columella*, não influenciaram nas populações dos moluscos. Nenhum dos moluscos coletados estava positivo para formas larvares de *F. hepatica*. Para avaliar a prevalência da fasciolose nas criações, foram coletadas 117 amostras de fezes de bovinos mestiços leiteiros das duas fazendas onde se observou que 6,6% do lote de animais da FSR-SLP em outubro/2013 e 3,3% da FSJ-RS em dezembro/2013, estavam positivas para ovos de *Fasciola hepatica*. Esses resultados demonstram que apesar do tempo transcorrido e tentativas de controle, após 14 anos de estudo realizados na FSJ-RS, a população de *L. columella* se mantém nessa fazenda. Apesar de nenhum molusco coletado ter sido observado positivo para *F. hepatica*, nas duas fazendas, ainda se registra o hospedeiro definitivo positivo circulando nos piquetes onde vivem os moluscos, o que favorece a manutenção do ciclo da doença nas fazendas.

Palavras chave: *Lymnaea columella*, *Fasciola hepatica*, epidemiologia,

## SUMMARY

The fascioliasis is caused by the parasitic trematode *Fasciola hepatica*. It affects extensive livestock farms and has considerable medical and veterinary importance. Humans are an accidental host. The cycle involves a freshwater snail species *Lymnaea columella* as the intermediate host. The population dynamics of this species of clam and the disease prevalence in cattle from two farms: Fazenda Sítio Recreio (FSR-SLP) in São Luis Paraitinga-SP and Fazenda São Joaquim (FSJ-RS) on Redenção da Serra-SP, were evaluated in this study in order to compare and update data in the literature. During three months (october/2013, december/2013 and march/2014) a total of 648 molluscs were collected: 342 (98, 93 and 151, respectively to months studied) in FSR-SLP and 306 (143, 133 and 30 were collected respectively) in FSJ-RS. The population of snails comprised 7.9% of young animals (up to 5 mm in shell length) and 92.1% of adults from FSR-SLP and 20.3% and 79.7%, respectively, from FSJ-RS. The medium size of the shell that prevailed in both populations was 8 mm. There was small variation in ambient temperature between the two cities and both precipitation and physico-chemical parameters of water habitats of *L. columella* did not influence the populations of molluscs. None of the collected molluscs were positive for larval forms of *F. hepatica*. To evaluate the prevalence of fascioliasis in cattle, 117 fecal samples of dairy crossbred cattle from both farms were collected. It was observed that 6.6% from the batch of animals from FSR-SLP collected in october/2013 and 3.3% of FSJ-RS collected in december/2013 were positive for *F. hepatica* eggs. These results demonstrate that despite the elapsed time and attempts for control, after 14 years of study in FSJ-RS, the population of *L. columella* was maintained in this farm. Although no positive snails for *F. hepatica* have been observed in both farms, the existence of positive vertebrate hosts suggests a possible maintenance of the disease cycle in both farms.

Key words: *Lymnaea columella*, *Fasciola hepatica*, epidemiology

## 1. INTRODUÇÃO

A espécie *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 é um trematódeo que causa a doença denominada fasciolose e tem sua patogenia ligada à presença do parasita no fígado dos animais, causando lesões nesse órgão. Essas lesões só foram relacionadas com a presença de *F. hepatica* em 1379 por Jehan e Brie, citado por Taylor (1965).

É uma doença que se originou na Europa e conhecida desde o século IX, de ampla distribuição geográfica que acomete cinco continentes de climas equatoriais e tropicais assim como em climas temperados (Rey, 1991). Esse trematódeo utilizou diferentes espécies de moluscos da família Lymnaeidae como hospedeiros intermediários para se expandir (Mas-Coma & Bargues, 1997 e Bargues et al., 2001).

Na América a fasciolose é considerada uma antropozoonose (doença primária de animais que pode ser transmitida ao ser humano), pois, tem sido uma das doenças de maior repercussão na saúde pública e de elevadas perdas econômica, onde se tem como hospedeiros vertebrados os bovino, ovinos, suínos, caprinos, eqüinos, dentre outros, e o próprio homem na qualidade de hospedeiro ocasional (Serra-Freire & Nuernberg 1992; Ramos 2006).

A fasciolose tem alta freqüência nos ambientes propícios a pastagens alagadiças e restingas da orizicultura irrigada, esses fatores contribuem na disseminação e manutenção do parasita o ano todo (Mattos et al., 1997).

Sua introdução no Brasil teve início na importação de animais no tempo da colonização, sendo a distribuição atual explicável pela intensa comercialização de animais infectados, na tentativa de acelerar o melhoramento genético do gado leiteiro, em pequenas criações de subsistência, sem o devido tratamento. Esse foi o principal fator para a disseminação da fasciolose hepática no Vale do Rio Paraíba do Sul, adentrando de São Paulo para o Rio de Janeiro, onde foi primeiramente encontrado no município de Três Rios (França, 1969).

As áreas escolhidas para a criação de animais no Brasil tinham as condições necessárias para a manutenção da doença, faixas de temperatura adequadas permitindo o desenvolvimento do parasita, disponibilidade de água, associações fito-sociológicas bastante semelhantes e uma fauna ocupando nichos muito parecidos aos da área de procedência dos animais domésticos.

No Brasil, a espécie responsável pertence à família Lymnaeidae, reconhecida por Lutz 1918, o qual posteriormente (Lutz, 1921) evidenciou sua ocorrência no Rio de Janeiro, quando obteve exemplares de *Lymnaea columella* Say, 1817 naturalmente infectados, embora a fasciolose esteja restrita em alguns estados e municípios do Brasil sua distribuição já pode ser considerada cosmopolita (Bustamante, 1991).

As principais fases da fasciolose são: fase aguda, fase crônica leve e fase crônica grave. Nelas estão caracterizadas a perda de peso, baixa fertilidade e aborto, diminuição progressiva da produção de leite, diarreia sanguinolenta, anemia, condenação do fígado, e, ocasionando em alguns casos até a morte, sendo considerada importante na medicina veterinária (Chieffi, Gryscek, & Amato Neto, 2001).

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Importância epidemiológica

Os moluscos têm grande importância para a Parasitologia, e em especial para a Helminologia. Eles servem como hospedeiros intermediários para vários grupos de helmintos, e têm papel importante na transmissão e na distribuição destes, tanto para os animais como para o homem. Entre as helmintíases tendo como hospedeiros intermediários os moluscos, no Brasil se destacam aquelas que se relacionam aos trematódeos, como por exemplo, fasciolose para os ovinos, caprinos, suínos e o homem, e outras.

Para que a fasciolose se estabeleça são necessárias: condições ambientais favoráveis para o hospedeiro intermediário, saneamento básico precário, higiene alimentar inadequada e educação ambiental inexistente (Chieffi & Amato Neto, 2003).

O ambiente natural em que existem as condições necessárias à transmissão da doença pode ser: a) biológico – reservatório de infecção, hospedeiros; b) social - ligado aos elementos socioeconômicos e culturais; c) físicos – localização geográfica da doença, qualidade de água, poluentes, agentes físicos e ambientais (Neves et al., 2004).

A epidemiologia da fasciolose é influenciada pelo tipo de pastagem realizado pelos animais. Bovinos pastam em áreas alagadas e pequenos córregos, lugares onde *L. columella*, que tem hábito “anfíbio” têm seu habitat, o que facilita a continuação do ciclo biológico do parasita. Os ovinos pastam normalmente em áreas não alagadas e são infectados quando usam áreas úmidas do pasto logo após longos períodos de seca, pois os

moluscos sobrevivem nesses locais e passam a liberar as cercárias logo que ocorre aumento da umidade no pasto. O ser humano pode se infectar por meio da ingestão de água e verduras contendo a forma infectante do parasita (metacercárias).

A presença de vegetação flutuante é muito importante em muitos tipos de criadouros. Os caramujos mostram preferência pelas raízes dessas plantas, utilizando-as como refúgio, ovipostura, proteção e/ou alimentação. Quando o criadouro seca parcialmente, os caramujos ficam nas raízes expostas, protegidos pela umidade destas.

## 2.2. *Fasciola hepatica*: O Parasita

O desenvolvimento da doença nos humanos varia de acordo com a carga parasitária no fígado e o tempo de duração que tem a infecção. As fasciolas jovens migrando através do parênquima hepático podem produzir graves lesões traumáticas e necróticas (Rey, 1991).

Em seu hospedeiro definitivo (no vertebrado), *F. hepatica* adulta é encontrada no interior da vesícula e canais biliares, já no homem pode ser encontrado nas vias biliares, nos alvéolos pulmonares e esporadicamente em outros órgãos.

A fasciola adulta produz alterações inflamatórias, adenomatosas e fibróticas. Em casos graves de infecções pode haver estease biliar, atrofia do fígado e cirrose periportal (Rey, 1991).

### 2.2.1. Morfologia

A espécie *F. hepatica* possui ventosa oral e ventral de tamanhos aproximadamente iguais, o corpo é achatado e coberto por um tegumento espinhoso. O intestino é ramificado, com numerosos divertículos que se estendem nas extremidades anterior e posterior do corpo do parasita. Os vermes adultos vivem nos canais biliares intra-hepáticos, onde podem sobreviver cerca de 10 anos (Mas-Coma, 2004; Norbury, 2008; Nguyen et al., 2009). Os parasitas adultos alojados nos dutos biliares colocam ovos operculados que variam entre 20.000 a 50.000 por dia.

Os parasitas são hermafroditas, reproduzindo-se por auto-fecundação. O aparelho digestório é incompleto. As duas ventosas e as espículas nas suas cutículas de revestimento auxiliam na sua fixação (Queiroz, 2005).

É um trematódeo grande com cerca de 20-50 mm de comprimento por 6-13 mm de largura e 2-3 mm de espessura. O cone cefálico é proeminente e os “ombros” acentuados (figura 1).



Figura 1 – Verme adulto de *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758.

Fonte: <http://osseresvivos.blog.terra.com.br>

### 2.3. Ciclo de vida de *Fasciola hepatica*

Nas vias biliares dos hospedeiros definitivos, ocorre à postura dos ovos, que são carregados para o intestino pela bile, e através das fezes dos hospedeiros vertebrados alcançam o meio ambiente.

Os tamanhos dos ovos variam (130-150  $\mu\text{m}$  de comprimento por 60-90  $\mu\text{m}$  de largura), são castanho-amarelados e não embrionados no momento de postura (figura 2).

As condições ambientais favoráveis de temperatura - média de 25° a 30°C e de umidade relativa do ar - 80% (Braga, 2008) os ovos com aproximadamente 25 dias, período embrionário, sob estímulo da luz eclodem e liberam os miracídios (larva piriforme e ciliada) (figura 3) do seu interior, que nadam até encontrar os hospedeiros intermediários, o molusco do gênero *Lymnaea*, onde ocorre a penetração do miracídio no tecido mole do molusco e desenvolve-se por poliembrionia, se tornando em esporocisto, que por sua vez dará origem a cinco ou oito rédias (figura 4).



Figura 2 – Ovo de *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758.  
Fonte: <http://www.rvc.ac.uk/review/Parasitology>



Figura 3 - Miracídio de *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758.  
Fonte: <http://meddic.jp/miracidium>

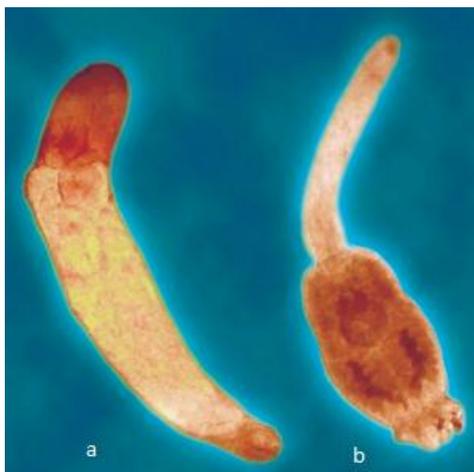


Figura 4 – Rédia (a) e cercária (b) de *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758.

Fonte: [memorias.ioc.fiocruz.br/100](http://memorias.ioc.fiocruz.br/100)

No interior de cada rédia formam-se então várias cercárias, que apresentam uma cauda e duas ventosas. Estas abandonam o molusco e nadam até encontrarem uma superfície para se fixar podendo ser uma vegetação presente nas margens dos criadouros, perdem a cauda e se encistam, formando as metacercárias que podem estar presentes na água e na vegetação aquática por um longo período. É nessa fase larval que aproximadamente em oito semanas torna-se infectante para o hospedeiro definitivo, pois sua ingestão pode decorrer de plantas ou na água contendo as metacercárias (figura 5).



Figura 5 – Metacercária de *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758.

Fonte: <http://workforce.cup.edu/buckelew>

Este ciclo só poderá ocorrer se houver condições favoráveis de temperatura e umidade. Estas determinam a sobrevivência bem como a duração dos estágios de desenvolvimento do parasita tanto no meio externo como no hospedeiro intermediário.

As metacercárias quando ingeridas pelo hospedeiro vertebrado, a parede externa do cisto é removida durante a mastigação e a ruptura do cisto ocorre no intestino devido às enzimas. As larvas atravessam a parede intestinal até a cavidade abdominal, perfuram a cápsula hepática e, através do parênquima hepático chegam aos dutos biliares, onde ocorre a maturação durante 35 a 45 dias, atingindo o estágio adulto (Rey, 1991) (figura 6). O ciclo se reinicia com a oviposição (figura 7) de *F. hepatica* que pode viver nos canais biliares por vários anos (Acha & Szyfres, 1986).

