



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

ROBERTA DA ROCHA BRAGA

PREVALÊNCIA E PATOGÊNESE DA INFECÇÃO NATURAL POR *Platynosomum fastosum* (Digenea: Dicrocoeliidae) EM *Felis catus* (Linnaeus, 1758) DO MUNÍCIPIO DE MARACANAÚ, CEARÁ

FORTALEZA

2016

ROBERTA DA ROCHA BRAGA

**PREVALÊNCIA E PATOGÊNESE DA INFECÇÃO NATURAL POR
Platynosomum fastosum (Digenea: Dicrocoeliidae) EM *Felis catus* (Linnaeus,
1758) DO MUNÍCIPIO DE MARACANAÚ, CEARÁ.**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Patologia da
Universidade Federal do Ceará, como
requisito parcial à obtenção do título de
Mestre em Patologia.
Área de concentração: Patologia.

Orientador: Prof. Dr. Luciano
Pamplona de Góes Cavalcanti.

FORTALEZA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

B795p Braga, Roberta da Rocha
Prevalência e patogênese da infecção natural por *Platynosomum fastosum* em *Felis catus* (Linnaeus, 1758) do município de Maracanaú, Ceará / Roberta da Rocha Braga. – 2016.
85 f. : il., color.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Departamento de Patologia e Medicina Legal, Programa de Pós-Graduação em Patologia, Mestrado em Patologia, Fortaleza, 2016.

Área de Concentração: Patologia.

Orientação: Prof. Dr. Luciano Pamplona de Goes Cavalcanti.

1. Colangite. 2. Gatos. 3. Trematódeos. I. Título.

CDD: 592.48



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA
DEPTO. DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
MESTRADO EM PATOLOGIA**

ATA DA 192^a SESSÃO DE DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE **ROBERTA DA ROCHA BRAGA**, REALIZADA PELO CURSO DE MESTRADO EM PATOLOGIA DO DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL, DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ, NO DIA 28 DE JANEIRO DE 2016.

Às quatorze horas do dia vinte e oito de janeiro de dois mil e dezesseis, realizou-se a centésima nonagésima segunda sessão de defesa pública da dissertação de mestrado da aluna **ROBERTA DA ROCHA BRAGA**, que apresentou trabalho intitulado: “**PREVALÊNCIA E PATOGÊNESE DA INFECÇÃO NATURAL POR PLATYNOSOMUM FASTOSUM EM GATOS DOMÉSTICOS DO MUNICÍPIO DE MARACANAÚ, CEARÁ**”. Compunham a banca examinadora os doutores: Luciano Pamplona de Góes Cavalcanti (Orientador/ Presidente), Janaína Serra Azul Monteiro Evangelista (UECE), Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra (UFC) e Maria Jânia Teixeira (UFC). A sessão foi aberta pela Prof^a. Dr^a. Cristiane Cunha Frota, Vice-Cordenadora do Curso de Pós-Graduação em Patologia (área de concentração Patologia), que apresentou a banca examinadora e passou o trabalho de condução de defesa para o Presidente da Sessão, Prof. Dr. Luciano Pamplona de Góes Cavalcanti, orientador da mestrandona. Após a exposição do trabalho pela aluna, seguiu-se o processo de arguição. O primeiro examinador foi a Prof^a. Dr^a. Janaína Serra Azul Monteiro Evangelista. Logo em seguida, procederam à arguição a Prof^a. Dr^a. Maria Jânia Teixeira e a Prof. Dr. Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra. Em seguida a banca examinadora se reuniu, reservadamente, a fim de avaliar o desempenho da candidata, e atribuiu o conceito APROVADO para o trabalho da aluna. Nada mais havendo a relatar, a sessão foi encerrada às 16.32h, e a presente ata, depois de lida e aprovada, foi assinada por mim e pelos membros da banca examinadora. Fortaleza, 28 de janeiro de 2016.

BANCA EXAMINADORA

Luciano Pamplona de Góes Cavalcanti
PROF. DR. LUCIANO PAMPLONA DE GÓES CAVALCANTI
PRESIDENTE (ORIENTADOR)

Janaína Serra Azul Monteiro Evangelista
PROF. DR. JANAÍNA SERRA AZUL MONTEIRO EVANGELISTA
EXAMINADORA (UECE)

Maria Jânia Teixeira
PROF. DR. MARIA JÂNIA TEIXEIRA
EXAMINADORA (UFC)

Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra
PROF. DR. FERNANDO SCHEMELZER DE MORAES BEZERRA
EXAMINADOR (UFC)

Cristiane Cunha Frota
PROF^a. DR^a. CRISTIANE CUNHA FROTA
VICE-CORDENADORA

Valéria Cordeiro de Oliveira
VALÉRIA CORDEIRO DE OLIVEIRA
SECRETÁRIA



Aos espíritos de luz que me assistem na
jornada terrestre.

AGRADECIMENTOS

A Deus, energia vital que move o mundo, que me fez curiosa, questionadora e devotada à ciência, desde os primeiros anos de minha infância.

À minha família: meu pai Flávio Roberto (*in memoriam*) e minha mãe Claudecir, que sempre me influenciaram nos caminhos da ciência, me apoiaram e me ensinaram a ser independente e buscar meus sonhos; minhas irmãs Renata e Rosane, minhas almas-gêmeas e melhores amigas, que sempre me incentivaram a crescer profissionalmente e que me fazem crescer como pessoa todos os dias; Leuda, minha segunda mãe, sempre cuidando do meu bem-estar; e todos os meus demais familiares que me incentivavam na trajetória profissional.

Ao Prof. Luciano Pamplona de Góes Cavalcanti, pela orientação, pelos conselhos, pelo pronto-atendimento de demandas e resposta de e-mails, pela confiança, pelas risadas e pela amizade, bem como aos demais membros de seu grupo de pesquisa.

Aos professores das disciplinas do mestrado, que tanto colaboraram para o amadurecimento e o apamento das arestas do projeto: Profa. Dra. Margarida Maria de Lima Pompeu, pelas dicas de coleta, de análise e revisão de lâminas; Profa. Dra. Maria Jânia Teixeira, com quem compartilho a paixão pela parasitologia; Prof. Dr. José Eleutério Júnior, que compartilhou os conhecimentos sobre escrita científica; Prof. Dr. José Ajax Nogueira Queiroz, pelo carinho, simpatia e pelas dicas de estatística; Prof. Dr. Max Victor Carioca Freitas, pelo incentivo por ocasião do seminário; Prof. Dr. Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra, pelo esforço na coordenação do Programa.

À CAPES e ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da UFC, pela ajuda de custo fornecida através do Programa de Apoio à Pós-Graduação (PROAP), que propiciou as viagens de coleta no ano de 2015;

Às queridas Paula da Paz Palácio e Valéria Cordeiro de Oliveira, secretárias do Mestrado, pela solicitude e simpatia no encaminhamento dos trâmites discentes.

À Profa. Dra. Diva Maria Borges Nojosa, minha chefe imediata no Departamento de Biologia, pelo incentivo e confiança.

Aos estagiários e pós-graduandos do NUROF-UFC, meus amigos pessoais, por cada ato de gentileza e colaboração durante as atividades de rotina, pelo incentivo e apoio às atividades de pesquisa, pelos conhecimentos compartilhados todos os dias, pelo suporte profissional e emocional durante o meu exercício profissional diário. Agradeço especialmente à Castiele Holanda Bezerra, pela amizade e incentivo incondicionais; John Allyson Andrade Oliveira, auxiliar de pesquisa, pela dedicação, amizade e por fotos fantásticas dos parasitas; Djan Zanchi da Silva, pela amizade e por fazer eu me apaixonar por Estatística; ao colega Daniel Passos, pelo incentivo e pelas fotos de *Hemidactylus mabouia*;

Aos colegas de classe do mestrado, pela cumplicidade, torcida, incentivo e amizade; em especial ao Dr. André Costa Teixeira, patologista, pelas dicas de análise histopatológica ministradas com carinho, paciência e empolgação.

Ao Prof. Dr. José Roberto Feitosa Silva e ao técnico Robson de Jesus Mendes, do Laboratório de Histologia Animal, pelo apoio técnico e intelectual no processamento histológico.

Ao Dr. Geraldo de Sousa Tomé, pelo aprendizado em anatomia patológica no Laboratório Carlos Chagas, bem como à Áurea, Cléa e Alessandra, e em especial Socorro, que muito me auxiliou com o processamento histológico.

Ao Dr. Francisco Torcápio Vieira, médico veterinário, Secretário de Saúde de Maracanaú, e a todos da equipe do CCZ de Maracanaú: Dra. Ticiana Jorge Barbosa Acário, Dra. Rosana Guimarães Fabian e demais funcionários – Erlandson, Dorgival, Edilson, Morais, que me auxiliaram nas atividades de coleta.

À Dra. Daiana Ramos Miquelotti, pelo auxílio nas coletas, pela simpatia e pela amizade.

Às farmacêuticas Hannah Iorio Dias e Mariana de Oliveira Brizeno, da MEAC-UFC, pela doação de Tiopental para a execução correta dos procedimentos de eutanásia animal.

À Dra. Ana Alcaraz, docente da *Western University of Health Sciences* (EUA), pela simpatia e incentivo, por ocasião de nosso encontro no II Congresso Brasileiro de Patologia Veterinária.

À Dra. Norma Vollmer Labarthe, da FIOCRUZ-RJ, pela atenção e prontidão no envio do artigo de Ferreira et al. (1999) para bibliografia.

Ao colega Dr. Reginaldo Pereira de Sousa Filho, pela amizade e pelo envio do artigo Sousa Filho et al. (2015) para a bibliografia.

Aos animais... Que, há muitos séculos, vêm tendo as vidas sacrificadas em nome da ciência que impulsiona o progresso da raça humana.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta pesquisa.

“Sucesso é tropeçar de fracasso em
fracasso sem perder o entusiasmo.”
(Winston Churchill)

RESUMO

A espécie *Platynosomum fastosum* (sin. *P. illiciens*, *P. concinnum*), digenético da família Dicrocoeliidae, é um trematódeo do trato biliar de gatos domésticos e silvestres, cuja infecção varia de assintomática à letal. A prevalência da infecção pelo trematódeo varia entre 15 e 85% em países tropicais. No Brasil, os dados se limitam a relatos de caso e a alguns inquéritos epidemiológicos locais. No Ceará, não existem estudos de prevalência sobre esse trematódeo, mas recentemente um relato de caso foi publicado. O objetivo deste trabalho foi conhecer a prevalência da infecção de *P. fastosum*, caracterizando as principais lesões associadas à sua patogênese, em gatos não domiciliados do município de Maracanaú, Ceará. Foi realizado um estudo epidemiopatológico, transversal e analítico, sobre a infecção de *P. fastosum* em uma amostra de gatos (*Felis catus*) capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses da cidade de Maracanaú, durante o período de Maio/2014 a Maio/2015. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da UFC, sob o nº 40/2014. Conforme cálculo amostral e após triagem, 141 gatos foram submetidos à eutanásia por métodos éticos (CFMV, 2012) e submetidos à necrópsia. Foram colhidos o fígado e a vesícula biliar para recuperação de trematódeos e análise histopatológica. A prevalência observada foi de 42,5% (60/141, IC95% = 34,2 – 50,9). A carga parasitária recuperada variou de 1 a 219. Não houve diferença de prevalência entre machos e fêmeas ($p>0,05$), mas os adultos foram mais infectados do que os jovens ($p<0,00001$). O risco de colangites foi três vezes maior nos infectados ($RP=3,23$; $IC95\% = 2,01-5,07$; $p<0,00001$). Os infiltrados mononucleares foram os achados mais frequentes e significativos, e o colédoco foi o órgão mais afetado. Foram detectados 43,1% (25/58) de colangites crônicas nos infectados. Fibrose, inflamação, hiperplasias glandular e mucosa tiveram diferença significativa no colédoco de animais infectados ($p<0,01$). Lesões microscópicas consideradas precursoras de colangiocarcinoma foram detectadas, mas nenhum tumor foi diagnosticado. Desta forma, observou-se que *P. fastosum* ocorre em prevalência moderada em gatos não domiciliados de Maracanaú, Ceará. Plano de controle da infecção deve ser estruturado por equipe multidisciplinar, avaliando aspectos sanitários e ecológicos.

Palavras-chave: Gatos; Colangite; Trematódeos

ABSTRACT

Platynosomum fastosum (sin. *P. illiciens*, *P. concinnum*) is a digenetic trematode of the family Dicrocoeliidae, that inhabits biliary tract of domestic and wild cats, whose infection goes from asymptomatic to fatal. The prevalence of this trematode varies from 15 to 85% in tropical countries. In Brazil, available data is limited to case reports and few local epidemiological surveys. In Ceará, it was never performed an epidemiological survey, but a case report was recently published. The objective of this study was to calculate the prevalence of the *P. fastosum* infection, characterizing the main lesions associated to its pathogenesis, in free roaming cats in the municipality of Maracanaú, Ceará. It was performed an epidemiological pathological analytical cross-sectional survey about the *P. fastosum* infection in a sample of cats, received or captured by the Zoonosis Control Office of Maracanaú, between May/2014 and May/2015. This study was approved by the Animal Ethics Committee of UFC (#40/2014). In a probabilistic sample, 141 screened cats were euthanized by approved injection (CFMV, 2012) and submitted to necropsy. Livers and gallbladders were collected to recover trematodes and perform histopathology. Observed prevalence was 42,5% (60/141, IC95%=34,2 – 50,9). Fluke burden varied from 1 to 219. It was observed no difference in prevalence between males and females ($p>0,05$), but the adults were more frequently infected than the young ones ($p<0,00001$). Risk of cholangitis was at least three fold greater in infected ones ($RP=3,23$; IC95%=2,01-5,07; $p<0,00001$). Mononuclear infiltrates were the most frequent and significant findings, and the choledoco was the most affected site. Fibrosis, inflammation, glandular and mucosae hyperplasias were significantly different in choledocos of infected ones ($p<0,01$). Microscopic lesions considered precursors of cholangiocarcinoma were detected but no tumor was diagnosed. In summary, *P. fastosum* is present in the municipality of Maracanaú, Ceará, in moderate prevalence, in free roaming cats. Control propositions should be designed by multidisciplinary teams, evaluating sanitary and ecological aspects.