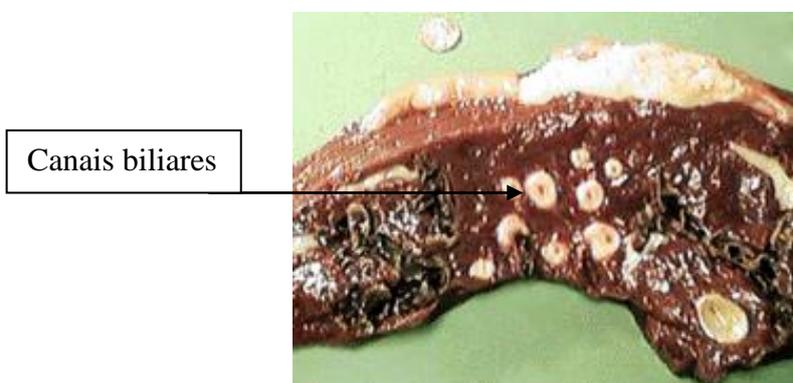


Figura 6 – Canais biliares calcificados  
Fonte: [www.cal.vet.upenn.edu](http://www.cal.vet.upenn.edu)

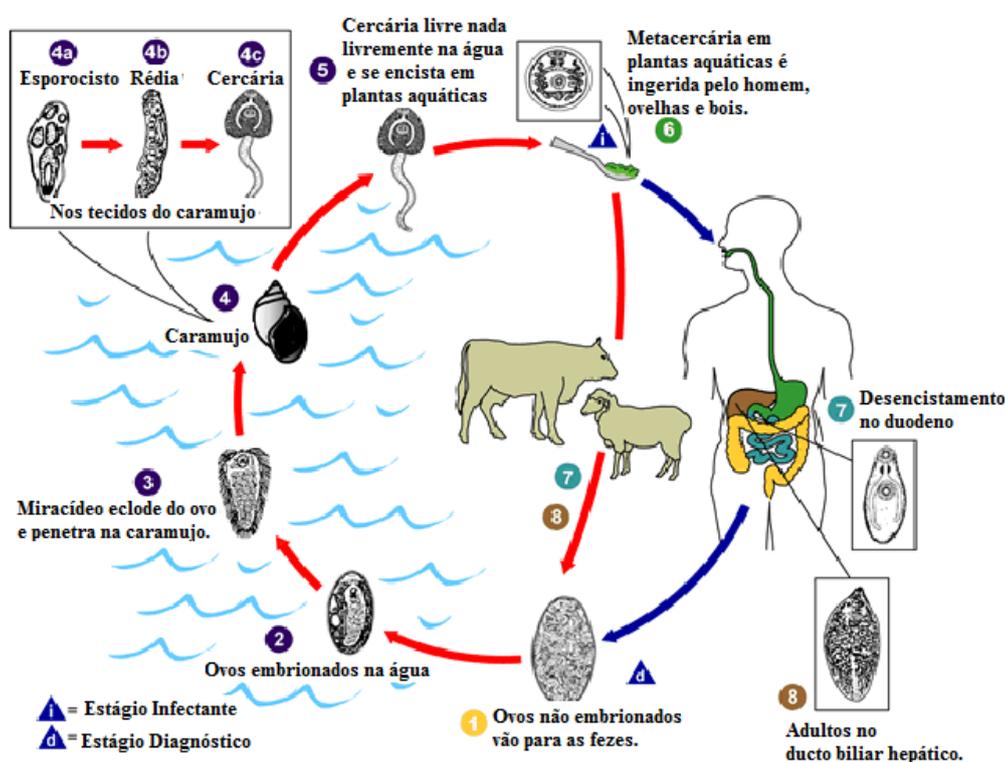


Figura 7 – Esquema do ciclo de vida de *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758.

Fonte: [www.biology.ccsu.edu](http://www.biology.ccsu.edu)

#### 2.4. Hospedeiro intermediário de *Fasciola hepatica*

A presença do hospedeiro intermediário de *F. hepatica* constitui condição necessária e indispensável para que se desenvolva o ciclo do parasita. Esse hospedeiro pertence ao Filo Mollusca, Classe Gastropoda, Subclasse Pulmonata, Ordem Basommatophora, Família Lymnaeidae, Gênero *Lymnaea* (figura 8). Conhecidos por apresentar concha dextrógira desprovida de opérculo, cônica, alongada, fina, com giros convexos, suturas rasas ou profundas, abertura oval ou arredondada, o lábio interno é refletido sobre o umbigo, mede em torno de 11 a 15 mm de altura. Os olhos são situados na base interna dos tentáculos, que são achatados e triangulares (Ueta, 1979; Thiengo & Fernandez, 2007).

Esses moluscos vivem principalmente em habitats alagadiços, tais como áreas pantanosas, brejos (ambientes lânticos), águas estagnadas e possuem hábitos anfíbios. São encontrados, via de regra, sobre a lama úmida, às vezes parcialmente enterrados, próxima às margens das águas, sobre macrófitas aquáticas ou sobre vegetais em decomposição. Alimentam-se principalmente de perífiton e têm preferência por ambientes de águas duras,

o qual representa águas com valores médios de dureza total em torno de 300 mg CaCO<sub>3</sub>/L e alcalinidade média de 150 CaCO<sub>3</sub>/L (Abílio & Watanabe, 1998).



Figura 8 – Molusco *Lymnaea columella* Say, 1817 (escala: 1 mm)  
Fonte: [www.cofc.edu/.../lymnaeidae/l\\_columella.html](http://www.cofc.edu/.../lymnaeidae/l_columella.html)

O parasita necessita de hospedeiros intermediários como o molusco do gênero *Lymnaea* para se desenvolver (Luz et al., 1992) para completar o seu ciclo, sendo que o Brasil possui as três espécies de hospedeiro intermediário que são: *L. columella*, *Lymnaea viatrix* Orbigny, 1835, *Lymnaea cubensis* Pfeiffer, 1839.

## 2.5. Hospedeiros definitivos de *Fasciola hepatica*

*Fasciola hepatica* é responsável por causar doença em bovinos, ovinos e humanos, podendo também infectar animais como os caprinos, zebuínos, bubalinos, asininos e outros, como suínos e equinos, embora com menor incidência. Alguns mamíferos silvestres são também alvos deste parasita, como a lebre, o coelho, cervídeos, javalis (Sousa, 2001) e até pequenos roedores (Conceição, 2001). Dentre as parasitoses consideradas zoonoses, a fasciolose encontra-se muito bem estudada e conhecida em ruminantes (bovinos e ovinos), porém pouco registrada em animais silvestres (Silva Santos et al., 1992).

## 2.6. Distribuição geográfica

A epidemiologia de *F. hepatica* no território brasileiro teve o seu primeiro registro de caso humano realizado por Rey (1958) no Mato Grosso do Sul, seguindo-se as referências de Santos & Vieira (1965, 1967), Correa & Fleury (1971), Amato & Silva (1977), Baransky et al (1977), Amaral & Buseti (1979, 1980), Buseti (1982), Buseti & Thomas & Soccol (1987), Pile et al., (2000) e mais recentemente Igreja et al., (2004).

No Brasil, a espécie *L. columella* é o hospedeiro de maior interesse, pela sua ampla distribuição geográfica e por sua ocorrência estar associada à doença (Rezende et al., 1973; Gonzales et al., 1974; Paraense, 1982, 1983, 1986; Gomes et al., 1985; Amato et al., 1986; Araújo et al., 1995; Serra-Freire, 1995; Luz et al., 1994; 1996; Abílio & Watanabe, 1998; Souza et al., 1998; Serra-Freire, 1999).

A distribuição da doença não é estritamente fixa, podendo assim se manifestar em qualquer lugar que tenha condições favoráveis como o clima e o meio ambiente. De ampla distribuição geográfica (cosmopolita), ocorre principalmente em regiões de clima tropical e subtropical do mundo como: Europa, Américas, Ásia, Austrália, Nova Zelândia e alguns países do norte africano, bem como regiões montanhosas e zonas mais frias do Paquistão, Quênia e África do Sul. Nas Américas é encontrado principalmente na Argentina, Uruguai, Chile, Venezuela, Cuba, México e Porto Rico (Bustamante, 1991).

No Brasil, foram descritos 57 casos da doença em seres humanos encontrada nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Mato Grosso do Sul, Bahia e Paraná, a grande maioria (Mezzari et al., 2000). Já em São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais são incidentes da fasciolose bovina (Serra-Freire, 1995) (figura 9). No Rio de Janeiro, foram relatados dois casos humanos de fasciolose por Pile et al. (2000) e o mais recente caso relatado foi por Igreja et al (2004) em área rural nesse mesmo estado.

Em comparação com a infestação animal, a doença humana é pouco comum, contudo o número de casos de pessoas infectadas vem aumentando muito nos últimos 25 anos. Existem aproximadamente 180 milhões de pessoas com risco de infecção e uma estimativa de que cerca de 2,4 milhões já estejam infectadas em todo o mundo (Gonzalez et al., 1987; Echevarria, 2004; Lopez & Silva, 2004). Além de sua importância como zoonose, a fasciolose também é uma doença de grande importância econômica para a sanidade de rebanhos bovinos.

Em São Paulo no município de Redenção da Serra, a fasciolose bovina já foi registrada por Pile et al (1994) e Vasconcellos (2000) que observaram a prevalência da

doença em 30% do rebanho e no município de São Luis do Paraitinga-SP, foi registrada por Caniné, (2010).

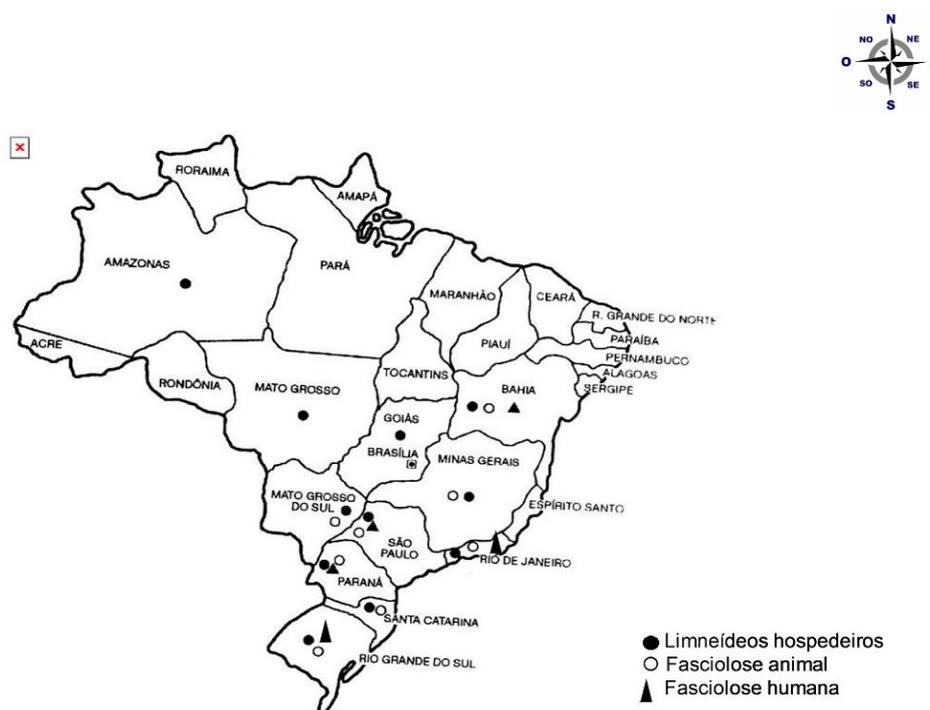


Figura 9 – Distribuição da fasciiose no Brasil. Fonte: Souza & Lima (1990)  
Escala topográfica 1: 250.000.000

## 2.7. Medidas de controle da fasciiose

O estudo dos hospedeiros intermediários de *F. hepatica* (incluindo sua taxonomia, morfologia, biologia, ciclo biológico, distribuição e ecologia) é importante para que se possa interpretar corretamente o papel que cumprem na transmissão da doença podendo orientar as medidas de controle adequadas a cada localidade, dirigidas aos caramujos. Para o sucesso da vigilância e do controle da fasciolose, as medidas preventivas, atualmente disponíveis, devem ser aplicadas de maneira integrada, desde o diagnóstico precoce e o tratamento dos portadores de *F. hepatica*, passando pela pesquisa, pelo controle dos hospedeiros intermediários, até as ações educativas em saúde para as populações sob risco e, finalmente, as ações de saneamento, para modificação dos fatores ambientais favoráveis à transmissão e à manutenção da doença.

Para se obter bons resultados no controle dessas parasitoses, deve-se atuar no ambiente e nos animais parasitados. A administração de anti-helmínticos é o principal método usado para controlar a fasciolose em animais. Os fármacos anti-helmínticos diferem em disponibilidade, preço, eficácia e segurança, porém, a maioria dos produtos é eficaz contra a espécie *F. hepatica* (Torgerson & Claxton, 1999).

A prevenção da fasciolose humana pode ser feita pelo rigoroso controle na qualidade de agriões e outros vegetais aquáticos contendo metacercárias, para o consumo humano, especialmente em zonas endêmicas. As espécies de plantas de água doce diferem de acordo com zonas geográficas e hábitos alimentares (Mas-Coma et al., 1995, 1999a; Mas-Coma, 2004). Muitos fármacos têm sido usados para tratar a fasciolose em doentes humanos. Deidroemetina foi considerada a terapia de escolha há algumas décadas atrás, mas devido a sua toxicidade, permitiu que o Bitionol se tornasse o fármaco de escolha por muitos anos (Savioli et al., 1999) e o Praziquantel, prescrito em três doses, por via oral (Rey, 2008).