Palavras-chave: Cats; Cholangitis; Trematodes

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Ciclo de <i>P. fastosum</i>	20
Figura 2 – Lagarto geconídeo <i>H. mabouia</i> , hospedeiro paratênico não obrigatório do ciclo biológico de <i>P. fastosum</i>	21
Figura 3 – Icterícia na mucosa ocular e palatina, decorrente de infecção por <i>P. fastosum</i> , na cidade de Fortaleza, Ceará	23
Figura 4 – Fotomicrografia mostrando as injúrias causadas por <i>O. viverrini</i>	25
Figura 5 – Fotomicrografia de proliferação celular em fígado de hamster infectado por <i>O. viverrini</i>	26
Figura 6 – Fotomicrografia de ovos de <i>P. fastosum</i>	27
Figura 7 – Etapas da coleta de dados demográficos e clínicos.....	36
Figura 8 – Procedimentos de avaliação da patologia macroscópica e recuperação de trematódeos em gatos de Maracanaú, Ceará.	38
Figura 9 – Fotomicrografia de ovos de <i>P. fastosum</i> na pesquisa da bile de gatos em Maracanaú, Ceará.	43
Figura 10– Fotomicrografia de <i>P. fastosum</i> , coletado das vias biliares intra-hepáticas de gatos em Maracanaú, Ceará.	44
Figura 11 – Variedades morfométricas de <i>P. fastosum</i> coletados de gatos em Maracanaú, Ceará	47
Figura 12 – Aspectos macroscópicos de fígados de gatos do município de Maracanaú, Ceará.....	48
Figura 13 – Fotomicrografias de alterações em fígados de gatos infectados por <i>P. fastosum</i> em Maracanaú, Ceará.	51
Figura 14 – Fotomicrografias de alterações no colédoco de gatos infectados por <i>P. fastosum</i> em Maracanaú, Ceará.....	52
Figura 15– Aspectos macroscópicos em vesícula biliar de gatos infectados por <i>P. fastosum</i> em Maracanaú, Ceará.....	54
Figura 16 – Alterações microscópicas em vesícula biliar de gato infectado por <i>P. fastosum</i> em Maracanaú, Ceará.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação taxonômica de <i>P. fastosum</i>	17
Tabela 2 – Relação de registros de ocorrência de infecções naturais por <i>P. fastosum</i> em gatos no Brasil.....	22
Tabela 3 – Critérios de graduação das alterações histológicas colângio-hepáticas em gatos domésticos.....	39
Tabela 4 – Critérios de graduação das alterações histológicas em vesícula biliar de seres humanos.....	39
Tabela 5 – Descrição da amostra de gatos do levantamento epidêmico-patológico de <i>P. fastosum</i> no município de Maracanaú, Ceará.....	41
Tabela 6 – Descrição dos achados de exame clínico da amostra de gatos de Maracanaú, Ceará.....	42
Tabela 7 – Análise de risco em gatos infectados por <i>P. fastosum</i> em Maracanaú, Ce..	45
Tabela 8 – Distribuição da prevalência de <i>P. fastosum</i> entre gatos em Maracanaú, Ceará, por sexo e faixa etária.....	45
Tabela 9 – Classificação dos diagnósticos histopatológicos em gatos infectados e não infectados por <i>P. fastosum</i> em Maracanaú, Ceará.....	49
Tabela 10 – Frequência de alterações microscópicas em parênquima hepático de gatos infectados e não infectados por <i>P. fastosum</i> no município de Maracanaú, Ceará.....	50
Tabela 11 – Comparação entre prevalência de lesões microscópicas em colédoco intra-hepático e vesícula biliar de gatos infectados e não infectados por <i>P. fastosum</i> do município de Maracanaú, Ceará.....	55

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Frequência dos principais sinais clínicos de infecção por <i>P. fastosum</i> citados em publicações nacionais e internacionais de 1984-2013.....	24
Gráfico 2 – Frequência de patologias detectadas ao exame clínico da amostra de gatos de Maracanaú, Ceará.	42
Gráfico 3 – Distribuição de carga parasitária de <i>P. fastosum</i> em gatos de Maracanaú, Ceará.	46
Gráfico 4 – Frequência de comprimentos médios de <i>P. fastosum</i> provenientes de cargas parasitárias recuperadas de gatos em Maracanaú, Ceará	47
Gráfico 5 – Graus de lesões no parênquima hepático em gatos infectados e não infectados por <i>P. fastosum</i> no município de Maracanaú, Ceará.....	50
Gráfico 6 – Graus de lesões microscópicas nos colédocos intra-hepáticos de gatos infectados e não infectados por <i>P. fastosum</i> no município de Maracanaú, Ceará.....	53

LISTA DE SIGLAS

AFA	Álcool – Formol – Ácido Acético
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
CCA	Colangiocarcinoma
CCZ	Centro de Controle de Zoonoses
CFMV	Conselho Federal de Medicina Veterinária
FA	Fosfatase Alcalina
FeLV	<i>Feline Leukemia Virus</i> (Virus da Leucemia Felina)
FIV	<i>Feline Immunodeficiency Virus</i> (Virus da Imunodeficiência Felina)
FLUTD	<i>Feline Lower Urinary Tract Disease</i> (Doença do trato urinário inferior de Felinos)
γGT	Gama Glutalmiltransferase
HE	Hematoxilina-eosina
IC95%	Intervalo de Confiança de 95%
NUROF-UFC	Núcleo Regional de Ofiologia da Universidade Federal do Ceará
OPG	Ovos por grama de fezes
OR	<i>Odds ratio</i> (Razão de Probabilidades)
RP	Razão de Prevalência
WSAVA	<i>World Small Animals Veterinary Association</i> (Associação Mundial de Veterinários de Pequenos Animais)

SUMÁRIO

RESUMO	9
1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1. Taxonomia.....	17
2.2. Biologia	18
2.3. Epizootiologia	21
2.4. Sinais clínicos	23
Fonte: Própria.	24
2.5. Fisiopatologia	24
2.6. Diagnóstico.....	27
2.6.1. Diagnóstico clínico, laboratorial e diferencial	28
2.6.2. Diagnóstico por imagem	29
2.6.3. Exames de parasitologia fecal	29
2.6.4. Diagnóstico cirúrgico	30
2.6.5. Diagnóstico <i>post mortem</i>	30
2.7. Tratamento.....	31
2.8. Justificativa.....	32
3. OBJETIVOS.....	34
3.1. Gerais.....	34
3.2. Específicos.....	34
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	35
4.1. Aspectos éticos	35
4.2. Tipo de estudo, local e período.....	35
4.3. Amostragem e critérios de inclusão	35
4.4. Coleta de dados demográficos e clínicos	35
4.5. Eutanásias	36
4.6. Necrópsias, coletas de trematódeos e histopatologia	37
4.7. Classificação microscópica das lesões	38
4.8. Montagem e identificação dos trematódeos	40
4.9. Análise estatística	40
5. RESULTADOS	41
5.1. Caracterização da amostra.....	41
5.2. Detecção e identificação do helminto	43
5.3. Prevalência e análise de risco	45
5.4. Caracterização da carga parasitária	46
5.5. Anatomopatologia	48
5.5.1. Fígado.....	48
5.5.2. Vesícula biliar	53
6. DISCUSSÃO	57
7. CONCLUSÕES	68
8. REFERÊNCIAS.....	69
APÊNDICES	80
ANEXOS	82

1. INTRODUÇÃO

Dentre os parasitos de interesse médico e médico-veterinário estão os trematódeos, vermes platelmintos responsáveis por infecções alimentares em humanos e animais, com desenvolvimento indireto, cujo ciclo complexo envolve dois ou mais hospedeiros intermediários (PESSOA; MARTINS, 1988; KEISER; UTZINGER, 2009; OMS, 2010).

Segundo o primeiro relatório da Organização Mundial de Saúde sobre doenças tropicais negligenciadas, as trematodíases alimentares têm demonstrado importância crescente em saúde pública, com morbidade significativa e alta letalidade quando não tratadas (OMS, 2010). O reconhecimento de tais doenças vem alcançando escala mundial, principalmente em países em desenvolvimento, uma vez que seus agentes etiológicos vêm sendo associados ao desenvolvimento de neoplasias biliares de alta letalidade há quase um século (WATSON-WEMYSS, 1919; NAUCK; LIANG, 1928; FLAVELL, 1981; RIM et al., 1994; SITHITHAWORN; HASWELL-ELKINS, 2003; SHIM et al., 2010; LIM, 2011).

Também possuem importância econômica, representando até U\$120 milhões anuais em custos médicos e prejuízos financeiros para os seres humanos (ANDREWS et al., 2008), além de perda de até 50% de produtividade dos rebanhos (FITZPATRICK, 2013) das espécies bovina e ovina principalmente (HILLYER; APT, 1997; ILHA et al., 2005; KATSOULOS et al., 2011; ROJO-VASQUEZ et al., 2012).

Em relação aos animais de companhia, os prejuízos vão além do impacto sanitário e econômico, levando em consideração os benefícios sociais, mentais e fisiológicos que os animais de companhia trazem aos seres humanos (SERPELL, 1991; BLACKSHAW, 1996; FRIEDMANN; SON, 2009). Doenças, condições debilitantes de saúde e morte em cães, gatos e outras espécies de estimação podem afetar diretamente a saúde física e mental de seus proprietários (WROBEL; DYE, 2003).

O trematódeo *Platynosomum fastosum* foi registrado pela primeira vez por Braun, em 1901, em um felídeo silvestre, e posteriormente descrito por Kossack, em 1910 (MALDONADO, 1945). Sua morfologia e biologia vêm sendo estudadas desde então. Trata-se de um parasita de importância veterinária, especialmente em gatos domésticos, cuja informação científica ainda é escassa, mesmo após um século de seu

registro (BASU; CHARLES, 2014). Até bem pouco tempo, seu ciclo biológico tinha lacunas de compreensão, especialmente sobre a importância dos lagartos como hospedeiros intermediários (PINTO et al., 2014). Apesar dos relatos de hepatopatias graves, sua patogenicidade foi considerada de menor importância, quando comparada a outros trematódeos de importância veterinária (MACLACHLAN; CULLEN, 1990; CULLEN; BROWN, 2013).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Taxonomia

A espécie *Platynosomum fastosum* (sin. *P. illiciens*, *P. concinnum*), digenético da família Dicrocoeliidae, é um trematódeo do trato biliar, principalmente de gatos domésticos e selvagens, tendo sido relatado também em aves e outras espécies de mamíferos (RODRIGUES, 1963; ARCEO et al., 1999; BASU; CHARLES, 2014) e que geralmente causa infecções assintomáticas (ANDRADE et al., 2012).

Tabela 1 – Classificação taxonômica de *P. fastosum*

Filo	Platyhelminthes
Subfilo	Neodermata
Classe	Trematoda Rudolphi, 1808
Subclasse	Digenea Carus, 1863
Ordem	Plagiorchiida
Subordem	Plagiorchiata
Família	Dicrocoeliidae
Gênero	Platynosomum Looss, 1907
Espécie	<i>Platynosomum fastosum</i> Kossack, 1910

Fonte: Adaptado de ITIS (2015)

O trematódeo foi registrado pela primeira vez por Braun (1901 apud MALDONADO, 1945), em um felídeo silvestre, e nomeado de *Dicrocoelium concinnum*. O gênero *Platynosomum* foi criado por Looss (1906 apud MALDONADO, 1945), para identificar dicrocelídeos de aves e mamíferos que não se enquadravam nos gêneros existentes à época (*Dicrocoelium*, *Eurytrema* e *Lyperosomum*). Kossack (1910 apud MALDONADO, 1945) registrou a ocorrência do trematódeo em outro felídeo silvestre (*Felis minuta*), nomeando-o *Platynosomum fastosum*. Algumas diferenças morfológicas produziram controvérsias sobre a

semelhança entre os espécimes registrados por Braun e Kossack, gerando a sinonímia *P. concinnum*, a qual nomeou o primeiro registro do trematódeo em gatos domésticos, por Dikmans (1927 apud MALDONADO, 1945) em Porto Rico. Após análise e comparação morfológica das espécies descritas, Rodrigues (1963) concluiu que várias espécies, dentro do gênero, poderiam ser consideradas uma só, e passou a recomendar a substituição das diversas sinonímias por *P. illiciens*. Alguns anos antes, Yamaguti (1958 apud RODRIGUES, 1963) considerou *P. illiciens* como parasito de aves e *P. fastosum* como parasito de mamíferos, diferença que justificou a opção pela denominação *P. fastosum* por autores recentes (HEADLEY et al., 2011; BASU; CHARLES, 2014), e consequentemente a opção por *P. fastosum* neste trabalho.

2.2. Biologia

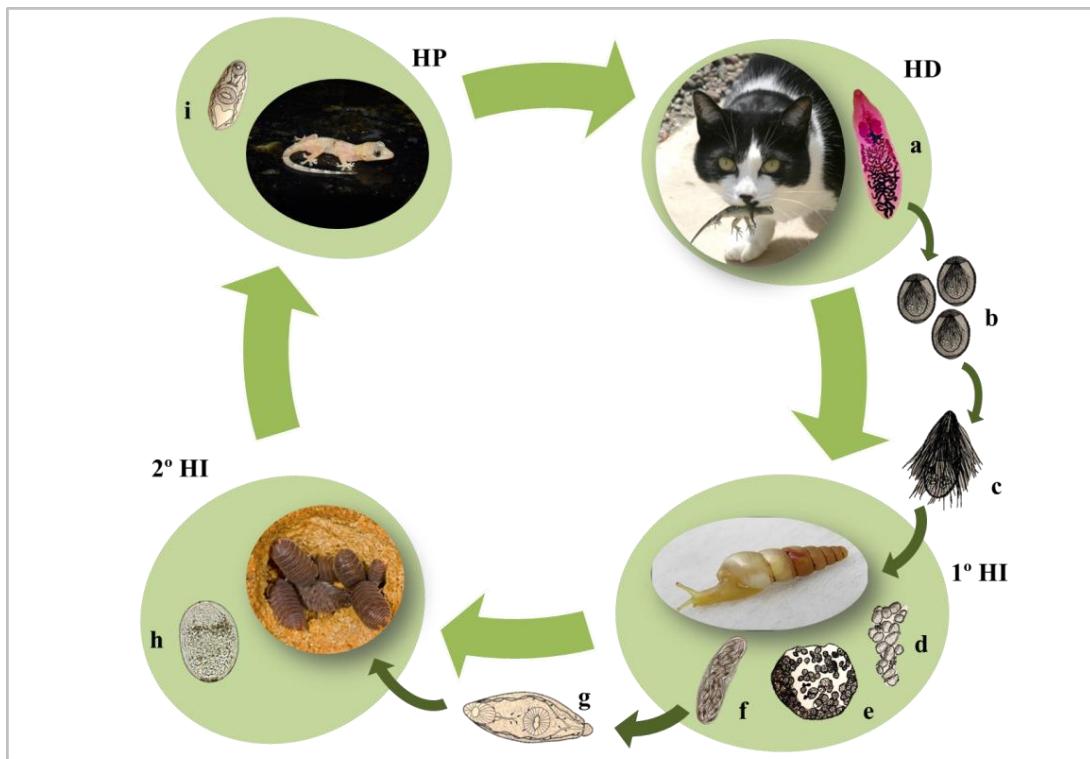
Seu ciclo biológico foi descrito pela primeira vez por van Wolkenberg (1937 apud MALDONADO, 1945), em Porto Rico, sendo reproduzido experimentalmente poucos anos depois, confirmado os hospedeiros intermediários envolvidos (MALDONADO, 1945). O primeiro hospedeiro intermediário é um molusco gastrópode terrestre da espécie *Subulina octona*; o segundo, o lagarto comum da espécie *Anolis cristatellus* (MALDONADO, 1945). Estudos posteriores incluíram mais um hospedeiro invertebrado ao ciclo, um isópode terrestre, comumente conhecido como “tatuzinho de jardim”, como portador da metacercária cística (ECKERLIN; LEIGH, 1962).

O ciclo clássico reproduzido por Maldonado (1945) é descrito a seguir, incluindo a participação dos isópodes, descrita por Eckerlin e Leigh (1962) e as informações recentes publicadas por Pinto et al. (2014):

O gato, hospedeiro definitivo, elimina os ovos nas fezes, contaminando o solo. O ovo, simétrico, operculado, de casca grossa, medindo cerca de 40 um x 24um, contém um miracídio (larva ciliada). O molusco gastrópode, *Subulina octona* (primeiro hospedeiro intermediário) ingere as fezes contendo ovos. Após quinze minutos da chegada do ovo ao trato digestório do molusco, o miracídio eclode através do opérculo e migra pelo tecido conjuntivo do mesmo, alojando-se na cavidade respiratória. Nos próximos cinco dias, o miracídio vai perder os cílios e se transformar em esporocisto mãe (uma bolsa muscular, móvel, com quatro células germinativas), dando início à fase assexuada da reprodução do trematódeo. As células no esporocisto

mãe iniciam as mitoses e permanecem em divisão pelos próximos 10-13 dias, quando passam a se agrupar, diferenciadas por tamanho e atividade metabólica. Dos 15-30 dias, há um marcado crescimento do esporocisto mãe, em tamanho e número de células. A partir do 28º dia, começa a liberação dos primeiros esporocistos filhas. Os esporocistos filha são a segunda geração de células em divisão, e sofrerão o mesmo processo de divisão e crescimento que o esporocisto mãe, pelas próximas semanas. Os esporocistos filha maduros são estruturas organizadas, contendo células alongadas e diferenciadas histologicamente, as cercárias. Cada esporocisto filha maduro contém 18 cercárias, que começam a emergir do molusco gradativamente a partir do 60º dia pós-ingestão dos ovos, dependendo de condições ideais de luz e umidade. As cercárias maduras são alongadas, medindo até 235 x 88 um, com ventosas evidentes, mas órgãos digestórios e reprodutivos não desenvolvidos. As cercárias livres podem permanecer viáveis por até 24 horas em condições ideais de luz e umidade, sendo ingeridas, nesse intervalo, pelos segundos hospedeiros intermediários, os isópodes terrestres (Oniscidea/"Tatuzinhos de jardim"). No isópode, a cercária se converte em metacercária, uma forma cística e infectante, que será carreada por via alimentar para o hospedeiro paratênico (lagartos periurbanos, principalmente). Nos lagartos da espécie *Anolis cristatellus*, em Porto Rico, foram observadas as metacercárias císticas nos ductos biliares, medindo 450 x 200 um, em abundância de até 300 por hospedeiro. Já nos *Hemidactylus mabouia* analisados por Pinto et al. (2014), foram observadas metacercárias excistadas, em abundância de até 1540 larvas por lagarto. Finalmente, os gatos, hospedeiros definitivos, se infectam ao predarem lagartos infectados por metacercárias. Após poucas horas da ingestão, a metacercária excista e migra da papila duodenal maior para o ducto biliar comum. Nos gatos, os trematódeos atingem a maturidade e iniciam sua reprodução sexuada (MALDONADO, 1945; ECKERLIN; LEIGH, 1962; FOLEY, 1994; PINTO et al., 2014) (Figura 1).