Mais tarde, em doses adequadas, o Triclabendazole (um derivado de Benzimidazol), foi altamente eficiente nos seres humanos (Esteban et al., 1998; Mas-Coma et al., 1999b). Sendo o Triclabendazole (Egaten®) atualmente o fármaco de eleição para a fasciolose humana, causada por *F. hepatica* (Savioli et al., 1999). Já o tratamento de *F. hepatica* em bovinos e vacas é feito com Clorsulon® (Lessa, 1997; Moll et al., 2000).

## 2.8. Controle dos hospedeiros intermediários

### a) Controle biológico

O controle biológico refere-se à exploração, introdução, criação, liberação, estabelecimento e colonização de inimigos naturais de pragas, com o objetivo de reduzir o nível populacional de um determinado organismo indesejável. Isso envolve a transferência de organismos vivos de uma região para outra ou mesmo de um país para outro, onde corre o risco de introduzir organismos indesejáveis, junto aos organismos benéficos e podendo ocorrer um desequilíbrio ecológico, e até mesmo a extinção de espécies. A maioria dos casos de controle biológico em criadouros naturais ocorre de modo acidental e em locais específicos (WHO, 1983, OMS, 1994).

Embora os agentes de controle biológico (ACBs) sejam considerados inócuos à biodiversidade em comparação aos agrotóxicos, toda proposta de introdução de organismos exóticos traz consigo um risco potencial de efeito adverso ao ambiente. Este deve ser avaliado antes que a introdução propriamente dita ocorra.

#### b) Controle químico

Atualmente, existe um crescente interesse no desenvolvimento de tecnologias apropriadas que permitam às comunidades afetadas o uso de produtos naturais com propriedades moluscidas. Sua utilização deve ser encaminhada na forma de um sistema autossustentável de cultivo e aplicação dentro de um programa integrado de controle da doença (Baptista et al., 1994). Tais estratégias se ressaltam, tendo-se em vista o alto custo dos moluscidas sintéticos (bem como sua toxicidade generalizada para a flora e a fauna dos ambientes tratados) e algumas dificuldades operacionais de transporte e aplicação, o que os torna proibitivos para essa finalidade.

A redução do grau da infestação das pastagens por metacercárias é conseguida com o uso de fasciolicidas nos animais parasitados, pois a diminuição da quantidade de ovos no ambiente leva a um menor número de hospedeiros intermediários infectados.

O uso de substâncias químicas moluscidas na água tem sérias e incontestáveis restrições, fazendo com que o impasse se mantenha e que se procurem outras formas. Vasconcellos & Schall (1986) observaram pela primeira vez a atividade moluscida do látex da planta *Euphorbia splendens* var. *hislopii* sobre *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) e *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835), hospedeiros intermediários do

*Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. Vasconcellos & Amorim (2003a e 2003b) estudando a utilização do extrato do látex de *E. splendens* var. *hislopii* observaram que o mesmo possui propriedades moluscicida sobre a espécie *L. columella* à baixas concentrações.

### c) Controle ambiental

Como métodos de controle ambiental consideram-se o saneamento hídrico e o manejo ambiental para o controle de hospedeiros intermediários. Consistem, principalmente, na eliminação de criadouros pelo aterramento de coleções hídricas, sempre que a medida for tecnicamente recomendada. A drenagem e a retificação de leitos, o revestimento e a canalização dos cursos d'água também podem ser úteis. Algumas vezes, soluções de baixo custo, como a limpeza e a remoção da vegetação aquática, são suficientes (Brasil, 2008).

Todas as massas d'água, sem qualquer uso pela população humana, que não representem fonte de vida ou sobrevivência para outras espécies animais devem ser drenadas ou aterradas quando a medida for tecnicamente recomendada, sob o ponto de vista do controle da fasciolose. Essa drenagem consiste na aplicação de medidas que promovam o enxugamento do mesmo, evitando a formação de criadouros potenciais pelo abaixamento do lençol freático superficial. É um método radical de controle, sendo usado também na recuperação de terrenos alagados (Brasil, 2008).

O controle da transmissão da fasciolose requer medidas de âmbito geral, como o aterramento das coleções d'água que contenham os caramujos hospedeiros ou o remanejamento dos rebanhos, impedindo o contato com a água e pastagens contaminadas, além de medidas específicas que impliquem na interrupção do ciclo de vida do parasita. Essas medidas podem ser alcançadas através da diminuição das populações dos caramujos hospedeiros intermediários em conjunto com a quimioterapia dos hospedeiros definitivos infectados, que podem rapidamente reduzir a prevalência da doença e sua transmissão em áreas endêmicas (Brasil, 2008).

## 3. JUSTIFICATIVA

A fasciolose já foi diagnosticada em bovinos e moluscos nos municípios de Redenção da Serra-SP (Vasconcellos, 2000) e São Luis do Paraitinga-SP (Caniné, 2010).

Com isso, objetiva-se realizar um levantamento malacológico da população de *L. columella* na Fazenda São Joaquim, no Município de Redenção da Serra-SP e na fazenda Sítio Recreio, no Município de São Luis de Paraitinga-SP, para avaliar o crescimento da população desse molusco presente nessas fazendas e se ainda encontram-se infectados por *F. hepatica* após 14 anos do estudo realizado por Vasconcellos (2000), o qual testou o látex da planta “coroa-de-cristo como moluscicida, assim como para se verificar a infecção nos bovinos por *F. hepatica* das duas fazendas. Essa avaliação se faz importante, pois após esse tempo transcorrido poderá se verificar se as populações de *L. columella* continuam bem estabelecidas no local, mesmo após as intervenções realizadas e a epidemiologia de *F. hepatica* nas fazendas.

#### 4. OBJETIVOS

##### 4.1. Objetivo geral

Realizar uma atualização da malacofauna de *L. columella* em duas fazendas nos municípios de Redenção da Serra-SP e São Luis do Paraitinga-SP, avaliando a prevalência da fasciolose, por serem áreas endêmicas de *F. hepatica* e apresentarem condições favoráveis para o desenvolvimento da população de *L. columella*.

##### 4.2. Objetivo específico

. Realizar coleta quantitativa dos moluscos encontrados na área anteriormente demarcada onde foi realizado o tratamento com o látex.

. Avaliar a taxa de infecção por *F. hepatica* possível em moluscos *L. columella* encontrados e em amostras de bovinos presentes nas duas fazendas.

. Comparar e avaliar o presente estudo com os trabalhos de Vasconcellos (2000) e Caniné (2010).

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1. Local e tempo de estudo

O estudo foi realizado em duas propriedades no estado de São Pulo, sendo: 1) Fazenda São Joaquim (FSJ-RS) no município de Redenção da Serra, SP, que fica situado na zona fisiográfica do Alto do Vale do Paraíba, com as coordenadas 23°16'01'' S e 45°32'12'' W, a 780 metros de altitude e 163 km da capital. O clima é temperado com inverno seco e temperatura média anual entre 17 °C e 18 °C (figura 10); 2) Fazenda Sítio Recreio (FSR-SLP) em São Luis de Paraitinga, SP, está situado na zona fisiográfica do Alto do Vale do Paraíba, com a coordenada Longitude 23°13'18'' S e Latitude 45°18'36'' W, altitude de 741m e 170 km da capital. O clima é temperado com inverno seco e temperatura média de 21°C, variando entre 12°C e 27 °C (figura 11).

As amostragens foram realizadas em dias diferentes, em três meses distintos, sendo outubro e dezembro de 2013 e março de 2014.



Figura 10. Biótopo na Fazenda São Joaquim em Redenção da Serra-SP  
(Foto: Isabella Luiza)



Figura 11. Biótopo na Fazenda Sítio Recreio em São Luis do Paraitinga-SP  
(Foto: Isabella Luiza)

A escolha desses dois locais para o presente estudo ocorreu pelo fato de existir população autóctone de *L. columella*, por ser uma área endêmica de fasciolose (Pile et al., 1994; Vasconcellos, 2000) e apresentar condições favoráveis para o desenvolvimento destes moluscos. São caracterizadas por possuírem piquetes para pastagem de gado bovino,

sendo a vegetação predominante de *Brachiaria decumbens*. Estas fazendas possuem instalações próprias para manuseio do gado, tendo esterqueiras que escoam seus resíduos diretamente para as áreas onde foram desenvolvidos os trabalhos. Cada propriedades é cortada por um riacho com pequeno e contínuo fluxo de água com baixa turbidez e vegetação marginal. Estes riachos são margeados por áreas alagadiças onde habitam os moluscos *L. columella*.

## 5.2. Método de coleta

As coletas foram realizadas nos mesmos locais em cada fazenda, por 1 coletor. Na FSJ-RS foi demarcada uma área com quadrat de 1,00 x 1,00m, e a amostragem dos moluscos realizada em um período de 20 minutos (Olivier & Schneiderman, 1956) (figura 12).



Figura 12. Vista do quadrat (local de amostragem dos moluscos)  
Foto: Mauricio Vasconcellos.

Já na FSR-SLP a demarcação para ser realizada a coleta foi de 1metro linear, por 20 minutos, na margem da extensão do córrego (figura 13).



Figura 13. Vista da extensão do córrego e método de coleta.  
Foto: Mauricio Vasconcellos

O método de coleta foi com o auxílio de uma pinça para a coleta dos moluscos que se encontravam na superfície e substrato, e para os moluscos submersos na água com auxílio da concha de captura (conchada/área).

Com a concha de captura se raspava a vegetação submersa, as margens e o fundo dos criadouros. Na superfície, o material recolhido foi cuidadosamente analisado à procura dos moluscos, observando-se as folhas e os pequenos gravetos, onde os exemplares jovens ou pequenos moluscos encontravam-se aderidos.

O material de ambas as fazendas foi recolhido e triado em campo e colocado em recipientes de plásticos com gaze umedecida (para evitar que ressecassem) e levado ao laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental (LAPSA) – Instituto Oswaldo Cruz - FIOCRUZ, para posterior análise.

### 5.3. Contagem e medição de *Lymnaea columella*

Os moluscos coletados foram contados e mensurados em comprimento máximo de concha (mm) com o auxílio de uma régua graduada (figura 14). Os exemplares foram divididos entre jovens (até 5 mm de comprimento de concha) e adultos (acima de 5 mm de comprimento de concha) de acordo com Gomes et al.(1975).



Figura 14. Contagem e medição de *Lymnaea columella* Say, 1817.  
Foto: Mauricio Vasconcellos

#### 5.4. Análise dos animais

Todos os moluscos coletados foram divididos em grupo de cinco indivíduos, em frascos de vidro transparentes, contendo água destilada e tela para evitar a fuga dos mesmos, para serem submetidos ao método de exposição à luz de lâmpadas incandescentes (60W), por 2 horas. Para a visualização da presença de cercárias, quando eliminadas na água, foi feita com o auxílio do microscópio estereoscópico. Depois de uma semana da primeira análise os moluscos foram submetidos novamente ao método de exposição à luz por 2 horas para confirmação dos resultados (figura 15).



Figura 15. Exposição de *Lymnaea columella* Say, 1817 à luz.  
Foto: Mauricio Vasconcellos

Caso o resultado da exposição à luz fosse negativo, uma amostra de 10% dos caramujos de cada local foi examinada através de esmagamento de sua concha entre lâminas (figura 16), seguido pela observação dos tecidos sob estereomicroscópio à procura de estádios larvais de *F. hepatica*.



Figura 16. Esmagamento de *Lymnaea columella* entre lâminas  
Foto: Isabella Luiza

### 5.5. Análise físico-química da água do habitat de *Lymnaea columella*

No Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental – LAPSA (Química), foram analisados alguns parâmetros físico-químicos de amostras da água dos locais onde foram realizadas as coletas dos moluscos (figura 17), seguindo a metodologia empregada pela FEEMA (1979), tais como: condutividade ( $\mu\text{mho/cm}$ ), alcalinidade ( $\text{mg/l CaCO}_3$ ), dureza total ( $\text{mg/l Ca CO}_3$ ), dureza de cálcio ( $\text{mg/l Ca CO}_3$ ), dureza de magnésio ( $\text{mg/l Ca CO}_3$ ), cloretos ( $\text{mg/l Cl}^-$ ), cálcio e magnésio concentrado ( $\text{mg/l}$ ), pH, cloretos ( $\text{mg/l Cl}^-$ ) e parâmetros microbiológicos (presença de coliformes totais, coliformes fecais e *Salmonella*).



Figura 17. Coleta de água para análise em laboratório  
Foto: Mauricio Vasconcellos

### 5.6. Amostragem e exame de fezes de bovinos para avaliação da prevalência da fasciolose

Foi realizado um acompanhamento paralelo da prevalência da fasciolose na criação de gado leiteiro das duas fazendas (FSR-SLP e FSJ-RS), durante o período do trabalho. Foram efetuadas coletas de amostras de fezes aleatoriamente em cerca de 30 % da população de bovinos mestiços com idade entre nove meses e dois anos, aproximadamente,

nos meses outubro e dezembro/13 e março/14, sendo 70 amostras na FSJ-RS e 47 amostras na FSR-SLP, perfazendo um total de 117 amostras nas duas fazendas. Essas amostras foram coletadas diretamente da ampola retal dos animais (figura 18), utilizando-se sacos plásticos que eram identificados e acondicionados em isopor com gelo para serem transportados ao laboratório.



Figura 18. Coleta de fezes dos bovinos diretamente da ampola retal  
Foto: Mauricio Vasconcellos

Esse material foi processado pela técnica de Quatro Tamises (Figura 19), para o diagnóstico coprológico da fasciolose (Girão & Ueno, 1985) sendo posteriormente examinado com auxílio de um microscópio estereoscópico para observação de presença de ovos de *F. hepatica*.

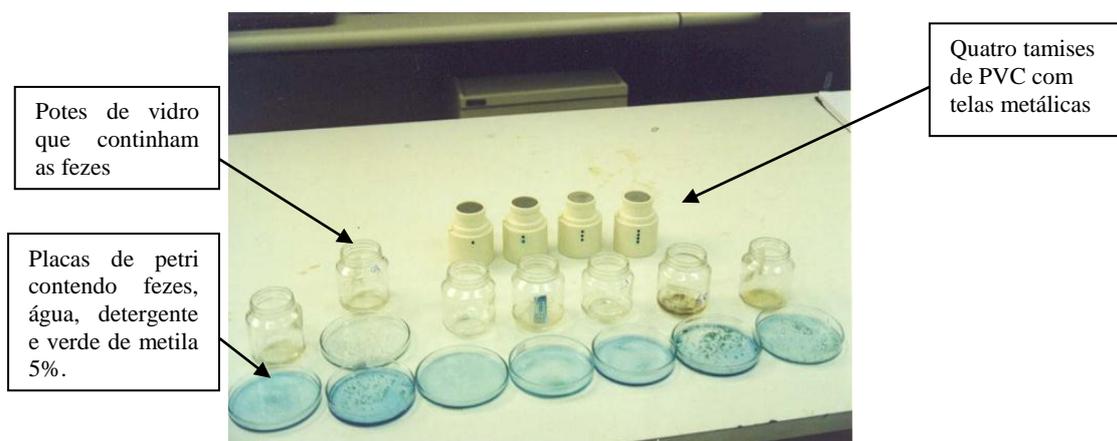


Figura 19. Quatro Tamises utilizados para obtenção dos ovos de *F. hepatica* das fezes dos bovinos.  
Foto: Mauricio Vasconcellos.

### 5.7. Dados climáticos

Os dados mensais do clima da região tais como temperatura do ar e precipitação pluviométrica, foram obtidos do CPTEC - Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE) pela internet através do site [www.cptec.inpe.gov.br](http://www.cptec.inpe.gov.br).

### 5.8. Análise estatística

Para os dados obtidos das amostragens dos moluscos (densidade e comprimento de concha) foram calculados índice de correlação (SOKAL & ROHLF, 1981) comparado com os dados climáticos. Os dados da infecção dos bovinos foram expressos em percentual.

## 6. RESULTADOS

Os totais de moluscos da espécie *L. columella* coletados nos meses de outubro e dezembro de 2013 e março de 2014, nas fazendas Sítio Recreio em São Luís do Paraitinga-SP (FSR-SLP) e São Joaquim em Redenção da Serra-SP (FSR-RS), estão demonstrados na figura 20.

Observa-se que no mês de outubro foram coletados 98 moluscos, 93 em dezembro de 2013 e 151 em março de 2014, perfazendo um total de 342 moluscos, na FSR-SLP. Já na FSR-RS, foram coletados 143 moluscos no mês de outubro, 133 no mês de dezembro de 2013 e 30 em março de 2014, somando 306 moluscos, o que totaliza no geral 648 moluscos da espécie *L. columella* coletados nas duas fazendas.

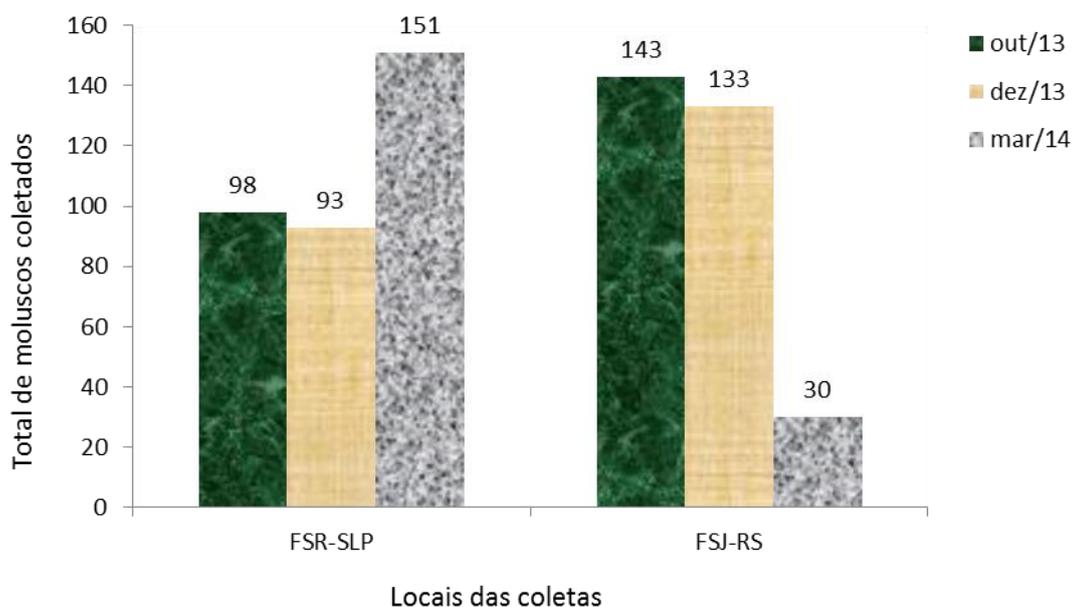


Figura 20. Total de *Lymnaea columella* coletadas na Fazenda Sítio Recreio - São Luis do Paraitinga-SP (FSR-SLP)) e Fazenda São Joaquim-Redenção da Serra-SP (FSJ-RS) em outubro e dezembro/2013 e março/2014.

A tabela 1 demonstra o total de exemplares de *L. columella* classificados pelo comprimento de concha (mm), coletados nas duas fazendas em outubro e dezembro de 2013 e março de 2014. Pode-se observar que os comprimentos de concha dos animais coletados variaram de 1 a 13 mm. O tamanho em que a frequência foi maior foi 08 mm de comprimento de concha, com 212 exemplares e a menor foi 13 mm com apenas 1 molusco coletado. Nos tamanhos 02 e 11 mm, nenhum molusco foi obtido.

Tabela 1. Total de *Lymnaea columella* pelo tamanho de concha (mm) coletadas na fazenda Sítio Recreio em São Luís do Paraitinga-SP (FSR-SLP) e fazenda São Joaquim em Redenção da Serra-SP (FSJ-RS) em outubro e dezembro/2013 e março/2014.

Tamanho (mm)	Out/2013		Dez/2013		Mar/2014		Total
	FSR-SLP- out/2013	FSJ-RS- out/2013	FSR-SLP- dez/2013	FSJ-RS- dez/2013	FSR-SLP- mar/2014	FSJ-RS- mar/2014	
1	8	5	12	9	0	0	34
2	0	0	0	0	0	0	0
3	0	11	0	0	0	0	11
4	3	0	0	0	0	0	3
5	1	30	1	0	2	7	41
6	2	22	4	24	4	4	60
7	26	25	13	26	22	6	118
8	24	27	36	46	75	4	212
9	33	23	27	26	39	6	154
10	0	0	0	0	9	2	11
11	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	2	0	1	3
13	1	0	0	0	0	0	1
Total	98	143	93	133	151	30	648

Os caramujos com maior tamanho de concha coletados na FSR-SLP em março de 2014, tinham 8 mm de comprimento de concha, com um total de 75 exemplares e os coletados na FSJ-RS em dezembro de 2013, com maior tamanho, tinham 8 mm de comprimento com total de 46 moluscos, sendo esse, o maior tamanho encontrado nas duas fazendas (Figuras 21 e 22).

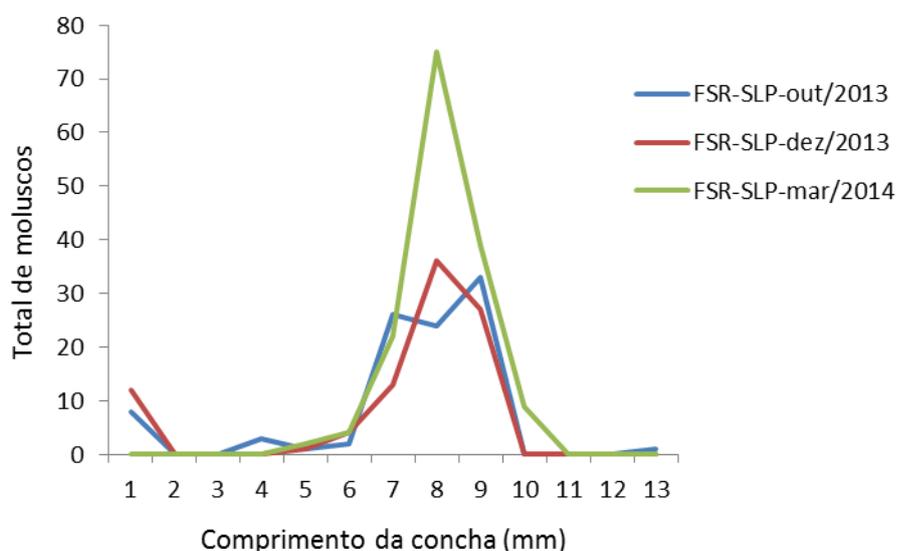


Figura 21. Total de *Lymnaea columella* distribuídas pelo comprimento de concha (mm), coletadas na Fazenda Sítio Recreio-São Luis do Paraitinga-SP (FSR-SLP), nos meses outubro e dezembro/2013 e março/2014.

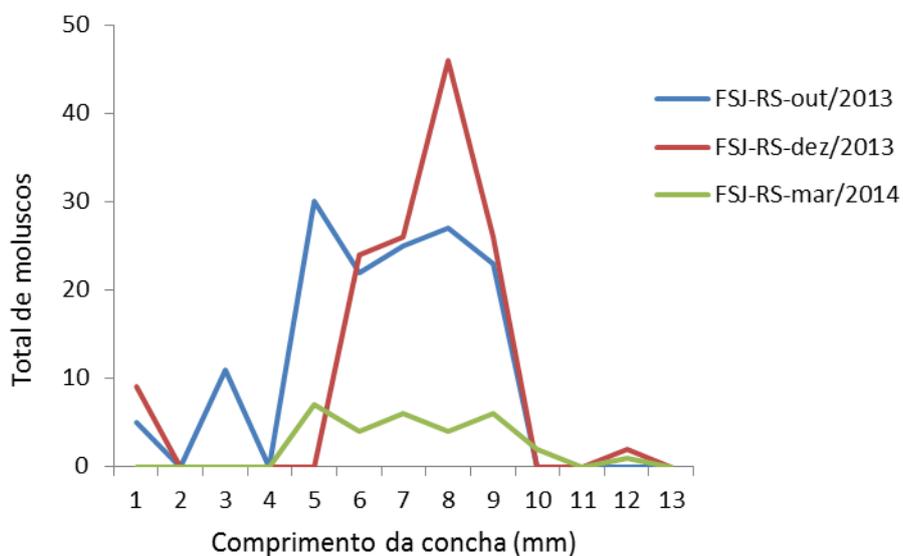


Figura 22. Total de *Lymnaea columella* distribuídas pelo comprimento de concha (mm), coletadas na Fazenda São Joaquim-Redenção da Serra-SP (FSJ-RS), nos meses outubro e dezembro/2013 e março/2014.

A distribuição da frequência da população de *L. columella* jovem e adulta nas duas fazendas está representada na figura 23. Do total de 648 exemplares coletados, 89 (13,7%) eram animais jovens e 559 (86,3%) animais adultos.

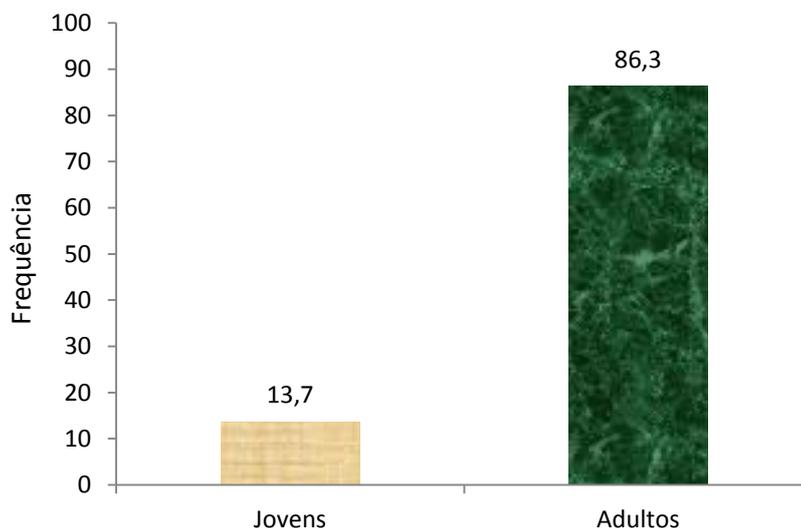


Figura 23. Frequência total (%) de caramujos jovens e adultos coletados nas fazendas Sítio Recreio em São Luis do Paraitinga-SP e Fazenda São Joaquim em Redenção da Serra-SP.

Observa-se que nas duas fazendas nas amostragens dos moluscos a proporção foi maior de animais adultos em relação aos animais jovens. Na FSR-SLP frequência de caramujos jovens foi de 12,3%, 14,0% e 1,3%, respectivamente e na FSJ-RS foi de 32,2%, 6,8% e 23,3%, em outubro e dezembro de 2013 e março de 2014, respectivamente. Entre os caramujos adultos essa frequência foi de FSR-SLP, 87,7%, 86,0% e 98,7%, respectivamente e na FSJ-RS, 67,8%, 93,2% e 76,7%, em outubro e dezembro de 2013 e março de 2014, respectivamente (figura 24).