Figura 1 – Ciclo de *P. fastosum*. HD- hospedeiro definitivo: gato doméstico; a) *P. fastosum*, adulto; b) ovos embrionados; c) miracídio; d) esporocisto mãe; e) esporocisto filha; f) esporocisto filha maduro; g) cercária; 2ºHI- 2º hospedeiro intermediário: Isópode; h) metacercária encistada; HP- hospedeiro paratênico: lagarto; i) metacercária livre.



Fonte: Adaptado de Maldonado(1945) e Pinto et al. (2014)

Embora a descrição de Maldonado (1945) tenha consagrado o ciclo de *P. fastosum*, até pouco tempo as espécies de hospedeiros intermediários vertebrados envolvidos em sua transmissão no Brasil ainda não estavam bem definidas. Em infecção experimental, Pinto et al. (2014) registraram os estádios do trematódeo, confirmaram os hospedeiros invertebrados (Figura 1) e estabeleceram definitivamente a função do lagarto geconídeo *Hemidactylus mabouia* (Figura 2) como hospedeiro paratênico não obrigatório, enfatizando seu papel preponderante na epidemiologia da infecção em gatos domésticos. Em seguida, Pinto et al. (2015b) caracterizaram o desenvolvimento do trematódeo em modelo murino, correlacionando o tamanho médio dos trematódeos ao tempo de infecção.

Alguns autores implicam outras classes de vertebrados como terceiros hospedeiros intermediários, como aves insetívoras e anfíbios anuros (ARCEO et al., 1999; BASU; CHARLES; 2014).

O comportamento de infecção não específico de *P. fastosum* em aves e mamíferos foi evidenciado por Pinto et al. (2015a) em infecção experimental de camundongos e periquitos, obtendo formas adultas morfologicamente semelhantes.

Figura 2 – Lagarto geconídeo *H. mabouia*, hospedeiro paratênico não obrigatório do ciclo biológico de *P. fastosum*.



Fonte: Daniel Passos.

2.3. Epizootiologia

A infecção por *P. fastosum* tem sido relatada em vários países, nas Américas, África, Ásia e Oceania (BASU; CHARLES, 2014).

A prevalência da infecção pelo trematódeo varia entre 15 e 85% em países tropicais (FOLEY, 1994), mas no Brasil é levantada pontualmente em algumas cidades (ver Tabela 2). A maioria das publicações comprehende relatos de caso clínico e inquéritos parasitológicos gerais. Até este ano, a ocorrência de *P. fastosum* em Fortaleza vinha sendo detectada por médicos veterinários na prática profissional, porém não tinha sido registrada na literatura, quando um relato de caso clínico com manifestações graves em gato doméstico foi publicado por Sousa Filho et al. (2015). Na Tabela 2, constam as publicações brasileiras de registro de casos e pesquisas de prevalência por *P. fastosum*.

Tabela 2 –Relação de registros de ocorrência de infecções naturais por *P. fastosum* em gatos no Brasil, em ordem cronológica de publicação.

Estado	Relato de caso e prevalência	Método diagnóstico	Autor e ano	Natureza
RJ	7/22; 36%	Necrópsia	Torres; Pinto, 1936	Pesquisa
RJ	45%	-	Langenegger; Lanzieri, 1963*	Pesquisa
SP	1/1	Parasitológico fecal e Necrópsia	Ogassawara et al., 1980	Relato de caso
SP	3/54; 7%	Necrópsia	Ogassawara et al., 1986	Pesquisa
RJ	41/110; 37,27%	Necrópsia	Ferreira et al., 1999	Pesquisa
SP	2/187; 1,07%	Parasitológico fecal	Gennari et al., 1999	Pesquisa
SP	3/11; 27,27%	Parasitológico fecal e Necrópsia	Silva et al., 2001	Pesquisa
SP	2/138; 1,44%	Parasitológico fecal	Ragozo et al., 2002	Pesquisa
MG	20/50; 40%	Necrópsia	Mundim et al., 2004	Pesquisa
RJ	24/72; 33,33%	Parasitológico fecal	Salomão et al., 2005	Pesquisa
RN	1/1	Clínico e imagem	Ahid et al., 2005	Relato de caso
SP	17/60; 28,33%	Necrópsia	Ishizaki et al., 2006	Pesquisa
BA	1/1	Clínico e cirúrgico	Sampaio et al., 2006	Relato de caso
SP	1/1	Clínico e cirúrgico	Xavier et al., 2007	Relato de caso
RJ	8/13	Parasitologia fecal e imagem	Azevedo, 2008	Pesquisa
RN	3/3	Necrópsia	Filgueira et al., 2008	Rotina
SP	1/1	Clínico e necrópsia	Carreira et al., 2008	Relato de caso
SP	1/1	Parasitológico fecal	Farah et al., 2009	Relato de caso
MG	2/2	Necrópsia	Vieira et al., 2009	Rotina
PR	7/378; 1,91%	Necrópsia	Headley et al., 2011	Retrospectivo
PB	11/348; 3,16%	Necrópsia	Andrade et al., 2012	Retrospectivo
SP	1/1	Clínico e necrópsia	Daniel et al., 2012	Relato de caso
MT	38/146; 26,03%	Necrópsia	Ramos et al., 2013	Pesquisa
RS	1/1	Clínico e Parasitológico Fecal	Michaelsen et al., 2013	Relato de caso
CE	1/1	Clínico e Biópsia	Sousa Filho et al., 2015	Relato de caso
BA	1/1	Necrópsia	Jesus et al., 2015	Relato de caso

* Langenegger; Lanzieri (1963) apud Ferreira et al. (1999). Fonte: Própria.

O estilo de vida dos felinos afeta a prevalência da infecção (FOLEY, 1994). Em pesquisa no Rio de Janeiro, Salomão et al. (2005) observaram diferença significativa de prevalência entre gatos domiciliados (7,1%) e de vida livre (42%). Alguns autores associaram diferentes prevalências entre os sexos, ora maior em machos (ARCEO et al., 1999), ora em fêmeas (RODRIGUEZ-VIVAS et al., 2004); porém, não existe um consenso geral sobre qual é mais predisposto. Gatos a partir de dois anos de idade apresentam maiores prevalências da infecção por *P. fastosum* (FOLEY, 1994; RODRIGUEZ-VIVAS et al., 2004).

2.4. Sinais clínicos

A gravidade dos sinais clínicos está associada à carga parasitária e ao tempo de infecção do hospedeiro; em geral, a maioria das infecções é assintomática (FOLEY, 1994). Taylor e Perri (1977 apud ARCEO et al., 1999) conduziram infecção experimental em dois grupos de gatos com diferentes doses infectantes (Baixa dose: <125 e Alta dose: 1000 metacercárias). Após 21 meses de acompanhamento, observou-se que todos os gatos infectados com a baixa dose e 40% do grupo infectado com a alta dose se mantiveram assintomáticos, enquanto os 60% restantes do grupo infectado por alta dose manifestaram sinais clínicos leves de inapetência e letargia, num período de 7 a 16 meses pós-infecção (TAYLOR; PERRI, 1977 apud ARCEO et al., 1999).

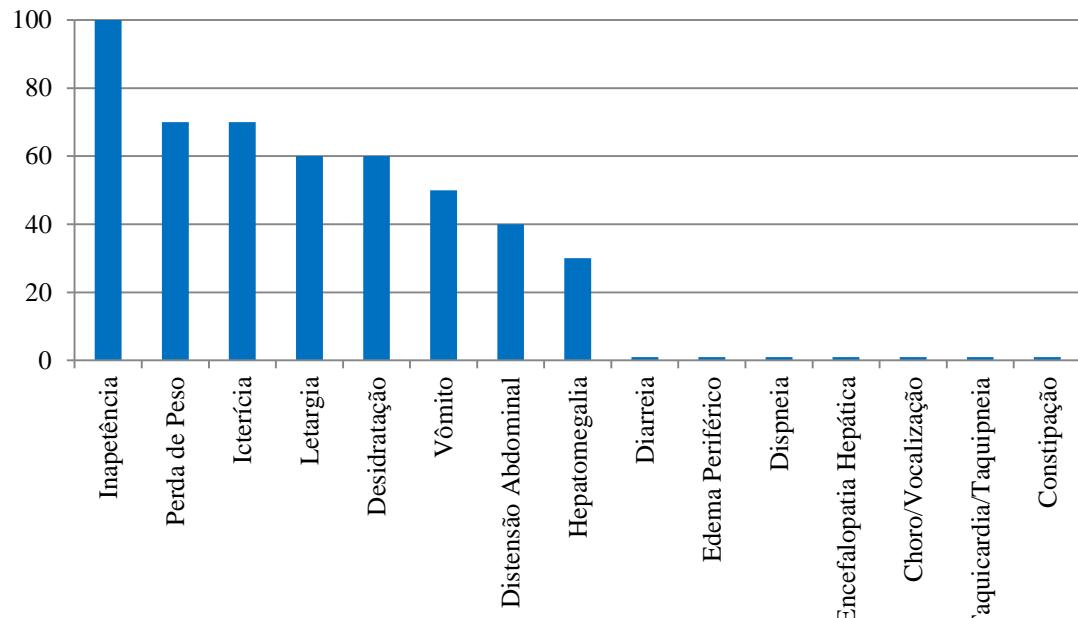
Em casos sintomáticos, os primeiros sinais são inespecíficos. Nos relatos clínicos, inapetência ou anorexia são sempre citados pelos proprietários, seguidos por perda de peso, icterícia (Figura 3), vômitos e desidratação (ZAMRII-SAAD et al., 1984; AHID et al., 2005; SAMPAIO et al., 2006; XAVIER et al., 2007; CARREIRA et al., 2008; KIM et al., 2010; HEADLEY et al., 2011; DANIEL et al., 2012; MICHAELSEN et al., 2013; MONTSERIN et al., 2013). Sinais menos frequentes são diarreia, constipação e edema periférico (ZAMRII-SAAD et al., 1984; AHID et al., 2005; KIM et al., 2010; SOUSA FILHO et al., 2015). Casos de encefalopatia hepática, vocalização contínua, taquicardia e taquipneia foram relatados em casos clínicos graves, relacionados com colecistite grave e insuficiência hepática (AHID et al., 2005; HEADLEY et al.; 2011; MONTSERIN et al., 2013). As frequências dos sinais clínicos mais relatados na literatura estão apresentadas no Gráfico 1.

Figura 3 - Icterícia na mucosa ocular e palatina, decorrente de infecção por *P. fastosum*, na cidade de Fortaleza, Ceará.



Fonte: Sousa Filho et al. (2015).

Gráfico 1 – Frequência dos principais sinais clínicos de infecção por *P. fastosum* citados em publicações nacionais e internacionais de 1984-2013.



Fonte: Própria.

2.5. Fisiopatologia

Colecistite, colangite crônica e doença cística hepática são relatadas como induzidas por *P. fastosum* (XAVIER et al., 2007; CARREIRA et al., 2008; DANIEL et al., 2012). Semelhante ao que ocorre nas trematodíases humanas por opistorquiúdeos, *P. fastosum* tem sido implicado também na predisposição ao colangiocarcinoma em felinos (SANTOS et al., 1981; ANDRADE et al., 2012).

A maioria das publicações sobre *P. fastosum* relata os achados patológicos, mas não detalha os processos fisiopatológicos. Torres e Pinto (1936) descreveram os achados patológicos em sete gatos com infecção natural e baixa carga parasitária, e discutiram a patogênese, comparando com infecções em ruminantes por *Eurytrema coelomaticum* (Digenea: Dicrocoeliidae). Esses autores relataram que a baixa carga causou lesões leves, na maioria espessamento de ducto colédoco intra-hepático e presença de folículos linfoides em sua adventícia, expansão portal por infiltrados inflamatórios mononucleares e deposição de colágeno, hiperplasia glandular, e criptas mucosas interligando os ductos principais com os ductos interlobulares. Ressaltaram também que foram observados trematódeos adultos, mas não seus ovos, nos lúmens de

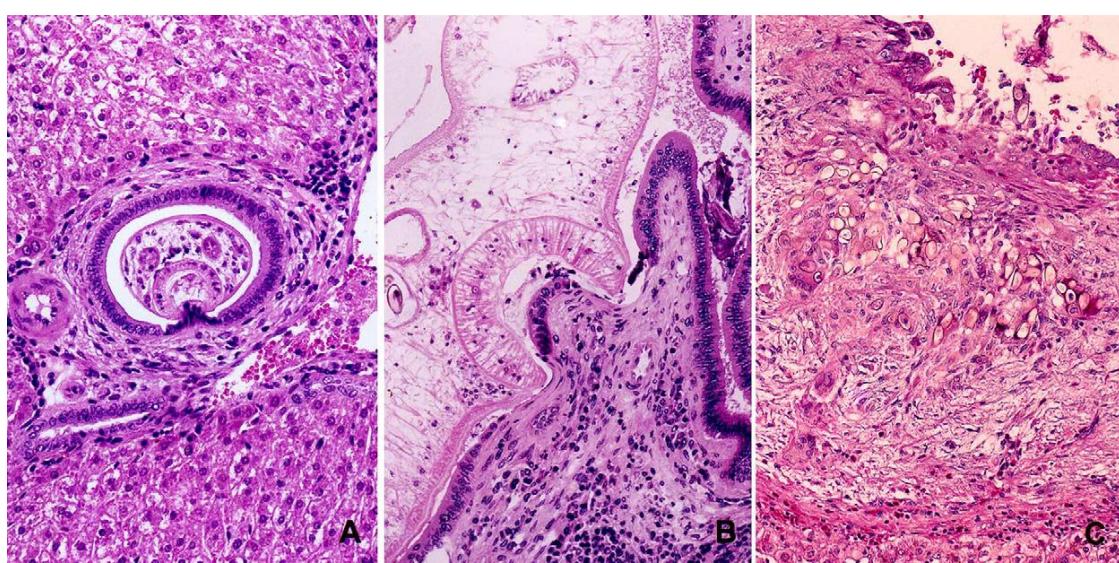
ductos principais, e que não foram observados trematódeos migrando pelo parênquima hepático, apenas no interior do trato biliar (TORRES; PINTO, 1936).

As lesões observadas nas infecções por *P. fastosum* em gatos são semelhantes às causadas por outros trematódeos biliares, como, por exemplo, *Opisthorchis viverrini* (Digenea: Plagiorchiidae) em humanos (FERREIRA et al., 1999; ANDRADE et al., 2012). O processo fisiopatológico de *O. viverrini* será utilizado como modelo nesta seção.

As principais lesões da opistorquiase são semelhantes em humanos e em animais, afetando o trato biliar, com descamação epitelial, hiperplasia mucosa e glandular, metaplasia de células de Goblet, inflamação, fibrose periductal e formação de granulomas (SRIPA, 2003). Os mecanismos patogênicos propostos incluem injúria mecânica e obstrutiva, injúria induzida por produtos metabólicos parasitários e mecanismos imunopatológicos (SRIPA, 2003; SRIPA et al., 2012).

A injúria mecânica é causada pela sucção das ventosas oral e ventral sobre o epitélio biliar durante a fixação e alimentação do trematódeo, mesmo durante o estágio agudo da infecção (SRIPA, 2003). Os trematódeos adultos causam danos ainda maiores, como úlceras e reações granulomatosas ao redor de ovos (SRIPA, 2003) (Figura 4).

Figura 4 – Fotomicrografia mostrando as injúrias causadas por *O. viverrini*. A) Trematódeo jovem fixado ao epitélio biliar em fígado de hamster; B) Trematódeo adulto fixado ao epitélio biliar em fígado de hamsters, causando ulceração; C) Reação granulomatosa aos ovos em parênquima hepático humano.



Fonte: Sripa (2003).

Em infecções graves, com alta carga parasitária, ocorre a obstrução mecânica dos ductos biliares, produzindo colestase e consequente icterícia (LIM,

2011). As obstruções são mais comuns em animais do que em humanos, devido ao maior tamanho proporcional de trematódeos em relação aos lúmens biliares (SRIPA, 2003). A estase biliar causa pressão nos canalículos e irritação crônica, o que induz a proliferação de novos ductos biliares e fibrose portal, podendo evoluir para cirrose hepática (WERNER, 2011). Headley et al. (2011) descreveram necrose centrolobular disseminada, decorrente de colestase, causando insuficiência e encefalopatia hepática em gatos idosos cronicamente parasitados por *P. fastosum*.

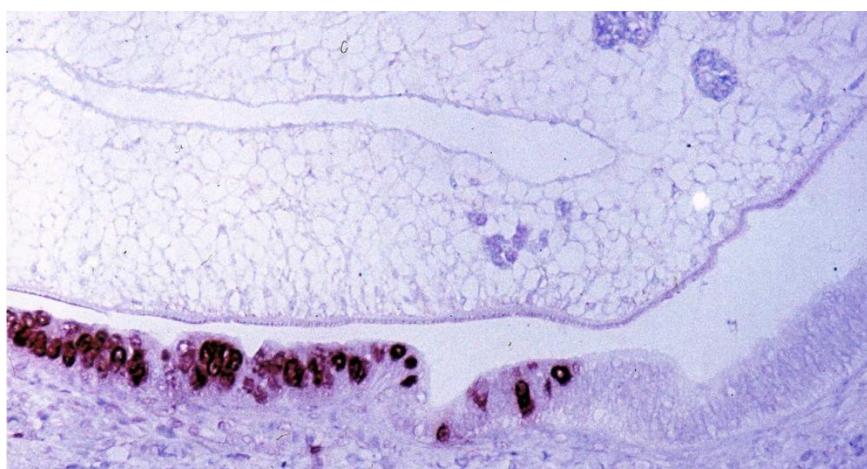
A obstrução direta (ou indireta, por edema inflamatório) do ducto colédoco extra-hepático e do ducto pancreático por trematódeos causa pancreatite nas espécies hospedeiras, podendo ocorrer em felinos (CULLEN; BROWN, 2013).

A colangite crônica é observada com frequência em gatos parasitados por opistorquídeos e dicrocelídeos. Ocorre hiperplasia epitelial, com infiltração leve à moderada de macrófagos e neutrófilos nos ductos, e de linfócitos, plasmócitos e neutrófilos nas áreas portais (CULLEN, 2009).

Após se alimentarem de mucina e sangue, os trematódeos secretam produtos metabólicos que podem ser imunogênicos, tóxicos ou mitogênicos para o epitélio biliar (SRIPA, 2003)

Mecanismos imunopatológicos têm sido elucidados nos últimos anos. As primeiras descobertas foram associadas à presença de抗ígenos dos trematódeos detectados por imuno-histoquímica nos infiltrados inflamatórios periportais em ductos biliares de hamsters, possivelmente englobados, endociticamente ou por receptores específicos, por macrófagos, células epitelioides e células gigantes (SRIPA; KAEWKES, 2000) (Figura 5).

Figura 5 – Fotomicrografia de fígado de hamster infectado por *O. viverrini*, marcado por Brd-U. Áreas marcadas no epitélio correspondem à proliferação de células.



Fonte: Sripa(2003)

Recentemente, através de técnicas de proteômica, foi observada a presença de proteínas da família das granulinas – fatores de crescimento que estimulam a proliferação celular no hospedeiro – nos produtos metabólicos de *O.viverrini*, sendo este achado reconhecido como um dos mecanismos fisiopatológicos do colangiocarcinoma (CCA) (SRIPA et al., 2012).

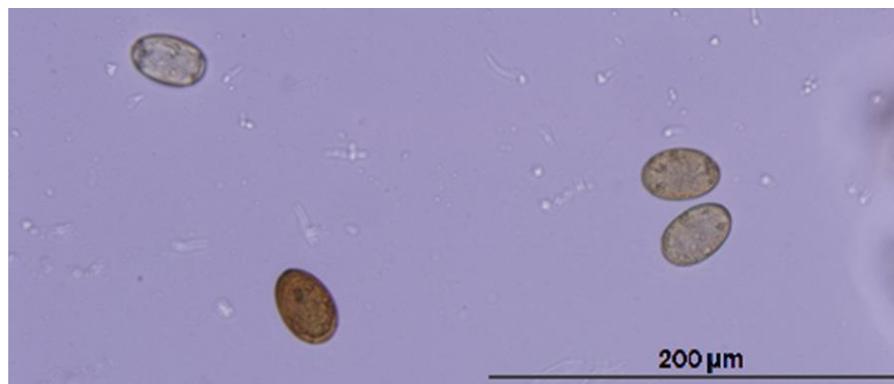
Outro mecanismo, associado com diversos tipos de neoplasias, incluindo o CCA, é a cicatrização causada por injúria mecânica crônica, responsável por causar disruptão do microambiente, produzindo metaloproteinases que promovem perda de adesão celular e estímulo constante à proliferação de células de reposição, fibrose e mutações celulares que levam à malignidade (SRIPA et al., 2012).

Santos et al., (1981) e Andrade et al. (2012) relataram casos de CCA em felinos, os quais foram associados à infecção crônica por *P. fastosum*. Os autores discutiram os achados à luz da fisiopatologia do CCA humano associado à trematodíases crônicas, por *O. viverrini* e *Clonorchis sinensis*. Andrade et al., (2012) destacaram ainda os mecanismos de injúria mecânica e crônica previamente citados no presente texto.

2.6. Diagnóstico

O diagnóstico definitivo é feito: a) *in vivo* por exame coproparasitológico, com visualização de ovos dourados, operculados, medindo cerca de 40 x 24 μm (Figura 6); b) *post morten* pela recuperação do trematódeo das vias biliares (PALUMBO et al., 1976 apud BASU; CHARLES, 2014; SALOMÃO et al., 2005).

Figura 6 – Fotomicrografia de ovos de *P. fastosum*, de cor castanha à dourada, operculados, de casca grossa e embrionados, visualizados ao exame de fezes.



Fonte: Basu e Charles (2014)

2.6.1. Diagnóstico clínico, laboratorial e diferencial

Gatos com icterícia, eosinofilia e enzimas hepáticas elevadas, vivendo em localidade geográfica onde existam condições biológicas para o desenvolvimento de *P. fastosum*, devem ter suspeita de infecção para o trematódeo (NORSWORTHY, 2006a).

O hemograma frequentemente apresenta anemia e leucocitose com neutrofilia (CARREIRA et al., 2008; HEADLEY et al., 2011; MICHAELSEN et al., 2013; MONTSERIN et al., 2013). Há divergências sobre a frequência de observação da eosinofilia: em infecção experimental, o pico de eosinofilia foi transitório, ocorrendo cerca de 4 a 5 meses após a infecção (TAYLOR; PERRI, 1977 apud ARCEO et al., 1999); outros autores a consideram persistente, ocorrendo entre 8 e 18 semanas pós-infecção, com um aumento de 50 a 100% dos valores normais, e se mantendo por meses (FOLEY, 1994). Em relatos publicados, a eosinofilia foi detectada ocasionalmente (SAMPAIO et al., 2006; MIM et al., 2010). Linfopenia também é relatada (VIEIRA et al., 2009; DANIEL et al., 2012; MICHAELSEN et al., 2013), possivelmente associada ao estresse (MONTSERIN et al., 2013). Basofilia é raramente observada (MICHAELSEN et al., 2013).

As transaminases hepáticas (ALT, AST) e a bilirrubina (total, conjugada, bilirrubinúria) podem se encontrar aumentadas, de acordo com a carga parasitária, o tempo de infecção e o grau de obstrução biliar (ARCEO et al., 1999). Em doença grave, crônica e obstrutiva, com dano importante à função hepática, é comum estarem aumentadas a ALT, AST, FA e γ GT (TAYLOR; PERRI, 1977 apud ARCEO et al., 1999; SAMPAIO et al., 2006; VIEIRA et al., 2009; HEADLEY et al., 2011; DANIEL et al., 2012; MICHAELSEN et al., 2013; MONTSERIN et al., 2013).

A icterícia pode ter diferentes causas, classificadas como: a) pré-hepáticas (desordens hemolíticas); b) hepáticas (hepatopatias), e c) pós-hepáticas (obstruções biliares extra-hepáticas) (GRACE, 2006). Como diagnósticos diferenciais de icterícia em gatos têm-se lipidose hepática, infecções (vírus[FIV, FeLV, FCoV], hemoparasitas, fungos, protozoários, helmintos) e neoplasias (especialmente linfoma) (GRACE, 2006).

Como já mencionado, infecções leves costumam ser assintomáticas, e muitas apresentam sinais inespecíficos, como inapetência e perda de peso, tornando difícil a detecção precoce da infecção pelo trematódeo.

2.6.2. Diagnóstico por imagem

Os achados radiográficos podem mostrar hepatomegalia, a qual pode ser detectada à palpação (FOLEY, 1994).

A ultrassonografia e a tomografia computadorizada se mostraram eficazes na observação da anatomia do trato biliar e na caracterização das lesões, servindo de técnica coadjuvante no diagnóstico da infecção por *P. fastosum* (SALOMÃO et al., 2005; AZEVEDO et al., 2012).

Os achados ultrassonográficos relacionados incluem dilatação de ductos biliares e/ou vesícula biliar (sinal de obstrução); sedimentos com trematódeos na vesícula, aparecendo como estruturas ovais hipoecoicas com centro ecoico; espessamento da parede da vesícula; e parênquima hepático hipoecoico com áreas portais hiperecóicas (GRACE, 2006).

2.6.3. Exames coproparasitológicos

Várias técnicas têm sido empregadas para o exame parasitológico das fezes, incluindo exame direto, flutuação simples e centrífugo-flutuação (com sulfato de zinco, sacarose, detergentes), e sedimentação por formol-éter (PALUMBO et al., 1976 apud BASU; CHARLES, 2014). A sensibilidade dos exames coproparasitológicos tem sido considerada baixa, variando de 25 a 50% (PALUMBO et al., 1976 apud BASU; CHARLES, 2014). A baixa sensibilidade se deve à pequena eliminação de ovos através das fezes, medidas pelos métodos quantitativos de OPG (ovos por grama de fezes) (2-10 OPG para baixas cargas; 10-100 OPG para altas cargas parasitárias) ou nenhuma eliminação, em casos de obstrução biliar completa (WILLARD; FOSSUM, 2005). Alguns autores sugerem a ingestão prévia de substâncias colagogas até 24 horas antes da coleta, a fim de aumentar a eliminação de ovos nas fezes, melhorando a sensibilidade dos testes fecais (FOLEY, 1994; ARCEO et al., 1999). Uma técnica combinada (filtração, centrifugação, sedimentação) foi descrita no final dos anos 90 para diagnóstico de *Schistosoma japonicum* em fezes de

suínos (WILLINGHAM et al., 1998 apud AHN et al., 2008). A comparação das técnicas combinada, sedimentação em formol-éter, e Kato-Katz obteve sensibilidade de 77,8 a 83,3% para ovos de trematódeos em fezes de gatos (AHN et al., 2008).

2.6.4. Diagnóstico cirúrgico

Técnicas cirúrgicas podem ser utilizadas no diagnóstico *in vivo*, embora não sejam empregadas com frequência devido aos riscos e custos. A laparotomia exploratória permite visualização direta dos órgãos afetados, alívio da obstrução por compressão manual da vesícula biliar, coleta de tecido hepático para biópsia e de bile para citologia, propiciando a visualização de trematódeos adultos e/ou de seus ovos (GRACE, 2006). A colecistocentese guiada por ultrassonografia é um método menos invasivo de coleta da bile para avaliação citológica, considerado seguro em gatos estabilizados (SAVARY-BATAILLE et al., 2003; GRACE, 2006)

2.6.5. Diagnóstico *post mortem*

Ao exame anatomo-patológico, pode-se observar hepatomegalia, icterícia, dilatação e fibrose periductal, espessamento de parede da vesícula, presença de trematódeos nos ductos intra-hepáticos e na vesícula (ARCEO et al., 1999). A bile pode estar espessada dentro da vesícula biliar (FOLEY, 1994).

À histopatologia, os achados mais citados na literatura são fibrose periductal, infiltrado mononuclear, dilatação de ductos, fibrose periportal e hiperplasia glandular (adenomatosa); citados com menos frequência estão infiltrado polimorfonuclear, necrose de hepatócitos, colestase, proliferação ductular, congestão portal, dilatação dos sinusoides e da vesícula biliar (TORRES; PINTO, 1936; O'SULLIVAN et al., 1976; TAYLOR; PERRI, 1977 apud ARCEO et al., 1999; SANTOS et al., 1981; ZAMRII-SAAD et al., 1984; FERREIRA et al., 1999; SAMPAIO et al., 2006; XAVIER et al., 2007; CARREIRA et al., 2008; FILGUEIRAS et al., 2008; VIEIRA et al., 2009; MIM et al., 2010; HEADLEY et al., 2011; DANIEL et al., 2012; ANDRADE et al., 2012; MONTSERIN et al., 2013; SOUSA FILHO et al., 2015; JESUS et al., 2015). Infiltração de eosinófilos e plasmócitos na adventícia dos ductos biliares maiores pode ser observada (FOLEY, 1994).

2.7. Tratamento

As medidas terapêuticas incluem antiparasitários e tratamento de suporte para quadro obstrutivo.

O fármaco de eleição para a eliminação dos trematódeos é o praziquantel, uma isoquinolona que aumenta a permeabilidade de membrana aos íons cálcio, interferindo na captação da glicose por cestódeos e trematódeos, depletando as reservas energéticas dos mesmos, matando-os por parálisia flácida (ANDRADE; SANTARÉM, 2002). Não existe um consenso a respeito da dose eficaz nem do esquema de tratamento definitivo. Arceo et al. (1999) citou praziquantel na dose única oral de 20mg/kg, repetido em intervalos de 12 semanas, e tratamento de suporte com fluidoterapia, antibióticos, corticoides e ácido ursodeoxicólico, para reduzir os efeitos da colestase. Norsworthy (2006) sugeriu praziquantel na dose de 25mg/kg, por via oral, a cada 8h por 2 a 3 dias, com possibilidade de reforço após 12 semanas, mais eletrólitos, antibióticos, antioxidantes e corticoides. Michaelsen et al., (2013), em caso clínico, instituiu praziquantel na dose de 50mg/kg, a cada 24 horas por 5 dias, mais ácido ursodeoxicólico, antioxidantes, vitaminas K e B12 injetáveis, e obteve sucesso. Por outro lado, Shell et al. (2015) relataram infecção em gata doméstica com diarreia persistente, previamente tratada com fentibendazol 50mg/kg, por via oral, a cada 24 horas por 3 dias. Iniciou tratamento oral com praziquantel 5,75mg/kg, via oral dose única, com reforço após 10 semanas, sendo acompanhado através de coproparasitológico seriado, observando decréscimo progressivo até zerar a contagem de ovos. A conclusão de Shell et al. (2015) foi de que a dose utilizada foi segura e eficaz, mas que o intervalo de reforço não ficou bem definido, necessitando de estudo controlado para determiná-lo.

Os diversos relatos de casos clínicos na literatura não falam especificamente sobre prognóstico, porém, concluiu-se que o prognóstico é bom em casos de infecções recentes e de baixa carga parasitária. O diagnóstico definitivo, associado aos exames laboratoriais complementares, e a instituição de terapêutica com anti-helmíntico de escolha e tratamento de suporte se mostrou eficaz na reversão de quadro sintomático grave (MICHAELSEN et al., 2013). Entretanto, o prognóstico desfavorável foi observado em vários relatos (SAMPAIO et al., 2006; XAVIER et al.,

2007; CARREIRA et al., 2008; VIEIRA et al., 2009; JESUS et al., 2015), nos quais foram observados sinais clínicos de hepatopatia obstrutiva grave.

2.8. Justificativa

A infecção por *P. fastosum* é relativamente pouco estudada, comparada a outras trematodíases de importância veterinária (BASU; CHARLES, 2014). Existem poucas pesquisas epidemiológicas sobre este trematódeo no Brasil, sendo a grande maioria delas no Sudeste (ver Tabela 2) e nenhuma delas no Nordeste. Apesar de *P. fastosum* estar associado principalmente a infecções assintomáticas, os relatos de casos clínicos publicados sempre mostram pacientes em estado grave, que sofrem intervenções cirúrgicas e frequentemente vão a óbito, antes mesmo de estabelecer conduta terapêutica (ZAMRII-SAAD et al., 1984; MIM et al., 2010; MONTSERIN et al., 2013), no transoperatório da colecistoduodenostomia (SAMPAIO et al., 2006), ou são submetidos à eutanásia por não responderem ao tratamento (CARREIRA et al., 2008; XAVIER et al., 2009; DANIEL et al., 2012; JESUS et al., 2015). Mesmo assim, autores de referência o consideram um trematódeo de patogenicidade menor (MACLACHLAN; CULLEN, 1990; CULLEN; BROWN, 2013).