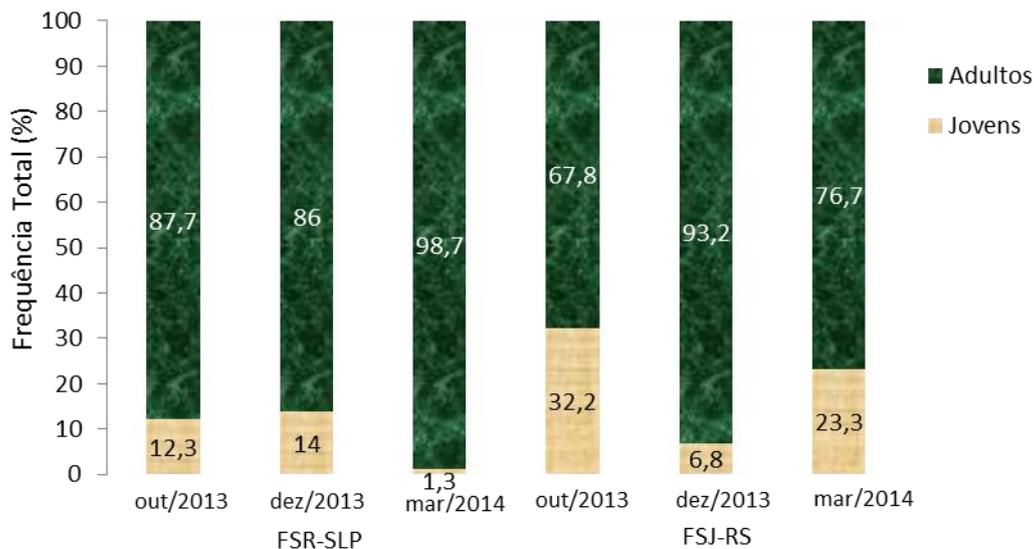


Figura 24. Frequência total (%) de caramujos jovens e adultos coletados nos meses de outubro e dezembro de 2013 e março de 2014, nas fazendas Sítio Recreio em São Luis do Paraitinga-SP (FSR-SLP) e Fazenda São Joaquim em Redenção da Serra-SP (FSR-RS).

No total dos animais coletados por fazenda a FSR-SLP apresentou 7,9% de animais jovens e 92,1% de adultos e a FSJ-RS 20,3% de jovens e 79,7% de adultos (Figura 25)

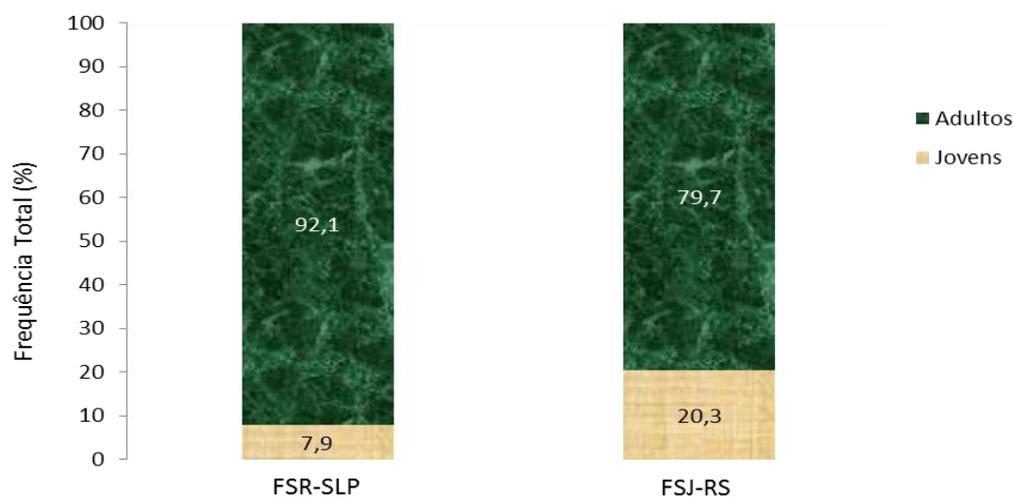


Figura 25. Frequência total (%) de caramujos jovens e adultos coletados por fazenda na Fazenda Sítio Recreio em São Luis do Paraitinga-SP (FSR-SLP) e Fazenda São Joaquim em Redenção da Serra-SP (FSR-RS).

A média diária da temperatura ambiente ( $^{\circ}\text{C}$ ) das cidades de Redenção da Serra-SP e São Luis do Paraitinga-SP, em outubro e dezembro de 2013 e março de 2014, respectivamente, onde as fazendas estão localizadas estão representas nas figuras 26 e 27. Observa-se que quando comparadas entre elas, houve somente uma pequena variação na segunda quinzena do mês de outubro de 2013. Ressalta-se que as médias mensais das temperaturas foram semelhantes nas duas cidades ( $19,9^{\circ}\text{C}$ ;  $23,6^{\circ}\text{C}$  e  $23,9^{\circ}\text{C}$ ). Os totais de moluscos coletados em cada fazenda estão representados nos dias correspondentes de cada mês de coleta.

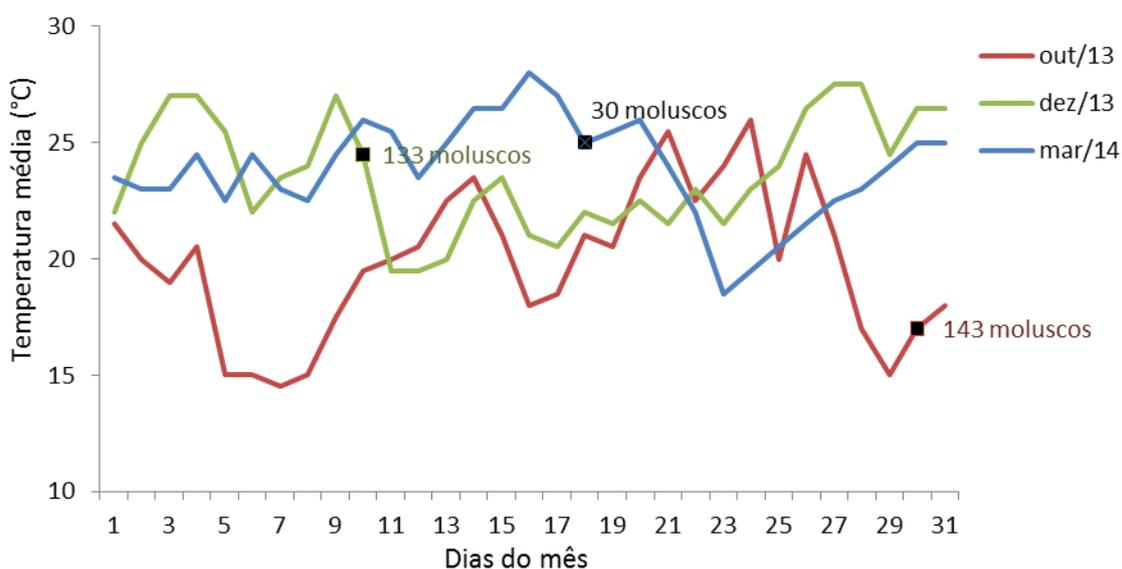


Figura 26. Valores diários de temperatura média ( $^{\circ}\text{C}$ ) ambiente nos meses de outubro e dezembro/2013 e março/2014 e total de moluscos coletados em 30/out/13, 10/dez/13 e 18/mar/14, na Fazenda São Joaquim em Redenção da Serra-SP.

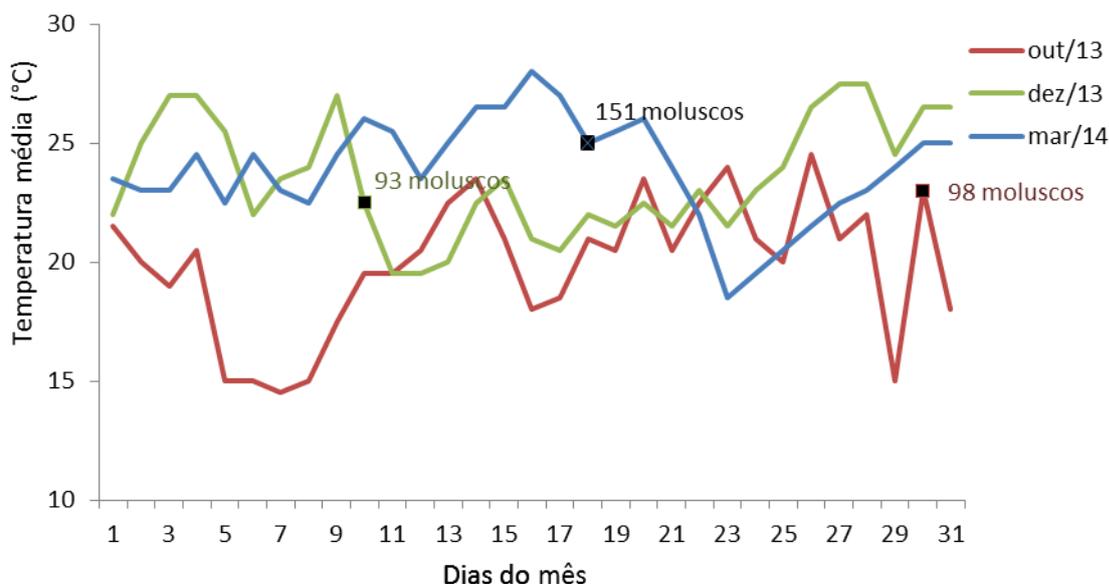


Figura 27. Valores diários de temperatura média (°C) ambiente nos meses de outubro e dezembro/2013 e março/2014 e total de moluscos coletados em 30/out/13, 10/dez/13 e 18/mar/14, na Fazenda Sítio Recreio em São Luis do Paraitinga-SP.

Os totais de precipitação pluviométrica (mm) diárias nas cidades onde as fazendas se localizam em outubro e dezembro de 2013 e março de 2014 estão demonstrados na figura 28. Esses valores foram iguais devido às cidades serem vizinhas e distando cerca de 20 km entre elas. Pode-se observar que os maiores valores foram registrados no início da 1ª e 2ª quinzena de outubro de 2013 e a partir do 6º dia de março de 2014, sendo que nesse intervalo, pouco ou nenhuma precipitação foi registrada. Já no mês de dezembro de 2013 foi marcado por pouca precipitação pluviométrica nas duas cidades com um pequeno pico nos primeiros dias e outro no fim do mês. Os totais de precipitação nas duas cidades foram 84 mm em outubro e 37 mm em dezembro de 2013 e de 155 mm em março de 2014.

A análise de correlação demonstrou que há forte correlação positiva entre a densidade total de moluscos coletados por fazenda e a pluviosidade, (FSL-SLP,  $r = 0,9818$ ; FSJ-RS,  $r = 0,9165$ ) e fraca correlação positiva entre comprimento médio de concha e pluviosidade (FSL-SLP,  $r = 0,7380$ ; FSJ-RS,  $r = 0,1603$ ) (figuras 29 e 30)

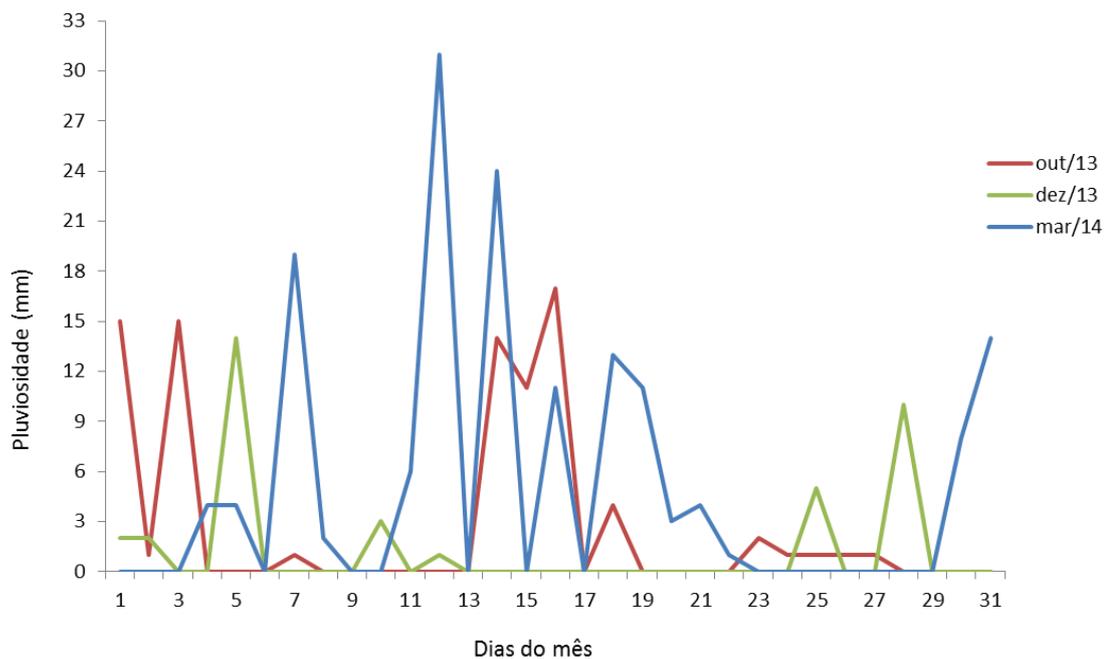


Figura 28. Valores diários de pluviosidade (mm) nos meses de outubro e dezembro/2013 e março/2014 em Redenção da Serra-SP e São Luis do Paraitinga-SP.