O potencial zoonótico de digenéticos de importância em saúde animal é conhecido em algumas espécies. *O. viverrini*, trematódeo de importância zoonótica no sul da Ásia e associado ao desenvolvimento de colangiocarcinoma em humanos, tem sido detectado em gatos naquela região, com prevalência de 36% (ENES et al., 2010; AUNPROMMA et al., 2011), confirmando a importância dos felinos domésticos como reservatórios em seu ciclo. A espécie *O. felineus*, também distribuída na Ásia, é conhecida por parasitar gatos e incidentalmente seres humanos (CHAN; LAN, 1987).

O relato de infecção por *P. fastosum* em primatas brasileiros (SILVA et al., 2011) juntamente com os hábitos de consumo de répteis (ALVES et al., 2012) e de felinos (CABITZA, 2012; CAMERON, 2015; MIDDLEHURST, 2015) gera especulação acerca do potencial zoonótico desta espécie.

O hábito de consumo de répteis, embora não se saiba a frequência exata, é conhecido em várias regiões do Brasil, por subsistência, por lazer, e por escassez de itens alimentares em épocas de estiagem (ALVES et al., 2012).

O consumo de carne felina é praticado em alguns países do mundo, como China e Coréia (MIDDLEHURST, 2015). Os Estados Unidos proíbem abate e

consumo de cães e gatos em seis estados, mas os demais 44 estados não têm legislação específica (CAMERON, 2015). Um tradicional festival gastronômico no Peru servia anualmente pratos à base de carne de gatos domésticos para seus visitantes, cardápio que foi banido do festival a partir do ano de 2012, como consequência da luta de ativistas pela proteção desses animais (CABITZA, 2012). Hipoteticamente, na ocorrência do consumo de vísceras felinas infectadas, o gato poderia se comportar como um hospedeiro paratênico para a infecção accidental em humanos.

Portanto, a realização deste trabalho se justifica pela necessidade de obter informações sobre *P. fastosum* em gatos no Ceará, considerando sua importância em saúde animal e seu possível potencial zoonótico. Estima-se que existam de 3 a 10.000 gatos não domiciliados em Maracanaú, os quais podem agir como reservatórios desse trematódeo e de outros parasitos de importância epidemiológica e epizootiológica. De posse dessas informações, é importante expor a morbidade da infecção, estabelecendo diagnósticos diferenciais, para prevenir o agravamento no hospedeiro felino, e, consequentemente, elaborar estratégias clínicas e diagnósticas para sua prevenção.

3. OBJETIVOS

3.1. Gerais

Conhecer a prevalência da infecção de *P. fastosum*, caracterizando as principais lesões associadas à sua patogênese, em uma amostra de gatos (*Felis catus*, Linnaeus, 1758) não domiciliados, recolhidos ou recebidos pelo Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) da cidade de Maracanaú, Ceará.

3.2. Específicos

- Conhecer a prevalência da infecção parasitária na amostra estudada (141 gatos);
- Caracterizar os achados morfológicos do fígado e da vesícula biliar, macro e microscopicamente;
- Medir o risco de desenvolvimento de lesões colângio-hepáticas nos infectados;
- Correlacionar prevalência da infecção e variáveis demográficas;
- Correlacionar carga parasitária e variáveis morfométricas dos órgãos afetados;
- Correlacionar carga parasitária e grau das lesões.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Aspectos éticos

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal do Ceará sob o protocolo nº 40/14 (Anexo A). Buscou-se a redução máxima do estresse de manuseio pré-eutanásia nos animais avaliados, evitando contenção física vigorosa, exceto no caso de animais irascíveis.

4.2. Tipo de estudo, local e período

Foi realizado estudo de corte transversal, analítico, no CCZ de Maracanaú, Ceará, no período de Maio/2014 a Maio/2015 (Anexo B).

4.3. Amostragem e critérios de inclusão

A amostra foi calculada por meio da prevalência estimada da doença em gatos não domiciliados, considerando uma prevalência esperada de 37% (FERREIRA et al., 1990), com erro de 10% e intervalo de confiança de 95%. Desta forma, foi calculada uma amostra mínima de 90 animais.

A população do estudo compreendeu todos os gatos não domiciliados, recebidos ou capturados, pelo CCZ de Maracanaú, no período. A amostragem foi do tipo probabilística por conveniência. Foram incluídos todos os animais encaminhados para eutanásia, segundo o Artigo 3º. da Resolução nº 1000/2012 do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV, Anexo C). Foram excluídos 12 gatos que não foram submetidos à pesquisa de ovos na bile.

A amostra final compreendeu 141 gatos.

4.4. Coleta de dados demográficos e clínicos

Aos animais foram atribuídos números de identificação. Após a contenção química com quetamina (15mg/kg) e xilazina (1mg/kg) por via intramuscular, foram coletados dados demográficos – sexo, peso, faixa etária estimada pela cronologia

dentária (DYCE et al., 1990; LOVELACE, 2006), e clínicos – escore corporal, coloração das mucosas (oral, ocular e palatina), detecção de hepatomegalia por palpação abdominal (FEITOSA, 2004) (Figura 7). Os dados demográficos e clínicos dos animais foram coletados através de questionário elaborado com base na bibliografia citada (Apêndice A) e posteriormente tabulados no Microsoft Excel Home and Student 2010®.

Figura 7 – Etapas da coleta de dados demográficos e clínicos. A) Gatos após contenção química por quetamina e xilazina; B) Pesagem; C) Exame da mucosa ocular; D) Exame da mucosa palatina e avaliação da cronologia dentária.



Fonte: Própria.

4.5. Eutanásias

Foram realizadas eutanásias por injeção endovenosa de barbitúrico (Tiopental sódico, 100mg/kg), seguida de solução de Cloreto de Potássio (150mg/kg), segundo os métodos propostos pela Resolução nº1000/2012 do CFMV (ver Anexo C).

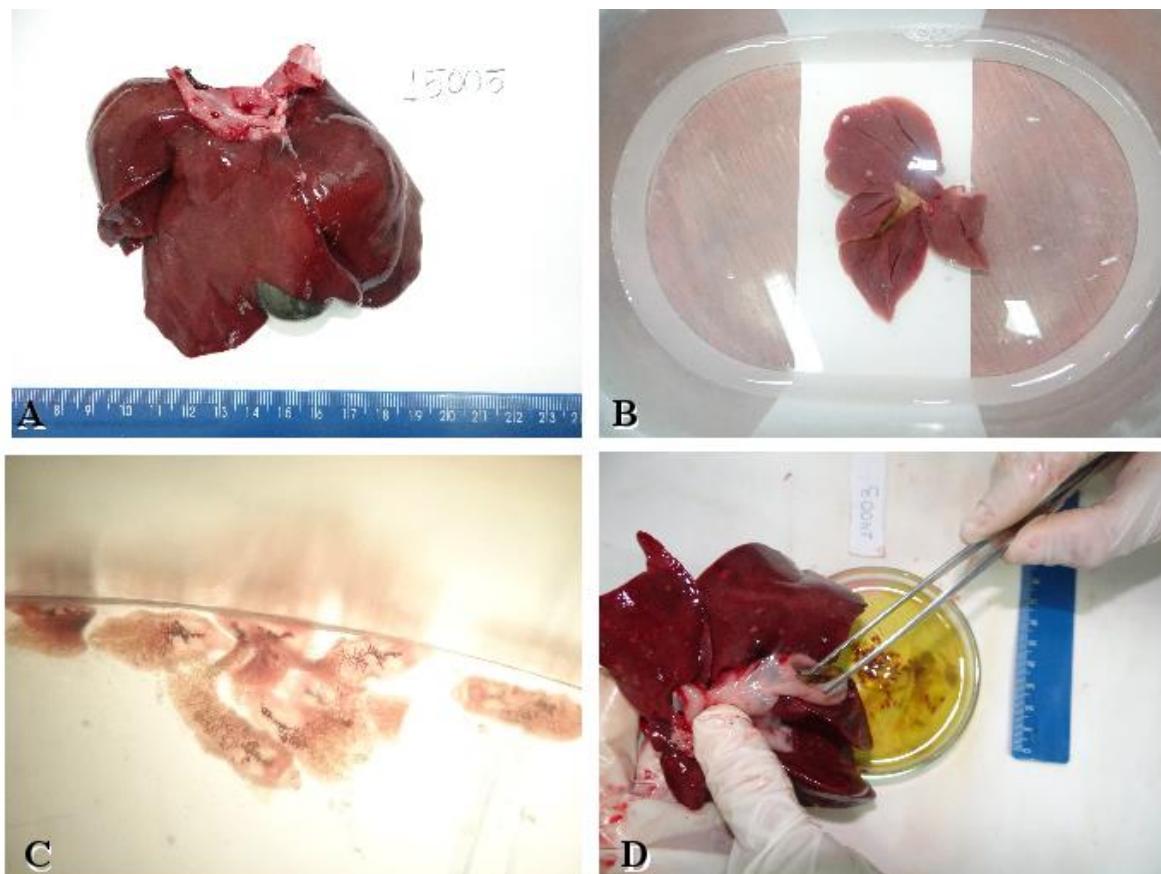
4.6. Necrópsias, coletas de trematódeos e histopatologia

Subsequente às eutanásias, foram realizadas as necrópsias, sendo colhidos os fígados e as vesículas biliares. Os órgãos foram transportados sob refrigeração para a Divisão Veterinária do NUROF-UFC, onde foram submetidos a exame macroscópico (Figura 8A).

Os dados da avaliação macroscópica foram agrupados em questionário (Apêndice A) formulado a partir de Torbenson (2002) e Abrahan (2002). Os fígados foram pesados, descritos, seccionados em intervalos de 0,5 cm e submersos em água aquecida a 37°C para recuperação dos trematódeos (Figuras 8B-C), segundo método proposto por Hammond e Swell (1974 apud ABEBE et al., 2010). As vesículas biliares foram medidas por paquímetro digital (comprimento do ducto cístico à base, largura e profundidade), abertas longitudinalmente para inspeção e coleta da bile (Figuras 8D). O volume das vesículas foi estimado pelo método elipsoide (HO et al., 1998). Foi realizada pesquisa de ovos na bile para o diagnóstico definitivo da infecção por *P. fastosum*. Amostras do fígado e da vesícula foram fixadas em formaldeído a 10%. Posteriormente, foram submetidos a processamento histológico de rotina, corados com hematoxilina/eosina, tricrômico de Gomori/tricrômico de Masson, a fim de observar alterações na morfologia normal.

A análise microscópica foi realizada em microscópio Opton TNB-01B com micrômetro ocular calibrado por micrômetro de platina, e as fotomicrografias capturadas por câmera digital Sony Cybershot W530. A manipulação de imagens digitais foi feita no *software* de licença aberta **Image J v.1.44p** (NIH, EUA).

Figura 8 – Procedimentos de avaliação macroscópica e recuperação de trematódeos em gatos de Maracanaú, Ceará. A) Avaliação macroscópica de fígado; B) Fígado seccionado em intervalos de 0,5cm, imerso em água a 37°C para recuperação de trematódeos das vias intrabiliares; C) Trematódeos recuperados do fígado; D) Abertura longitudinal da vesícula biliar, exame macroscópico da bile e recuperação de trematódeos.



Fonte: Própria.

4.7. Classificação microscópica das lesões

As lesões microscópicas de fígado e vesícula biliar foram avaliadas por questionário (Apêndice B) formulado com base em Cullen (2009), Sripa et al. (2003) e Warren et al. (2010). A classificação das colangites em neutrofílica, linfocítica, destrutiva e crônica associada a trematódeo foi proposta em um consenso de padronização pela *World Small Animals Veterinary Association (WSAVA) Liver Standardization Group* (CULLEN, 2009). A graduação da inflamação, fibrose e proliferação ductular no parênquima hepático de gatos foi proposta por Warren et al. (2010), estando representada na Tabela 3.

Tabela 3 – Critérios de graduação das alterações histológicas colângio-hepáticas em gatos domésticos

Grau de inflamação	Grau 0	Sem inflamação, definido por < 5 células inflamatórias por área portal, com a maioria das áreas portais não afetadas.
	Grau 1	Inflamação leve, definida por poucas células inflamatórias (> 5 e < 20) dentro da adventícia da área portal, com envolvimento parcial das áreas portais.
	Grau 2	Inflamação moderada, definida por um número intermediário de células inflamatórias (> 20 e < 75) dentro da adventícia da área portal, com a maioria das áreas portais afetadas.
	Grau 3	Inflamação grave, definida por grandes números de células inflamatórias (> 75) dentro da adventícia da área portal e envolvimento difuso das áreas portais.
Grau de fibrose	Grau 1	Sem fibrose.
	Grau 2	Fibrose leve, definida como presença de pequenas quantidades de tecido conectivo (fibras colágenas e reticulínicas) em distribuição aleatória dentro e ao redor das áreas portais, mas sem septos.
	Grau 3	Fibrose moderada, definida como quantidades difusas de tecido conectivo dentro da maioria das áreas portais, incluindo presença de septos fibrosos, mas sem formação de pontes.
	Grau 4	Fibrose grave, definida como grandes quantidades de tecido conectivo dentro das áreas portais e formação de pontes.
Grau de proliferação ductular	Grau 1	Nenhuma mudança na contagem de ductos em cortes transversais de áreas portais (1 a 2 ductos biliares por área portal).
	Grau 2	Proliferação ductular leve (2 a 3 ductos por área portal).
	Grau 3	Proliferação ductular moderada (4 a 6 ductos por área portal).
	Grau 4	Proliferação ductular grave (> 7 ductos por área portal).

Fonte: Adaptado de Warren et al. (2010)

A graduação das lesões microscópicas da vesícula biliar (inflamação, hiperplasia glandular/mucosa, atrofia mucosa, fibrose, presença de seios de Rokitansky-Aschoff¹, metaplasia de células de Goblet, displasia epitelial e presença de células carcinomatosas) foi baseada em Sripa et al. (2003), em avaliação de vesículas biliares humanas colecistectomizadas, representada na Tabela 4. A mesma graduação utilizada para vesícula biliar foi empregada na avaliação de lesões do ducto colédoco intra-hepático.

Tabela 4 – Critérios de graduação das alterações histológicas em vesícula biliar de seres humanos.

Inflamação	0=mínimo, 1 = leve(crônica), 2 = moderada (crônica), 3 = crônica grave, com agregados linfoides, 4= inflamação aguda
Hiperplasia de glândulas mucosas	0 = ausente 1 = um grupo de glândulas mucosas, 2 = dois ou mais grupos, 3 = numerosos
Atrofia/Hiperplasia mucosa	0 = atrofia, 1 = normal, 2 = hiperplasia leve, 3 = hiperplasia moderada à grave
Metaplasia de células de Goblet	0 = ausente, 1 = única ou discreta, 2 = dois ou mais grupos, 3 = difusa
Seios de Rokitansky-Aschoff	0 = ausente, 1 = um seio, 2 = dois ou mais seios, 3 = numerosos
Fibrose	0 = ausente, 1 = leve,, 2 = moderada, 3 = grave com hipertrofia de musculatura lisa
Displasia epitelial	0 = ausente, 1 = foco pequeno, 2 = dois ou mais focos, 3 = difusa
Carcinoma	1 = primário, 2 = metastático

Fonte: Adaptado de Sripa et al. (2003)

¹ Seios de Rokitansky-Aschoff: agrupamentos semelhantes a ácinos mucosos, de morfologia irregular, localizados na camada fibromuscular profunda, ocorrendo frequentemente em vesículas com parede espessada por inflamação crônica. (STEVENS, A.; LOWE, J.S.; YOUNG, B. Wheater's Basic Histopathology, 4th Edition. London: Churchill Livingstone, 2002, p.163).

4.8. Montagem e identificação dos trematódeos

Os trematódeos foram mortos em água morna, fixados em solução de Álcool-Formol-Ácido Acético (AFA), prensados entre lâminas por 24 horas, e conservados em álcool 70% glicerinado. Posteriormente, uma amostra de 5% dos trematódeos foi corada em Fucsina de Ziehl e montada em lâmina permanente, segundo Hoffmann (1987). A identificação foi realizada segundo Rodrigues (1963) e Pinto et al. (2014).