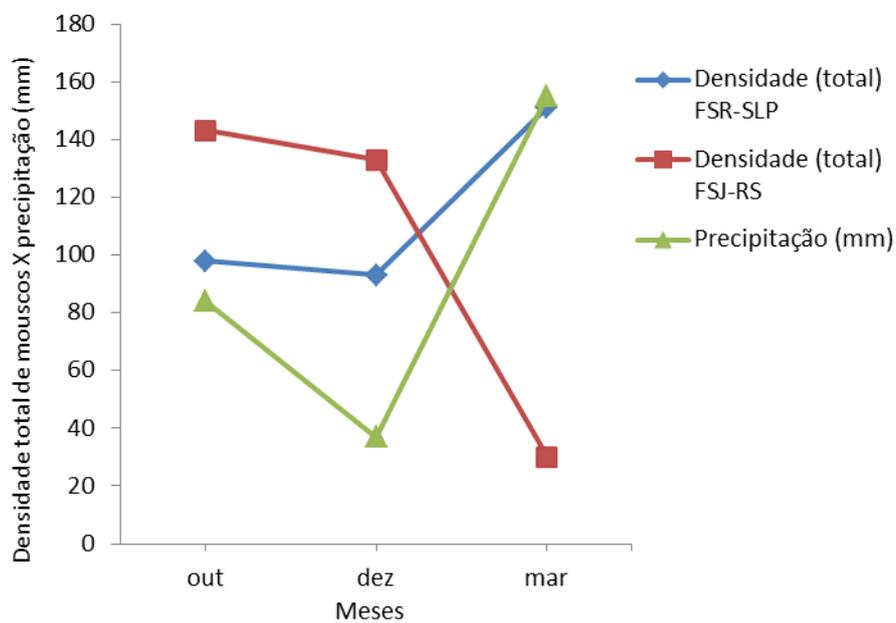


Figura 29. Densidade total de mosquitos coletados e precipitação pluviométrica (mm) nos meses de outubro e dezembro/2013 e março/2014 em São Luis do Paraitinga-SP (FSR-SLP,  $r = 0,9818$ ) e Redenção da Serra-SP (FSJ-RS,  $r = 0,9165$ ).

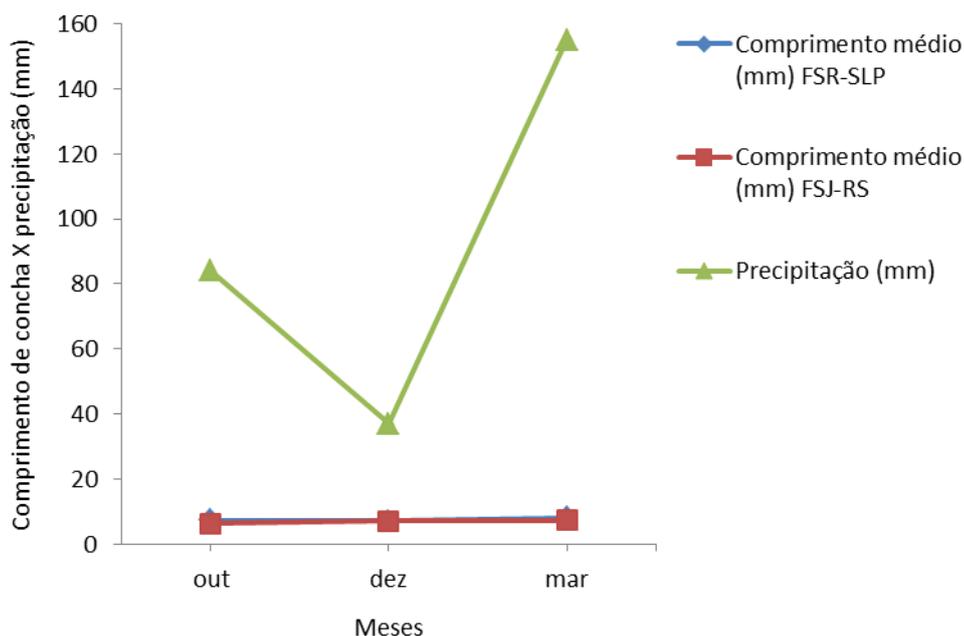


Figura 50. Comprimento médio de concha (mm) e precipitação pluviométrica (mm) nos meses de outubro e dezembro/2013 e março/2014 em São Luis do Paraitinga-SP (FSR-SLP,  $r = 0,7380$ ) e Redenção da Serra-SP (FSJ-RS,  $r = 0,1603$ ).

Do total de 648 exemplares de *L. columella* coletados, nenhum estava positivo para formas larvares de *F. hepatica*.

Os resultados das análises físico-químicas de amostras de água coletadas nos locais de amostragens dos moluscos nas duas fazendas, estão representados na tabela 2.

Observa-se pelas médias dos valores dos parâmetros analisados que os dados mantiveram-se bem abaixo dos valores máximos obtidos para água do habitat natural de moluscos hospedeiros, incluindo *L. columella*. Ressalta-se que de todos os parâmetros analisados somente as médias de cloretos ( $\text{mg/L Cl}^-$ ) para as duas fazendas (30,13-FSR-SLP e 22,17-FSJ-RS) ficaram acima do valor máximo para água do habitat natural (18,1). Os valores das análises microbiológicas deram positivos para coliformes totais, coliformes fecais e Salmonela para as duas fazendas sendo que para FSJ-RS o valor de coliforme total foi bastante elevado, sendo encontrado 3037,5 UFC/ml.

Tabela 2. Valores médios de parâmetros físico-químicos encontrados nas amostras de água das fazendas Sítio Recreio em São Luis do Paraitinga (FSR-SLP) e Fazenda São Joaquim em Redenção da Serra-SP (FSR-RS) e no habitat natural de *Lymnaea columella*.

Parâmetros	Locais		Habitat Natural
	FSR-SLP	FSJ-RS	Valor Máximo
Conductividade ( $\mu\text{mho/cm}$ )	42	145,6	2000
Alcalinidade ( $\text{mg/L CaCO}_3$ )	75	106,5	415
Dureza Total ( $\text{mg/L CaCO}_3$ )	13,64	50	980
Dureza de Ca ( $\text{mg/L CaCO}_3$ )	0	27,27	730
Dureza de Mg ( $\text{mg/L CaCO}_3$ )	13,64	22,73	-
Ca concentrado ( $\text{mg/L}$ )	0	10,91	129
Mg concentrado ( $\text{mg/L}$ )	3,27	5,46	13,4
Cloretos ( $\text{mg/L Cl}^-$ )	30,13	22,73	18,1
pH	6,17	5,76	9,1
Coliformes Totais (UFC/mL)	128,5	3037,5	0
Coliformes Fecais (UFC/mL)	4,45	25	0
Salmonela (UFC/mL)	0,15	104	0

A prevalência da infecção por *F. hepatica* em bovinos das fazendas FSR-SLP e FSJ-RS, nos meses de outubro e dezembro/13 e março/14 está demonstrada na figura 31.

Observa-se que no mês de outubro/13, na FSR-SLP, de um lote de 29 bovinos, a taxa de prevalência foi de 6,9%, ou seja, as amostras de fezes coletadas de bovinos estavam positivas para ovos de *F. hepatica*. No mês de dezembro/13, na FSJ-RS, em um lote de 30 bovinos, essa taxa foi de 3,3%. Em março/14, nenhuma das 58 amostras de fezes dos bovinos, das duas fazendas, estavam positivas para ovos desse trematódeo.

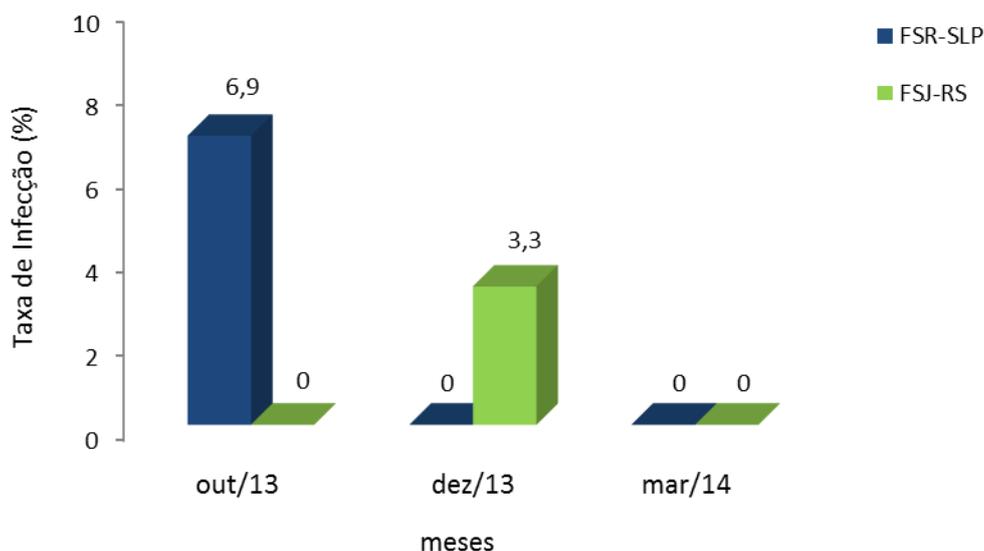


Figura 31. Taxa de infecção (%) de bovinos por *Fasciola hepatica*, nos meses de outubro e dezembro de 2013 e março de 2014, nas fazendas Sítio Recreio em São Luis do Paraitinga-SP (FSR-SLP) e Fazenda São Joaquim em Redenção da Serra-SP (FSJ-RS).

## 7. DISCUSSÃO

Os meses do outono/verão de 2013/2014, respectivamente, foram considerados atípicos porque tiveram um longo período de estiagem, somente com chuvas pontuais e mais intensas no outono, com temperatura ambiente bem acima da média histórica e baixíssima umidade do ar. Esses fatores alteraram, consideravelmente, o meio ambiente, e consequentemente geraram mudanças no microclima do habitat de *L. columella*, causando modificações e resultando em grandes perdas nas colônias dos moluscos. Essas estações do ano, acima citadas, começaram a sofrer influência do fenômeno natural conhecido por El Niño, que causa mudanças acentuadas na atmosfera da Terra, devido ao aquecimento da temperatura do Oceano Pacífico. Esse fenômeno, já bem estudado, tem contribuído para nítidas e sensíveis variações climáticas, com verões quentes e mais secos e invernos menos intensos, resultando em marcantes alterações em diversos ambientes, especialmente os aquáticos.

A avaliação da densidade populacional de moluscos da espécie *L. columella*, hospedeiros intermediários de *F. hepatica*, assim como da prevalência da fasciolose bovina

em duas fazendas, localizadas nos municípios de Redenção da Serra-SP e São Luis do Paraitinga-SP, em três meses distintos, está demonstrada nesse estudo.

Esse estudo foi idealizado com o objetivo de comparar e atualizar dados da dinâmica populacional de *L. columella* assim como a epidemiologia da fasciolose bovina obtidos na fazenda São Joaquim em Redenção da Serra-SP (FSJ-RS) por Vasconcellos (2000) e na fazenda Sítio Recreio em São Luis do Paraitinga-SP (FSR-SLP), por Caniné (2010) visando avaliar se as formas de controle da doença tem sido empregadas com eficácia após esses anos, dos estudos.

Foi observado no presente estudo na densidade populacional de moluscos *L. columella* na fazenda de Redenção da Serra-SP, que os maiores números de moluscos capturados foram nos meses de outubro e dezembro/13 decaindo acentuadamente no mês de março/14, o que coincide com o estudo de Vasconcellos (2000) que observou que os maiores números de moluscos capturados ocorreram entre os meses de setembro e dezembro/98 com dois picos nessa população nos meses de outono durante os 25 meses de observação. Esse autor também observou que as maiores médias dos tamanhos dos moluscos (7 mm) variaram nos meses entre o início da primavera e final do verão, sendo de uma maneira geral constituída predominantemente por animais jovens.

Considerando que a média de comprimento de concha de *L. columella* ao iniciar a ovipostura está entre 4,0 e 5,0 mm (Gomes et al., 1975) foram definidos como indivíduos jovens, os de até 5,0mm de comprimento de concha e indivíduos adultos os que excederam este tamanho. Mediante esta observação, os tamanhos dos moluscos da população observada nesse estudo, diferiram de Amato et al., (1986), Bustamante (1991), Pile (1994) e Vasconcellos (2000) que estudaram a dinâmica dessa espécie em áreas do Vale do Paraíba encontrando predominância nas populações de animais jovens, já em nosso estudo a maioria (86,3%) dos moluscos capturados foram de animais adultos (acima de 5m de comprimento de concha) sendo o tamanho de molusco que mais predominou nas duas fazendas foi o de 8 mm de comprimento de concha e (13,7%) de animais jovens.

Já na fazenda de São Luis do Paraitinga-SP, foi realizado por Caniné (2010) somente duas coletas de moluscos sendo uma em setembro/2006 e a outra em março/2008, encontrando 113 moluscos com totais mensais de 61 e 52 moluscos, com 2 positivos e 1 positivo, respectivamente, para a forma larvar de *F. hepatica*, onde, nesse estudo, a autora não mencionou tamanhos de concha. Em nossa avaliação nessa mesma fazenda, foram

coletados no total, 342 moluscos (98 moluscos em outubro/13; 93 em dezembro/13 e 151 em março/14) o que diferiu bastante no total de moluscos no último mês de coleta.

Em nosso estudo não foram encontrados moluscos positivos para as formas larvares de *F. hepatica* coletados nas duas fazendas avaliadas, o que diferem dos dados de Vasconcellos (2000) na FSJ-RS, que encontrou 0,83% dos moluscos infectados e por Caniné (2010) na FSR-SLP em estudo acima citado.

Segundo Pile et al., (1994) a prevalência de moluscos da espécie *L. columella* encontrados e examinados com formas larvares de *F. hepatica* na região do Vale da Paraíba foi de 10,72%, sendo que níveis mais altos foram encontrados nos meses de maio (11,8%), julho (12,5%) e setembro (14%).