4.9. Análise estatística

Foi realizada análise estatística descritiva e inferencial. A prevalência da infecção por *P. fastosum* foi calculada na amostra estudada. Os animais amostrados foram divididos em dois grupos, os infectados por *P. fastosum* e os não infectados. Os dados de prevalência foram submetidos ao Teste do Qui Quadrado de Pearson ou Teste exato de Fisher, buscando a probabilidade de associação entre prevalência e sexo, faixa etária, escore corporal e desenvolvimento de lesões colângio-hepáticas. Foi elaborada tabela de contingência para o cálculo da razão de prevalência (RP, também denominada risco relativo) e *odds ratio* (OR), a partir dos infectados e não infectados por *P. fastosum* e portadores ou não de doença colângio-hepática. O grau de correlação entre carga parasitária e variáveis morfométricas (peso e volume) de fígado e vesícula foi calculada através do Teste de Correlação de Spearman. A medida de associação entre intensidade da carga parasitária e graus das lesões foi calculada através de Teste U de Mann-Whitney. As análises estatísticas foram realizadas pelo *software* de licença aberta **R v3.2.2** (Vienna, Áustria).

5. RESULTADOS

5.1. Caracterização da amostra

Foram incluídos neste estudo 141 animais, de ambos os sexos, de diferentes faixas etárias, todos sem raça definida, distribuídos conforme a Tabela 5. Estima-se que 75% da amostra foi composta por gatos não domiciliados, provenientes de colônias em espaços públicos (praça, hospital) e privados (indústria), os quais eram capturados sob solicitação do público. Os demais eram gatos semi-domiciliados, sendo a maioria fêmeas prenhas, ou puérperas com filhotes, e machos jovens, que eram abandonadas dentro do terreno do CCZ de Maracanaú durante as noites ou fins de semana.

Tabela 5 – Descrição da amostra de gatos do levantamento epidêmico-patológico de *P. fastosum* no município de Maracanaú, Ceará, no período do estudo: distribuição por sexo e faixa etária.

Sexo	n	%
Machos	50	35,4%
Fêmeas	91	64,5%
Faixa etária	n	%
Jovem	56	39,7%
Adulto	68	48,2%
Meia idade	17	12,0%
Total	141	100,00%

Fonte: Própria.

Conforme exame clínico preliminar (Tabela 6), 64,5% (91/141) dos gatos apresentaram baixo escore corporal; 44,9% (63/141) apresentaram alterações de coloração de mucosas oral/ocular/palatina, e 28,4% (40/141) demonstraram sinais clínicos de enfermidades diversas (Gráfico 2). Em 13,5% (19/141) foi detectada hepatomegalia à palpação abdominal.

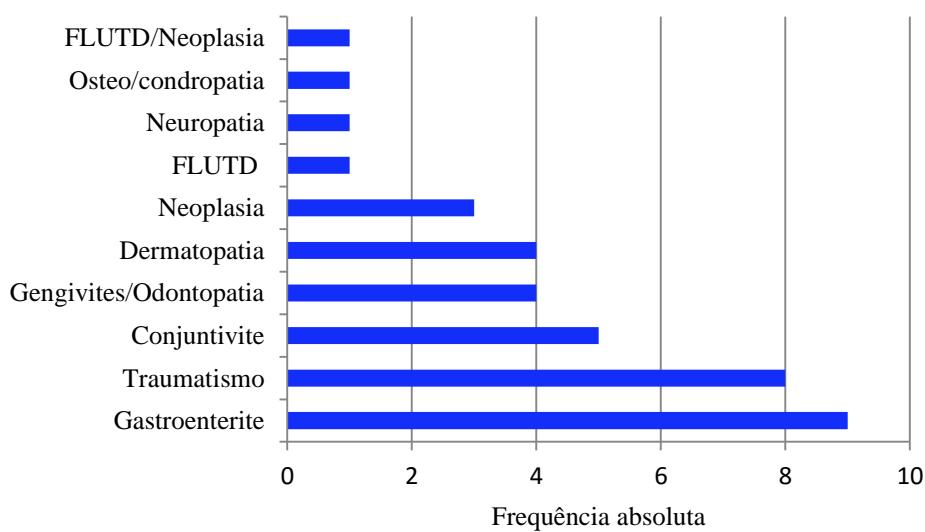
Tabela 6 – Descrição dos achados de exame clínico em gatos de Maracanaú, Ceará, no período do estudo.

Escore corporal	n	%
Caquético	21	14,9%
Magro	70	49,6%
Normal	49	34,7%
Sobrepeso	1	0,7%
Coloração de mucosas	n	%
Normal	73	51,8%
Pálida	45	31,9%
Ictérica	10	7,1%
Congesta	6	4,3%
Hiperêmica	2	1,4%
na	1	3,5%
Semiologia do Fígado	n	%
Normal	121	85,8%
Hepatomegalia	19	13,4%
na	1	0,7%
Total	141	100,0%

*na: não avaliados.

Fonte: Própria.

Gráfico 2 – Frequência de patologias detectadas ao exame clínico em gatos de Maracanaú, Ceará, no período do estudo.

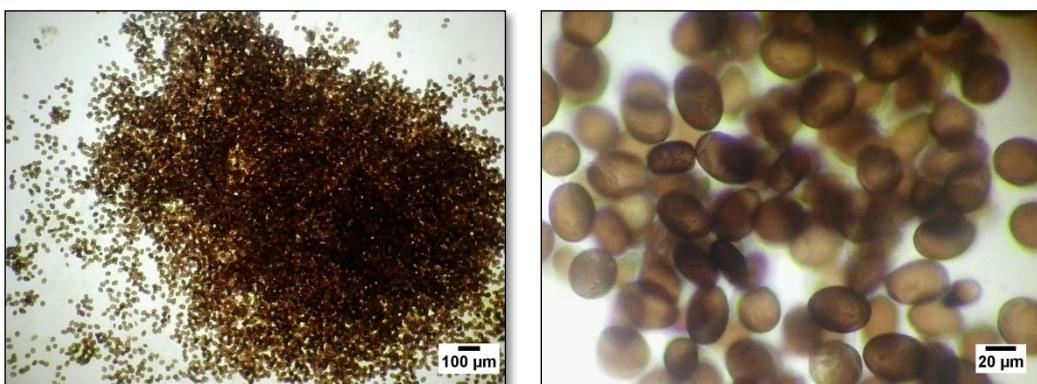


*FLUTD: Doença obstrutiva do trato urinário inferior de felinos (*Feline lower urinary tract disease*). Fonte: Própria.

5.2. Detecção e identificação do helminto

Por meio da pesquisa de ovos na bile, foram detectados 60/141 animais positivos para ovos dourados e operculados de trematódeos, medindo cerca de 40 x 24 μm (Figura 9).

Figura 9 – Fotomicrografia de ovos de *P. fastosum* na pesquisa da bile de gatos em Maracanaú, Ceará, no período do estudo. A) 40x. B) 400x.

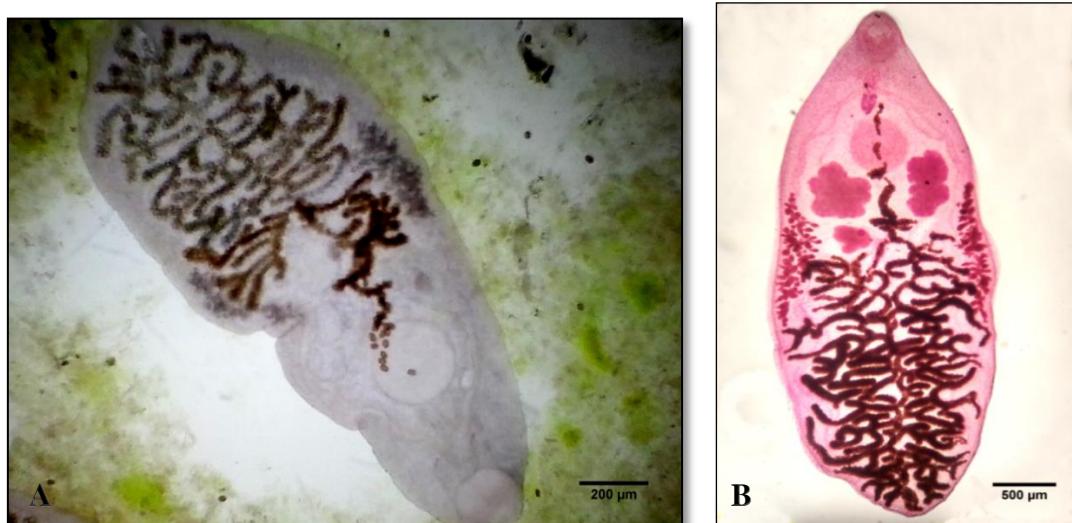


Fonte: Própria.

Por meio de necropsia e técnica de recuperação de parasitas das vias intra-hepáticas e vesícula biliar, foram recuperadas numerosas estruturas foliáceas esbranquiçadas, identificadas microscopicamente como trematódeos da espécie *P. fastosum* (Família Dicrocoeliidae) (Figura 10A-B). Segundo os caracteres morfológicos relatados por Rodrigues (1963): corpo chato e ovoide, attenuado nas extremidades, medindo de 2,9-8,1 por 1,4-2,4 μm ; ventosa oral subterminal arredondada e ventosa ventral pré-equatorial, ambas de tamanho semelhante; cecos finos ocupando os dois terços iniciais do corpo; testículos levemente lobados pós-acetabulares e ovário arredondado localizado abaixo de um dos testículos; glândulas vitelínicas laterais, extracecais, no terço médio do corpo; útero intracecal, com alças transversais, desde a região pós-acetabular até a extremidade posterior do corpo.

Em um animal jovem (4 – 6 meses de idade), caquético, com sinais de complexo respiratório felino, não foram encontrados ovos na pesquisa da bile, mas foi observada uma metacercária livre (Figura 10C).

Figura 10– Fotomicrografia de trematódeo dicrocelídeo *P. fastosum* (Kossack, 1910), coletado das vias biliares intra-hepáticas de gatos em Maracanaú, Ceará, no período do estudo. A) Trematódeo fresco na bile (40x); B) Trematódeo processado, coloração: Fucsina de Ziehl (40x); C) Metacercária livre fresca na bile (40x).



Fonte: Própria.



5.3. Prevalência e análise de risco

Na amostra estudada foi encontrada uma prevalência de 42,5% (60/141, IC95% = 34,2-50,9). Foram calculados a razão de prevalência (RP = 3,23) e o *odds ratio* (OR=8,85). A RP calculada sugeriu que indivíduos infectados da amostra estudada tiveram pelo menos três vezes mais chance de desenvolver lesões colângio-hepáticas do que aqueles não infectados (Tabela 7). O OR refere-se a uma probabilidade em nível populacional oito vezes maior de os indivíduos infectados desenvolverem doença.

Tabela 7– Análise de risco em gatos infectados por *P. fastosum* em Maracanaú, Ceará, no período do estudo.

Lesões colângio-hepáticas					
Pesquisa de ovos	SIM	NÃO	RP	IC95%	p-valor
Infectados	43(71,6%)	17(28,3%)	3,23	2,01-5,07	<0,00001*
Não infectados	18(22,2%)	63(77,7%)			
Total Geral	61(100%)	80(100%)			

* p=0,0000001291. Fonte: Própria.

Avaliando a distribuição da prevalência na amostra, não foi observada diferença significativa entre sexos ($\chi^2 = 0,07$; $p = 0,78$). Entretanto, observou-se associação da prevalência com a faixa etária adulta ($\chi^2 = 18,99$; $p = 0,000007^*$) (Tabela 8) e com os escores normais ($\chi^2 = 4,40$; $p = 0,03$).

Tabela 8 – Distribuição da prevalência de *P. fastosum* entre gatos de Maracanaú, Ceará, no período do estudo, por sexo e faixa etária.

Sexo					
<i>P. fastosum</i>	Fêmeas	Machos	RP	IC95%	p-valor
Infectados	40(43,9%)	20(40%)	1,09	0,71-1,65	0,78
Não infectados	51(56,1%)	30(60%)			
Total Geral	91(100%)	50(100%)			
Faixa etária					
<i>P. fastosum</i>	Jovens	Adultos+	RP	IC95%	p-valor
Infectado	12(21,4%)	48(56,5%)	0,37	0,21-0,63	0,00007*
Não infectado	44(78,6%)	37(43,5%)			
Total Geral	56(100%)	85(100%)			

*Significância estatística ao Teste do Qui Quadrado.

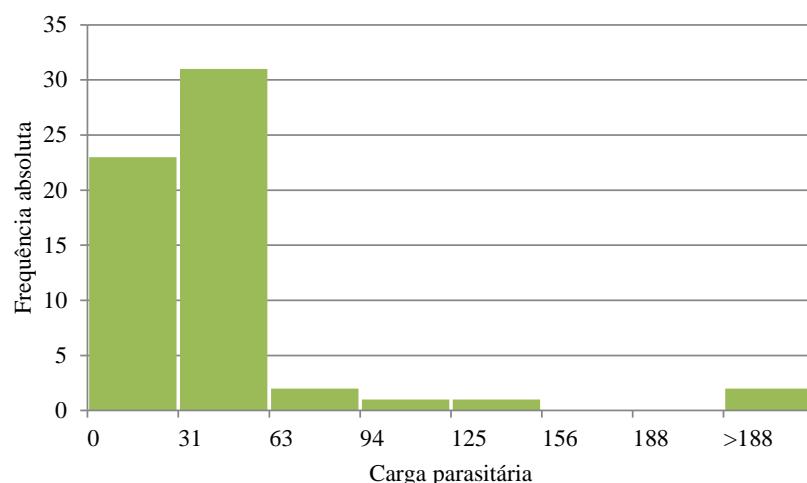
Fonte: Própria.

Sobre sinais específicos de hepatopatia, 7,1% (10/141) apresentaram mucosas (oral/ocular/palatina) levemente ictéricas e 13,5% (19/141) hepatomegalia ao exame clínico. Não foi observada associação significativa desses sinais clínicos presuntivos com a prevalência por *P. fastosum* ($\chi^2=1,62$; $p=0,20$). Não foi observada associação entre a carga parasitária e o peso relativo dos fígados de infectados por *P. fastosum* ($\rho=-0,11$, $p=0,39$).

5.4. Caracterização da carga parasitária

Houve recuperação de carga parasitária de fígado e vesícula biliar em 61,7% (37/60) dos animais infectados (positivos à pesquisa de ovos na bile). A carga mediana foi de sete trematódeos (1 – 219) por indivíduo infectado. As densidades médias foram de 17,6 trematódeos/fígado e 6,6 trematódeos/vesícula. Em relação ao sítio de recuperação, uma média geral de 82,1% da carga total foi recuperada das vias intra-hepáticas. Diferente dos demais, o indivíduo que apresentou a maior carga (219) tinha 83,1% (182/219) de todos os trematódeos sitiados na vesícula biliar, cerca de 10,0% (22/219) no ducto cístico e apenas 6,8% (15/219) nas vias intra-hepáticas. Não foi observada diferença significativa da carga parasitária em relação ao sexo ($W = 2493$, $p = 0,10$). A distribuição da carga parasitária na amostra está representada no Gráfico 3.

Gráfico 3 – Distribuição de carga parasitária de *P. fastosum* em gatos de Maracanaú, Ceará, no período do estudo.



Fonte: Própria.

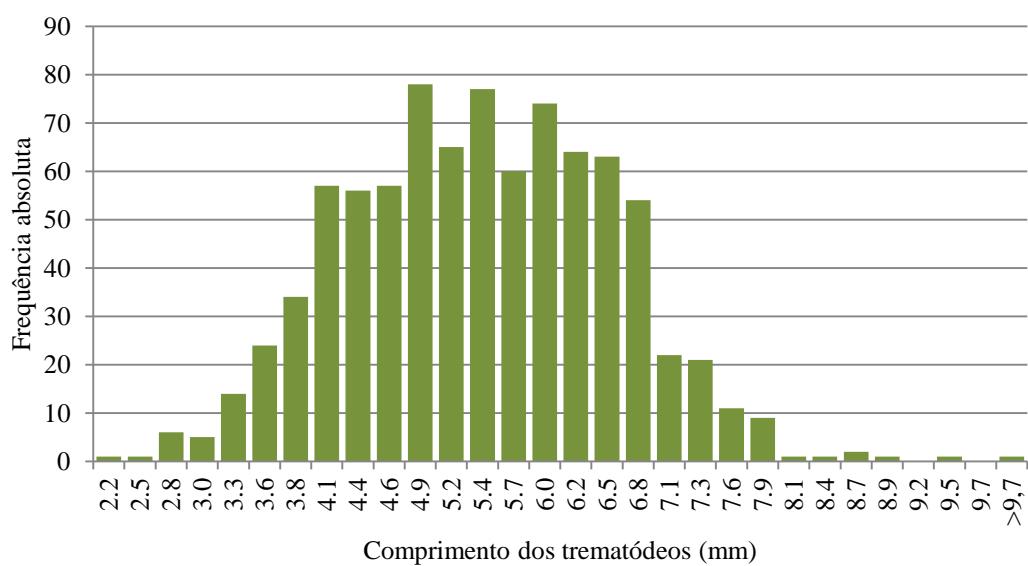
Em relação à morfometria dos trematódeos recuperados, a média global foi de 5,3 (2,2 – 10,0) x 1,7 (0,5 – 3,0) mm. Segundo a análise descritiva, 50% dos trematódeos tiveram comprimento entre 4,4 – 6,2 mm. Todos os trematódeos recuperados eram adultos, com as gônadas totalmente desenvolvidas e presença de ovos no útero. A morfometria está representada na Figura 11 e a frequência dos tamanhos no Gráfico 4.