Amato et al., (1986) no Vale Rio Paraíba, em São Paulo, em uma população de *L. columella* infectada por *F. hepatica*, demonstrou alto índice de infecção no primeiro ano de trabalho, sendo junho 8,82%, setembro 9,09% e outubro 10,52%, no segundo ano, março 6,25% e abril, 6,89%, e no terceiro ano, julho 7,69%, agosto 10,25%, abril 17,91% e maio 13,91%.

Quanto aos dados climáticos os mesmos foram obtidos do CPTEC/INPE que mantém estações climáticas nessas cidades. Na temperatura ambiente, os valores são idênticos para as duas cidades na grande maioria dos dias, nos três meses de estudo, devido a proximidade das cidades (cerca de 20 km entre elas) e as características geográficas serem idênticas, somente diferenciando entre elas no final do mês de outubro/13. Em nosso trabalho a média mensal da temperatura na fazenda Sítio Recreio em Redenção da Serra-SP, em outubro/13, dezembro/13 e março/14 que foram 19,9 °C, 23,6 °C e 23,9°C, respectivamente, coincide com o trabalho de Vasconcellos (2000) que observou (20,4 °C, 23,8 °C e 24,1 °C, em outubro, dezembro e março, respectivamente), portanto apesar das temperaturas serem semelhante essa não foi uma variável que interferiu na dinâmica populacional de *L. columella* nessa fazenda.

Dentre os fatores mais importantes no desenvolvimento do ciclo reprodutivo dos moluscos, ressalta-se a precipitação pluviométrica, esse fator associado à temperatura é importante na epidemiologia da fasciolose, já que afeta diretamente a população de moluscos (Armour, 1973). Em nosso trabalho, os valores pluviométricos foram semelhantes nos três meses de estudo, nas duas cidades. O mês de outubro/13 teve chuva pouco acentuada, em dezembro/13 quase não choveu e em março/14 houve pancadas intercaladas de dias secos, tendo picos máximos diário, mas não ultrapassando 35 mm.

As médias mensais foram 84 mm em outubro/13, 37 mm em dezembro/13 e 155 mm em março/14, e diferiram do trabalho de Vasconcellos (2000) que observou maiores índices pluviométricos na região. Essa baixa precipitação pode ter interferido de alguma forma na população de *L. columella*, com essas médias de chuvas tão baixas, o que justifica o número reduzido de animais nas coletas. No trabalho realizado por Caniné (2010) na FSR-SLP, não são citados índices de temperatura e pluviométrico o que nos impede de tomar como base esses dados para realizar uma comparação.

Os parâmetros físico-químicos da água analisados nas duas fazendas, estão abaixo dos valores máximos observados para criadouros naturais de moluscos hospedeiros e já foram discutidos por Grisolia & Freitas (1985); Baptista et al., (1989); Baptista & Jurberg (1993) e Pieri (1995); (Utzinger *et al*, 1997).

Apesar das diferenças dos habitats dos moluscos de cada fazenda, onde na FSR-SLP, os moluscos serem encontrados em um pequeno córrego e na FSJ-RS em uma área alagada, o fornecimento regular de alimento para os moluscos e o escoamento da lavagem dos estábulos, assim como os resíduos do transbordo das esterqueiras, o que justifica os valores de cloretos estarem um pouco mais elevado que os valores máximos assim como os valores de coliformes fecais, contribuíram para o alagamento do microclima, minimizando os efeitos do mesoclima, favorecendo assim a manutenção da população desses moluscos nas duas fazendas.

A prevalência média de bovinos infectados pela fasciolose na região do Vale do Rio Paraíba é alta, conforme registrado por França (1969), Rezende et al., (1973) e Nuernberg (1978) que citam uma infecção em torno de 35% do gado leiteiro na região. Serra-Freire (1990) observou uma prevalência da fasciolose em torno de 80% em bovinos no município de Piquete-SP, em um período de cinco anos. Resultados semelhantes foram apresentados por Amato et al., (1986) que utilizaram ovinos traçadores e observaram prevalência de 50% após três anos de estudos. Na região de Redenção da Serra-SP, Pile et al., (1994) estudaram esta prevalência durante o ano de 1990 e constataram que 37% do gado bovino estava infectado com *F. hepatica*.

Vasconcellos & Amorim (2003b) avaliaram a prevalência da fasciolose em bovinos leiteiros, entre julho/97 e julho/99, nessa mesma fazenda (FSJ-RS), na qual foi realizado o presente estudo, e a taxa observada pelos primeiros autores foi de 32,0% antes do tratamento desses animais. Após o tratamento dos mesmos e manejo dos piquetes essa taxa caiu a 0%.

Caniné (2010) estudando a prevalência da fasciolose bovina na FSR-SLP encontrou altas taxas de infecção nos bovinos, que alcançou 69,2% em agosto de 2009, e que teve na média geral 34,6% entre setembro/2006 e agosto/2009.

No presente estudo a prevalência da fasciolose bovina nas duas fazendas foi bem mais baixa em relação aos estudos acima relacionados, onde somente encontramos 6,9% dos bovinos positivos para *F. hepatica* na FSR-SLP em outubro/13 e 3,3% na FSJ-RS em dezembro/13, o que sugere que os proprietários dos animais estão mais conscientes quanto às formas de controle da doença no rebanho.

Segundo Caniné (2010) a manutenção desses altos índices de positividade da fasciolose hepática nos bovinos da região pode ser explicada pela forma de manejo e comércio do gado. Sendo os animais criados em regime de subsistência, onde os proprietários comercializam os animais utilizando-os como moeda de troca, e na maioria das vezes não se preocupando em notificar as autoridades sanitárias através da Guia de Trânsito Animal (GTA), assim como a despreocupação, ou até a falta de informação em avaliar e tratar os animais para essa parasitose.

Apesar do tempo transcorrido e das possíveis tentativas em se controlar a doença na região com aplicações de moluscidas e rotatividade dos rebanhos nos piquetes, a média ainda vem se mantendo elevada, o que é preocupante, pois pode influenciar na quantidade e qualidade do gado de leite, já que a região realiza frequentemente leilão desse gado, sendo os animais vendidos para as mais diversas partes do país.

De acordo com Vasconcellos (2000) a progressão da fasciolose bovina nesta região ocorre em dois momentos críticos: o primeiro quando são maiores as disponibilidades de metacercárias de *F. hepatica* na pastagem (no inverno) e o segundo quando se verificam as mais altas densidades de *L. columella* (no verão), o que de certa forma corrobora com os dados obtidos no presente estudo, para esta estação do ano.

Nesse estudo, apesar dos índices da prevalência da fasciolose bovina estarem abaixo dos encontrados na literatura, eles foram suficientes para manter as taxas de infecção dos bovinos de certa forma elevadas durante o período estudado. A presença do molusco hospedeiro intermediário, mesmo que negativos, nos piquetes alagadiços, onde os animais pastam, com proximidade da esterqueira, para onde o resíduo da mesma (chorume) tem acesso, sugere uma manutenção do ciclo da doença nas fazendas.

Mediante tal problemática, sugere-se um programa de controle desses moluscos na região (Redenção da Serra e São Luis do Paraitinga) com moluscicida de origem vegetal e concomitantemente a vermifugação dos animais positivos, assim como um posterior acompanhamento da doença, tanto dos hospedeiros definitivos como nos intermediários.

## 8. CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que:

As condições ambientais nas duas fazendas estudadas são favoráveis à manutenção e desenvolvimento do molusco *L. columella*, considerando o número de animais coletados.

A população de moluscos nas duas fazendas avaliadas era constituída predominantemente de animais adultos, ou seja, em idade de ovipostura.

A temperatura e pluviosidade nas fazendas avaliadas não interferiram na dinâmica populacional de *L. columella*, devido à atipicidade nas estações do ano, durante o período do estudo.

Os baixos índices na prevalência da fasciolose bovina nas duas fazendas foram capazes de manter a doença transmissível na região.

A observação de *L. columella*, hospedeira intermediária de *F. hepatica*, não infectada nas duas fazendas, não garante que a doença esteja sob controle na região, uma vez que a criação de bovinos positivos para esse trematódeo nessas mesmas fazendas pode fechar o ciclo da fasciolose.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abílio FJP, Watanabe T. Ocorrência de *Lymnaea columella* (Gastropoda: Lymnaeidae), hospedeiro intermediário da *Fasciola hepatica*, para o Estado da Paraíba, Brasil. Rev. Saúde Pública, São Paulo. 32(2): 184-185, 1998.

Acha PN, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales (2ª ed.), Organización Panamericana de La Salud, Washington, D.C., E.U.A., 989 pp, 1986.

Amato SB, Rezende HEB, Gomes DC, Serra-Freire NM. Epidemiology of *Fasciola hepatica* infection in the Paraíba River Valley, São Paulo, Brasil. Veterinary Parasitology, 22: 275-284, 1986.

Amato NV, Silva LJ. Infecção humana por *Fasciola hepatica* no Brasil: relato de um novo caso e análise da questão. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 19: 275-277, 1977.

Amaral ADF, Buseti ET. Fasciolose hepática humana no Brasil. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 21: 141-145, 1979.

Amaral ADF, Buseti ET. Observações preliminares sobre a fasciolose hepática humana. In: 4º Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia. Resumos p. 59, São Paulo, Campinas, 1980.

Armour J. Fascioliasis - Epidemiology, treatment and control. In: G.M. URQUHART & J. ARMOUR (Ed.), Helminth diseases of cattle, sheep and horses in Europe. Robert Mac Lehosé Comp. Licn., Glasgow, 100-109, 1973.

Araújo JLB, Garcia CA, Linhares GFC. Ocorrência de *Fasciola hepatica*, (Linnaeus, 1758) (TREMATODA, FASCIOLIDAE), no Estado de Goiás. Rev. Pat. Trop., 24(2): 283-289, 1995.

Baptista DF, Jurberg P. Factors conditioning the habitat and the density of *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny, 1835) in an isolated schistosomiasis focus in Rio de Janeiro city. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 88: 457-464, 1993.

Baptista DF, Vasconcellos MC, Schall VT. Study of a population of *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny, 1835) and of schistosomiasis transmission in “Alto da Boa Vista”, Rio de Janeiro. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 84(3): 325-332, 1989.

Bargues MD, Vigo M, Horak P, Dvorak J, Patzner RA, Pointier JP, Jackiewicz M, Meier-Brook C, Mas-Coma S. European Lymnaeidae (Mollusca: Gastropoda), intermediate hosts of trematodiasis, based on nuclear ribosomal DNA ITS-2 sequences. Infection Genetics and Evolution, 1 (2): 85-107, 2001.

Baransky MC, Amaral ADF, Carneiro FM, Silva RF, Silveira HB, Cunha LAM, Magni NR. Novos casos autóctones de fasciolose hepática humana em Curitiba (Estado do Paraná-Brasil). An. Fac. Med. Paraná, 20: 7-25, 1977.

Baptista DF, et al. Perspectives of using *Euphorbia splendens* as a molluscicide in schistosomiasis control programs. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, [S.l.], v. 25, p. 419-424, 1994.

Braga FR. Ação *in vitro* de fungos das espécies *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium sinense* e *Pochonia chlamydosporia* sobre ovos de *Fasciola hepatica* e *Schistosoma mansoni*. Dissertação para obtenção do título de *Magister Scientiae* em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil, 67 pp, 2008.

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. 2. Ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde. pp. 85 – 110, 2008.

Bustamante M. Estudo da Dinâmica de *Lymnaea columella*, hospedeiro intermediário de Fasciola hepatica em pastagem em Municípios do Estado de São Paulo. Brasil. Tese de Mestrado. Univ. Fed. Rural do R.J. 1991.

Buseti ET, Thomaz-Soccol V. Fasciolose humana no Estado do Paraná, Brasil. X Congr. Soc. Bras. Parasitol. P.97, 1987.

Buseti ET. Informações adicionais sobre a fasciolose hepática em Curitiba (Estado do Paraná-Brasil). Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 24: 104-106, 1982.

Caniné JG. Prevalência da Fasciolose Hepática Animal no Município de São Luis do Paraitinga. São Paulo, 2010.

Correa MOA, Fleury GC. Fasciolose hepática humana: novo caso autóctone. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 5: 267-270, 1971.

Chieffi PP, Gryscek RCB, Amato NV. Parasitoses intestinais - diagnóstico e tratamento. São Paulo, Lemos Editorial, p. 11-35, 2001.

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

Conceição MAP. Fasciolose Bovina: Aspectos de diagnóstico e modelos de avaliação de risco. Novas abordagens. Dissertação de Doutorado. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa, (2001).

Esteban JG, Bargues MD, Mas-Coma S. Geographical distribution, diagnosis and treatment of human fascioliasis: a review. Research and Reviews in Parasitology, 58 (1): 13-42, 1998.

Echevarria FAM. Fasciolose. Revista Brasileira Parasitologia Veterinária, 13(1): 100-102, 2004.

FEEMA - Fundação Estadual de Engenharia e Meio Ambiente. Métodos de análises físico-químicas da água. Vol. III, Série Didática, 14/79, Rio de Janeiro, DICOMT, 1979.

França I. Fasciolose hepática em bovinos no Vale do Paraíba. Bol. Campo, 230: 21-82, 1969.

Girão ES, Ueno H. Técnica de quatro tamises para o diagnóstico coprológico quantitativo da fasciolose dos ruminantes. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 20 (8): 905-912, 1985.

Gomes PAC, Nuernberg S, Neto MP, Oliveira GP, Rezende HEB, Araújo JLB, Mello RP. Biologia da *Lymnaea columella* Say, 1817. Arq. Mus. Nac. Rio de Janeiro, 55: 67-70, 1975.