Figura 11 – Variedades morfométricas de *P. fastosum* coletados de gatos em Maracanaú, Ceará, no período do estudo.



Fonte: Própria.

Gráfico 4 – Frequência de comprimentos médios de *P. fastosum* provenientes de cargas parasitárias recuperadas de gatos de Maracanaú, Ceará, no período do estudo.



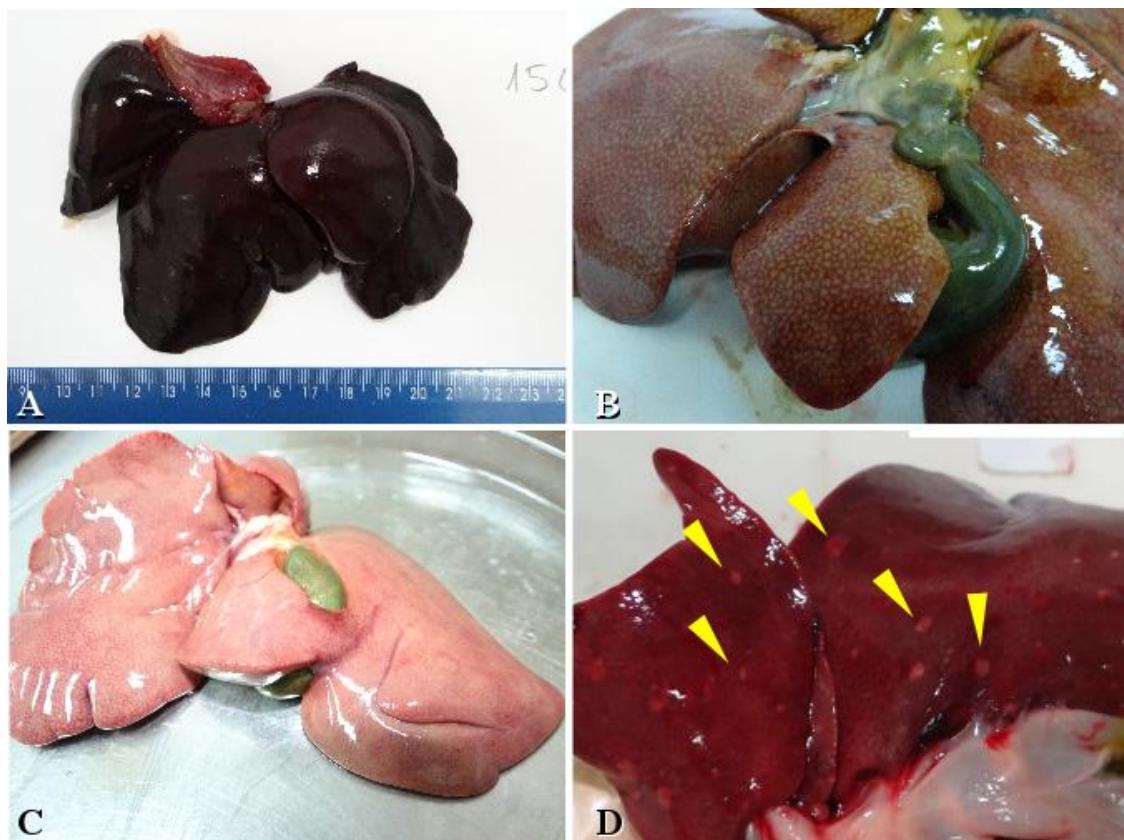
Fonte: Própria.

5.5. Anatomopatologia

5.5.1. Fígado

Nos gatos infectados, as alterações macroscópicas mais frequentes foram: congestão intensa, com subsequente aumento de tamanho do órgão, em 26,7% (16/60, Figura 12A); evidenciamento do padrão lobular hepático, com área central amarelada e periferia congesta em 21,7% (13/60, Figura 12B); e distribuída em focos em 13,3% (8/60, Figura 12C). Apenas um gato infectado, com carga parasitária de 219, apresentou alterações macroscópicas do fígado mais expressivas (Figura 12D), a saber: hepatomegalia; consistência firme com presença de lesões multifocais esbranquiçadas ou amareladas, aparentes na superfície externa e na de corte, e ductos biliares dilatados, com paredes espessadas. Comparando animais com escore corporal normal, houve considerável diferença entre o peso médio dos fígados de infectados ($100,7 \pm 35,6\text{g}$) e não infectados ($87,5 \pm 4,4\text{g}$), embora não tenha sido observada significância estatística ($W = 34$, $p = 0,54$).

Figura 12 – Aspectos macroscópicos de fígados de gatos do município de Maracanaú, Ceará. A) Congestão; B) Evidenciamento do padrão lobular; C) Esteatose hepática (lipidose) difusa; D) Lesões multifocais esbranquiçadas, visíveis à superfície.



Fonte: Própria.

Foram realizadas 129/141 análises microscópicas de parênquima hepático, compreendendo 58 gatos infectados e 71 não infectados por *P. fastosum*. Nos gatos infectados, as alterações microscópicas mais observadas foram 74,1% (43/58) de congestão centrolobular; 70,7% (41/58) de colangite; 67,2% (39/58) de colestase leve, e 50% (29/58) de esteatose (predominantemente microvesicular, 22/58). As colangites foram predominantemente crônicas, com infiltrado de macrófagos, linfócitos e plasmócitos (37/58), a maioria de grau leve (29/58). Colangite neutrofílica foi observada em 6,9% (4/58) dos animais infectados, e 75% (3/4) delas estavam associadas à carga parasitária extrema (184-219) e de grau grave. A distribuição das lesões no parênquima hepático e a classificação das colangites diagnosticadas estão representadas nas Tabelas 9 e 10.

Tabela 9 – Classificação dos diagnósticos histopatológicos em gatos infectados e não infectados por *P. fastosum* no município de Maracanaú, Ceará, no período do estudo.

		<i>P. fastosum</i>			
Diagnóstico/		Infectados		Não infectados	
Classificação		n	%	n	%
Colangite crônica		25	43,1%	7	9,8%
Normal		14	24,1%	37	52,1%
Colângio-hepatite crônica		5	8,6%	1	1,4%
Colangite neutrofílica		5	8,6%	0	0,0%
Colecistite crônica		2	3,4%	0	0,0%
Colangite destrutiva		1	1,7%	3	4,2%
Colangite linfocítica		0	0,0%	2	2,8%
Outras alterações*		6	10,3%	21	29,5%
TOTAL		58	100%	71	100%

* Outras alterações = ver Tabela 10. Fonte: Própria.

Em relação à presença de trematódeos nos cortes histológicos, foi observada uma frequência de 19,4% (25/129) de *P. fastosum* em lúmens de ductos biliares, com intensidade de 1 a 26 trematódeos por corte. Dentre os cortes com presença do helminto, 8,0% (2/25) foram negativos à pesquisa de ovos na bile e não tiveram carga parasitária recuperada, o que remete novamente ao registro da primo-infecção.

Tabela 10 – Frequência de alterações microscópicas em parênquima hepático de gatos infectados e não infectados por *P. fastosum* no município de Maracanaú, Ceará, no período do estudo.

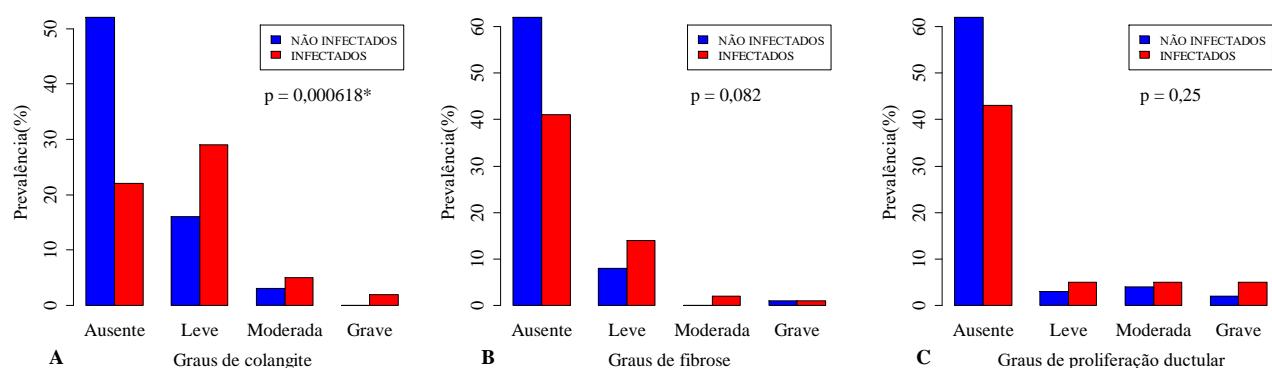
Alteração	<i>P. fastosum</i>				p-valor
	Infectados	%	Não Infectados	%	
Congestão	43	74,1	37	52,1	0,01724*
Colangite	41	70,7	22	31,0	0,000618*
Colestase	39	67,2	25	35,2	0,000576*
Esteatose (Lipidose)	29	50,0	34	47,9	0,9508
Degeneração hidrópica	18	31,0	27	38,0	0,7619
Fibrose	17	29,3	10	14,1	0,08299
Proliferação ductular	15	25,9	9	12,7	0,2544
Necrose	5	8,7	15	21,1	0,09524
TOTAL	58	100%	71	100%	

*Significância estatística ao teste do Qui Quadrado.

Fonte: Própria.

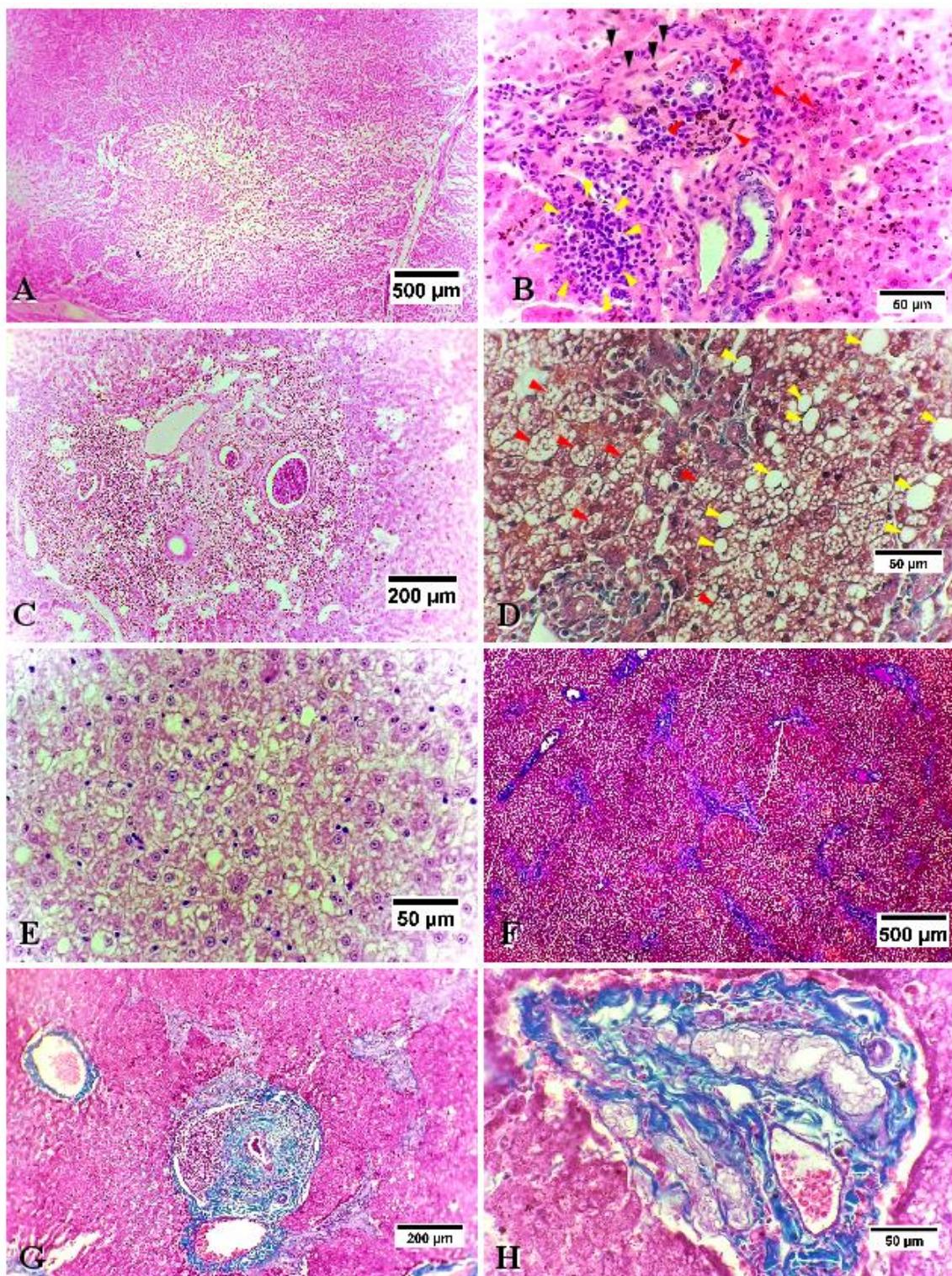
A análise estatística pelo Qui Quadrado mostrou associação significativa de congestão centrolobular, colangite e colestase com a infecção por *P. fastosum*. A fibrose e a proliferação ductular foram mais frequentes entre os infectados, porém sem alcançar significância estatística. Testou-se a hipótese de influência da carga parasitária na gravidade das lesões macro e microscópicas, esperando resultados compatíveis com a hipótese alternativa; no entanto, a análise estatística somente suportou tal influência na proliferação ductular ($W = 9303,5$, $p = 0,02677^*$). Os graus das lesões estão representados no Gráfico 5. Os achados microscópicos no parênquima hepático estão na Figura 13.

Gráfico 5 – Graus de lesões no parênquima hepático em gatos infectados e não infectados por *P. fastosum* no município de Maracanaú, Ceará, no período do estudo. A) Colangite ($p<0,0001$); B) Fibrose ($p>0,05$); C) Proliferação ductular ($p>0,05$).



* Significância estatística ao Teste do Qui Quadrado. Fonte: Própria.