Gomes DC, Serra-Freire NM, Amato SB, Rezende HEB. Análise do envolvimento de *Lymnaea columella* e *Stenophysa marmorata* na epidemiologia da fasciolose hepática no Vale do Paraíba. IX Cong. Soc. Bras. Parasitol. Resumos, p. 99, 1985.

Gonzales JC, Tomé JW, Gonçalves PC, Oliveira CBM. *Lymnaea columella* hospedeiro intermediário de *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 no Rio Grande do Sul, Brasil. Arq. Fac. Med. Vet. Rio Grande do Sul, 2: 37-40, 1974.

Gonzalez JF, Perez O, Rodriguez E. Fasciolosis invasiva com caracter de brote epidemico I. Estúdio clinico epidemiologico. Revista Cubana Medicina. 26: 203-212. 1987.

Grisolia MLM, Freitas JR. Características físicas e químicas do habitat de *Biomphalaria tenagophila* (Molusca, Planorbidae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 80: 237-244 1985.

Igreja RP, Barreto MGM, Soares MS. Fasciolíase: relato de dois casos em área rural do Rio de Janeiro. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 37(5): 416-417, 2004.

Lessa CSS. Estudo da eficácia do Clorslon e Albendazole no controle da *Fasciola hepatica* em bovinos no estado do Rio de Janeiro. Dissertação de Mestrado, UFRRJ, 40p. 1997.

Lopez A, Silva C. Fasciolosis humana: Reporte de un caso y revision de la literatura. *Revista Chilena de Radiologia*. 10: 118-23. 2004.

Lutz A. Caramujos do Gênero Planorbis, observados no Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 10: 65-82, 1918.

Lutz A. Sobre a ocorrência de *Fasciola hepatica* no estado do Rio de Janeiro. *Boletim do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 1: 9-13, 1921.

Luz E, Gazda CM, Yada RS. Fasciolose animal no Estado do Paraná – análise de dados. *Arquivos de Biologia e Tecnologia, Curitiba*, 35 (4): 777 - 780, 1992.

Luz E, Cirio SM, Diniz JMF, Leite LC, Kozemjakin DA, Werka L. Infecção experimental de *Lymnaea columella*, *Physa cubensis* e *Physa marmorata* com miracídios de *Fasciola hepatica*, provenientes de gado das regiões metropolitana de Curitiba e do litoral Paranaense, Brasil. *Arq. Biol. Tecnol.* 39(2): 401-408, 1996.

Luz E, Vieira AM, Cesar TCP. Aspectos biológicos de *Lymnaea columella*, Say, 1817, *Physa cubensis* Pfeiffer, 1839 e *Physa marmorata* Guilding, 1828 (Mollusca, Pulmonata) no primeiro planalto e litoral paranaense. *Arq. Biol. Tecnol.* 37(2): 667-671, 1994.

Mas-Coma S, Angles R, Strauss W, Esteban JG, Oviedo JA, Buchon P. Human fascioliasis in Bolivia: a general analysis and a critical review of existing data. *Research and Reviews in Parasitology*, 55 (2): 73–93, 1995.

Mas-Coma S, Bargues MD. Human liver flukes: a review. *Research and Reviews in Parasitology*, 57 (3-4): 145-218, 1997.

Mas-Coma MS, Esteban JG, Bargues MD. Epidemiology of human fascioliasis: a review and proposed new classification. *Bulletin of the World Health Organization* 77: 340-346, 1999.

Mas-Coma S, Angles R, Esteban JG, Bargues MD, Buchon P, Franken M, Strauss W. The Northern Bolivian Altiplano: a region highly endemic for human fascioliasis. *Tropical Medicine and International Health*, 4 (6): 454-467, 1999c.

Mas-Coma S, Bargues MD, Esteban JG. Human Fasciolosis. In: Dalton J.P. *Fasciolosis* (1<sup>a</sup> Ed.), CABI Publishing, Wallingford, UK, 411-434 pp, 1999b

Mas-Coma S. Human Fascioliasis, Chapter 19, 305-322 pp. In: World Health Organization (WHO). *Waterborne Zoonoses: Identification, Causes and Control*. Edited by J.A. Cotruvo, A. Dufour, G. Rees, J. Bartram, R. Carr, D.O. Cliver, G.F. Craun, R. Fayer, and V.P.J. Gannon. Published by IWA Publishing, London, UK, 506 pp, 2004.

Mattos MJT, Ueno H, Gonçalves PC, Almeida JEM. Ocorrência estacional e bioecologia de *Lymnaea columella* Say, 1817 em habitat natural no Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*. 19: 248-52, 1997.

Mezzari A, Antunes HBB, Coelho N, Cauduro PF, Brodt TC. Fasciolíase humana no Brasil diagnosticada por colangiografia endoscópica retrógrada. *Jornal Brasileiro de Patologia* 36: 93-95, 2000.

Moll L, Gaazembeek CPH, Vellema P, Borgsteed F. Resistance of *Fasciola hepatica* against triclabendazole in cattle and sheep in the Netherlands. *Veterinary Parasitology*, 91: 153-158, 2000.

Neves DP, Melo AL, Linard PM, Vitor RWA. Parasitologia Humana. 11ª edição. Atheneu. 2004.

Norbury LJ. Structure, Function and Evolutionary Studies of *Fasciola* Cathepsin L-like Proteases. Thesis of Doctor of Philosophy, Applied Biology and Biotechnology School of Applied Science, Engineering and Technology Portfolio RMIT University, Melbourne, Australia, 392 pp, 2008.

Nguyen TGT, Van De N, Vercruyse J, Dorny P, Hoa Le T. Genotypic characterization and species identification of *Fasciola* spp. with implications regarding the isolates infecting goats in Vietnam. *Experimental Parasitology*, 123 (4): 354-361, 2009.

Nuernberg S. Estudos experimentais com *Lymnaea cubensis* Pfeifer, 1839 (Mollusca, Gastropoda, Basomatophora, Lymnaeidae) como hospedeiro intermediário de *Fasciola hepatica* L. 1758 (Trematoda, Fasciolidae) no Estado de Rio de Janeiro. Tese de Mestrado. UFRRJ. 59pp, 1978.

Organização Mundial de Saúde. O controle de esquistossomose. Segundo relatório do comitê de especialistas da OMS. Rio de Janeiro. Ed. FIOCRUZ, 1994.

Paraense WL. *Lymnaea viatrix* and *Lymnaea columella* in the neotropical region: a distributional outline. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 77(2): 181-188, 1982.

Paraense WL. *Lymnaea columella* in northern Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 78(4): 477-482, 1983.

Paraense WL. *Lymnaea columella*: two new brazilian localities in the states of Amazonas and Bahia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 81(1):121-123, 1986.

Pile E, Bustamante M, Serra-Freire. Variacion Mensual De La Densidade Poblacional De *Lymnaea columella* Y De La Prevalência De La Fasciolosis Bovina Em El Município De Rendeção Da Serra, São Paulo, Brasil. *Parasitol al Dia*, 18: 108-113, 1994.

Pile E, Santos JAA, Pastorello T, Vasconcellos MC. Fasciolose hepática em Búfalos (*Bubalus bubalis*) no município de Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci, 2000.

Pile E, Gazeta G, Santos JAA, Coelho B, Serra-Freire NM. Ocorrência de fascioliasis humana no município de Volta Redonda, RJ, Brasil. Rev. Saúde Pública 34: 413-414, 2000.

Pieri OS. Perspectivas no controle ambiental dos moluscos vetores da esquistossomose. In: Barbosa FS. Tópicos em Malacologia Médica. 239-252. Ed. FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 1995.

Queiroz VS. Enzimoimunoensaio (ELISA), Imunoeletrotransferência (EITB) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), como ferramentas para diagnóstico de Fasciolose hepática em bubalinos (*Bubalus bubalis* Linnaeus, 1758). Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil, 96 pp, 2005.

Ramos C I. Parasitoses dos ovinos. 35-82 p. In: Ávila VS, Coutinho GC, Ramos CI. Saúde ovina em Santa Catarina - prevenção e controle. Florianópolis, SC: EPAGRI, 94 p.53, 2006.

Rey L. *Fasciola hepatica* e Fasciolose. In: Parasitologia. Guanabara Koogan. 2ª Ed, p. 411-416, 1991.

Rey L. Parasitologia (4ª Edição), Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 500 pp, 2008.

Rey L. Primeiro encontro de ovos de *Fasciola hepatica* em inquérito helmintológico de populações brasileiras (Campo Grande, Mato Grosso). Rev. Paul. Med., 53: 60, 1958.

Rezende HEB, Araújo JLB, Gomes PAC, Nuernberg S, Pimentel Neto M, Oliveira GP, Mello RP. Notas sobre duas espécies de *Lymnaea* Lamark, 1799, hospedeiros intermediários de *Fasciola hepatica* L, no Estado do Rio de Janeiro (Mollusca, Gastropoda, Basommatophora, Lymnaeidae). Arq. Univ. Fed. Rural. do Rio de Janeiro, 3 (1): 21-23, 1973.

Savioli L, Chistulo L, Montresor A. New opportunities for the control of fascioliasis. *Bulletin of the World Health Organization*, **77** (1): 300, 1999.

Santos L, Vieira TE. Considerações sobre os sete primeiros casos de fasciolose humana no Vale do Paraíba, Estado de São Paulo. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 25: 95-100, 1965.

Santos L, Vieira TF. Observações sobre os seis primeiros casos de fasciolose hepática humana no Estado de São Paulo (Vale do Paraíba, Taubaté). Ciênc. e Cult., 19(2): 351, 1967.

Serra-Freire NM, Nuernberg S. Geopolitical dispersion of the occurrence of *Fasciola hepatica* in the State of Santa Catarina, Brazil (Dispersão geopolítica da ocorrência de 125 *Fasciola hepatica* no Estado de Santa Catarina, Brasil). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 87(Supl. 1): 263-269, 1992.

Serra-Freire NM. Fasciolose hepática. Hora Veterinária. 1 (Edição extra): 13-19, 1995.

Serra-Freire NM. Fasciolose hepática no Brasil: Análise retrospectiva e prospectiva. Cad. Tec. Cient. Esc. Med. Vet. Unigranrio, 1(1): 9-70, 1999.

Serra-Freire NM. Fasciolose no Vale do Paraíba. Agrotécnica-Ciba-Geigy, São Paulo, 7: 14-19, 1990.

Silva Santos IC, Scaini CJ, Rodrigues LF. *Myocastor coypus* (Rodentia, Capromyidae) como reservatório silvestre de *Fasciola hepatica* L., 1758. Rev. Bras. Parasitol. Vet., 1(1): 27-30, 1992.

Sousa, C.A.F.B. Contribuição para o Conhecimento do Risco Parasitário das Populações de Gamo (*Dama dama* L.) e Javali (*Sus scrofa* L.) da Tapada Nacional de Mafra. Relatório do Trabalho de Fim de Curso de Engenharia Agronómica. Lisboa: Instituto Superior de Agronomia – Universidade Técnica de Lisboa, 2001.

Souza CP, Lima LC, Jannoti-Passos LK, Ferreira SS, Guimarães CT, Vieira IB, Mariani Junior R. Limnic snails from the microregion of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil with emphasis on parasite disease vectors. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 31(5): 449-456, 1998.

Taylor EL. La fascioliasis y el distoma hepático. FAO Estud. Agr., 64: 1-250, 1965.

Thiengo SC, Fernandes MA. Moluscos. In: BRASIL. Ministério da Saúde. Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica: diretrizes técnicas. [S.l.]: Editora do Ministério da Saúde, 2007. P. 13 – 20.

Torgerson P, Claxton J. Epidemiology and control. In: *Fasciolosis* (ed. J.P. Dalton), pp. 113-150. CAB International, Oxford, 1999.

Ueta MT. Estudo morfométrico da concha de *Lymnaea columella* Say. 1817 (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata). Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 8 (1-6):119-141. 1979.

Utzinger J, Mayombana C, Mez K, Tanner M. Evaluation of chemical and physical-morphological factors as potential determinants of *Biomphalaria pfeifferi* (Krauss, 1848) distribution. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 92(3): 323-328, 1997.

Vasconcellos MC, Schall VT. Látex of "Coroa de Cristo" (*Euphorbia splendens*): an effective molluscicide. Mem. Inst Oswaldo Cruz, 81 (4): 475-476, 1986.

Vasconcellos MC. Controle de *Lymnaea columella* (Say, 1817) (Pulmonata:Lymnaeidae), hospedeiro intermediário de *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 (Trematoda: Fasciolidae) com o látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii* N.E.B. (Euphorbiaceae) no Vale do Paraíba – SP, 46f, p. 146. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil, 2000.

Vasconcellos MC, Amorim A. Molluscicidal action of *Euphorbia splendens* var. *hislopii* N.E.B. (Christ's Crown) (Euphorbiaceae) against *Lymnaea columella* Say, 1817 (Pulmonata: Lymnaeidae), intermediate host of *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 (Trematoda: Fasciolidae). 1: Test in Lab. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 98 (4): 557-563, 2003<sup>a</sup>.

Vasconcellos MC, Amorim A. Activity of *Euphorbia splendens* var. *hislopii* N.E.B. (Euphorbiaceae) latex against *Lymnaea columella* Say, 1817 (Pulmonata: Lymnaeidae), intermediate host of *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 (Trematoda: Fasciolidae). 2: Limited field-testing. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 98 (7): 981-985, 2003b.

Who-World HEALTH ORGANIZATION. Reports Of The Scientific Working Group On Plant Molluscicides. Bulletin of the World Health Organization, v. 61, n. 6, p. 927-929, 1983.