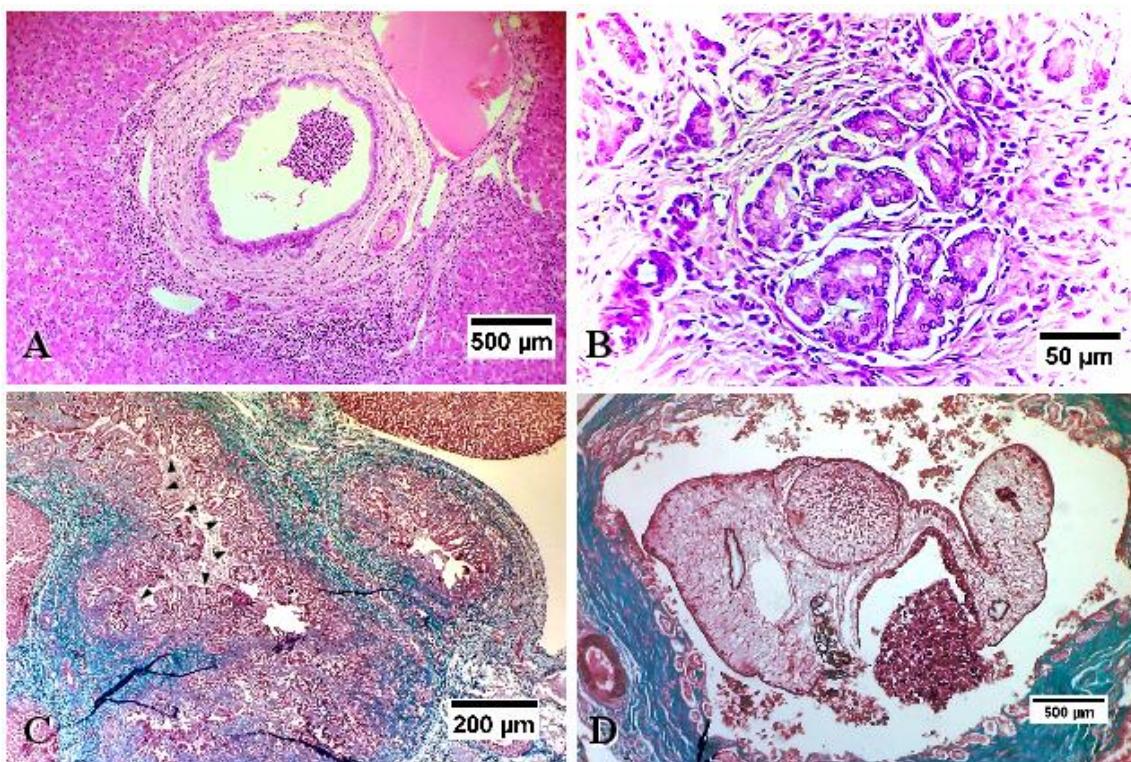
Figura 13 – Fotomicrografias de alterações em fígados de gatos infectados por *P. fastosum* em Maracanaú, Ceará, no período do estudo. A) Dilatação de sinusoides hepáticos secundária à congestão centrolobular (HE,40x); B) Colangite, com infiltrado mononuclear (setas amarelas), colestase (setas vermelhas) e necrose hepatocelular (setas pretas) (HE, 400x); C) Colangite, com infiltrado misto (HE, 100x); D) Esteatose hepática macro (setas amarelas) e microvesicular (setas vermelhas) (Tricrômico de Gomori, 400x); E) Degeneração hidrópica dos hepatócitos (HE, 400x); F) Fibrose em ponte (Tricrômico de Masson, 40x); G) Fibrose periportal com infiltrado mononuclear e estenose do lúmen (Tricrômico de Gomori, 100x); H) Proliferação ductular (Tricrômico de Gomori,400x).



Fonte: Própria.

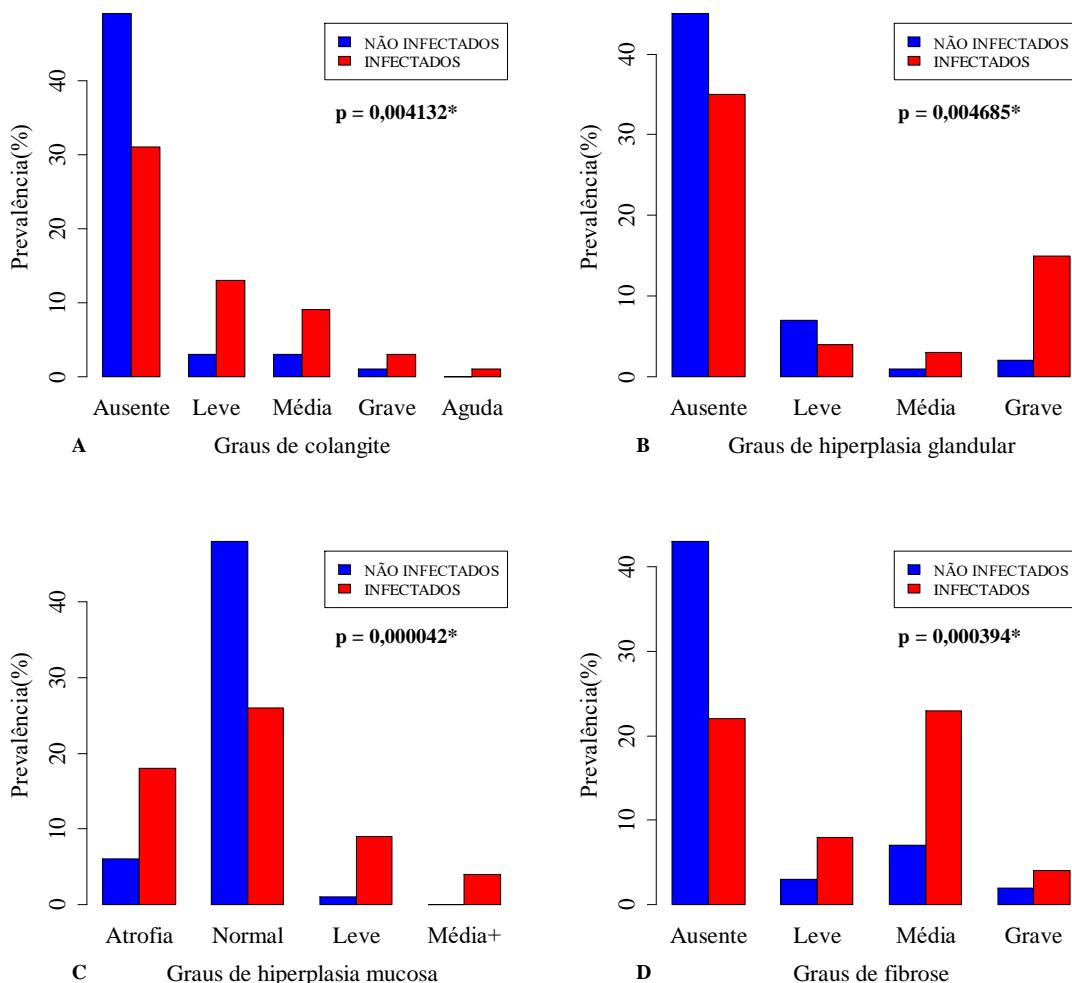
Analizando 113 cortes de coléodo intra-hepático, compreendendo 57 gatos infectados e 56 não infectados por *P. fastosum*, observou-se dentre os infectados 61,6% (35/57) com graus variados de fibrose (ver Gráfico 6); 45,6% (26/57) com graus diversos de inflamação na adventícia e parênquima adjacente; 38,7% (26/57) com hiperplasia glandular, e 22,8% (13/57) com hiperplasia mucosa. O teste do Qui Quadrado mostrou associação entre as principais lesões de coléodo e a infecção por *P. fastosum*. As alterações histológicas em coléodo estão representadas na Figura 14.

Figura 14 – Fotomicrografias de alterações no coléodo de gatos infectados por *P. fastosum* em Maracanaú, Ceará, no período do estudo. A) Colangite periductal com infiltrado misto, predominantemente polimorfonuclear, na adventícia e no lúmen(HE, 40x); B) Hiperplasia glandular (HE, 400x); C) Hiperplasia mucosa (setas pretas) e fibrose leve (Tricrômico de Gomori, 100x); D) Presença de trematódeo, dilatação do ducto e fibrose moderada (Tricrômico de Gomori, 40x).



Fonte: Própria.

Gráfico 6 – Graus de lesões microscópicas nos colédocos intra-hepáticos de gatos infectados e não infectados por *P. fastosum* no município de Maracanaú, Ceará, no período do estudo. A) Inflamação (colangite) ($p<0,01$); B) Hiperplasia glandular ($p<0,01$); C) Hiperplasia mucosa ($p<0,0001$); D) Fibrose ($p<0,01$).



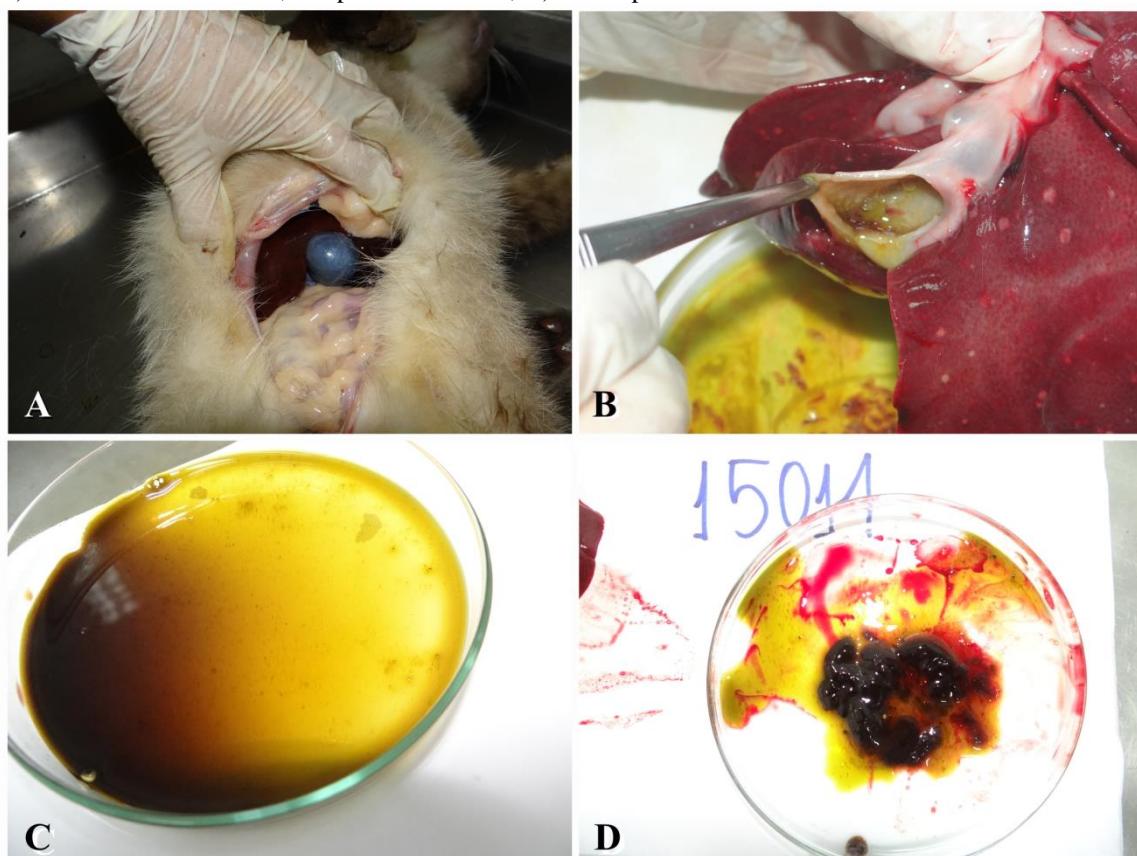
* Significância estatística ao Teste do Qui Quadrado. Fonte: Própria.

5.5.2. Vesícula biliar

Dentre as vesículas biliares examinadas, poucas foram as alterações externas dignas de nota. Dentre os infectados, 63,3% das vesículas estava preenchida por bile (24/60 repletas, 14/60 dilatadas) e 5% (3/60) mostraram espessamento visual da parede. Sobre a aparência da bile nos gatos infectados, houve variações na cor (37/60 amarela translúcida, 19/60 verde escura) e na consistência (29/60 fluida, 31/60 espessada), sem, no entanto, haver associação desses aspectos com a presença do trematódeo. O volume médio estimado das vesículas biliares nos gatos adultos

infetados foi de $2213 \pm 1474 \text{ mm}^3$, não tendo sido observada diferença estatística entre as medianas dos volumes das vesículas de infectados e não infectados ($W = 1731$; $p = 0,12$). Não foi observada correlação entre volume das vesículas com carga parasitária nos infectados ($S=17890$; $\rho=0,02$; $p=0,84$). As alterações de vesícula biliar estão representadas na Figura 15.

Figura 15– Aspectos macroscópicos em vesícula biliar de gatos infectados por *P. fastosum* em Maracanaú, Ceará. A) Vesícula dilatada; B) Vesícula com parede espessada, serosa e mucosa pálidas; C) Bile fluida e amarelhada, de aparência normal; D) Bile espessada.



Fonte: Própria.

Comparadas às lesões no colédoco intra-hepático, as lesões na vesícula biliar se mostraram mais brandas (Tabela 11). Em 126 cortes de vesícula analisados, compreendendo 58 infectados e 71 não infectados por *P. fastosum*, foram detectadas as seguintes lesões (Figura 16): dentre os infectados, 18,9% (11/58) apresentaram graus variados de inflamação (colecitite), predominando infiltrado mononuclear leve; 12,1% (7/58) mostraram hiperplasia glandular; 20,7% (12/58) revelaram hiperplasia e 3,4% (2/58) atrofia da mucosa; 5,2% (3/58) demonstraram seios de Rokitansky-

Aschoff, e 37,9% (22/58) apresentaram graus moderados de fibrose. Devido à grande frequência de destacamento do epitélio luminal, não foi possível avaliar adequadamente a presença de metaplasias, displasias e neoplasias.

Tabela 11 – Comparação entre prevalência de lesões microscópicas em coléodo intra-hepático e vesícula biliar de gatos infectados e não infectados por *P. fastosum* do município de Maracanaú, Ceará.

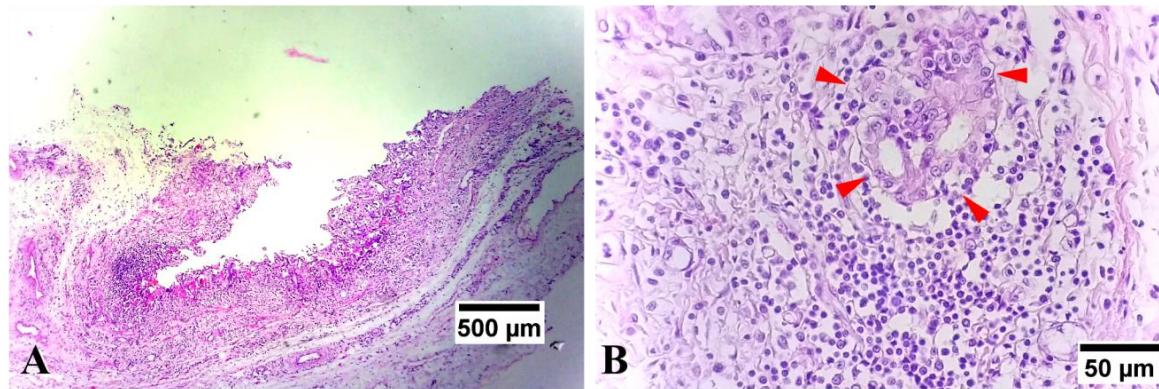
Alterações	Sítio anatômico					
	Infectados	Não infectados	p-valor	Infectados	Não infectados	p-valor
Fibrose	35	12	0,000394*	22	5	0,000119*
Inflamação	26	7	0,004132*	11	0	0,00012**
Hiperplasia glandular	22	10	0,004685*	7	0	0,00351**
Hiperplasia mucosa	13	1	0,00006**	12	8	0,2982
Atrofia mucosa	18	6	0,001494*	2	1	0,5838
Seios de Rokitansky-Aschoff	-	-	-	3	2	0,0995
Total análises	57	56		58	71	

*Significância estatística ao teste do Qui quadrado

**Significância estatística ao teste exato de Fisher

Fonte: Própria.

Figura 16 – Alterações microscópicas em vesícula biliar de gato infectado por *P. fastosum* em Maracanaú, Ceará. A) Colecistite crônica, inflamação mista com espessamento da parede (HE, 40x); B) Infiltrado inflamatório mononuclear e hiperplasia glandular na lâmina própria (setas vermelhas, HE, 40x).



Fonte: Própria.

Considerando a espessura da parede da vesícula, foi testada a hipótese de influência do parasitismo na fibrose. Não foi observada diferença estatística na espessura total entre infectados e não infectados ($W = 229$, $p = 0,11$), nem na espessura da adventícia ($W = 307$, $p = 0,95$); entretanto, foi observada diferença significativa na espessura da camada fibromuscular ($W = 207$, $p = 0,04^*$). Testes auxiliares entre as espessuras de parede da vesícula em jovens e adultos saudáveis foram realizados a fim de descartar as diferenças ontogenéticas ($W = 57$, $p = 0,60$). Não foi constatada influência significativa da carga entre infectados e não infectados por *P. fastosum* nas demais lesões analisadas.

6. DISCUSSÃO

Considerando os estudos epidemiológicos – transversais e prospectivos sobre *P. fastosum* em gatos – publicados no Brasil em quase oito décadas, o presente obteve maior tamanho amostral, com amostra probabilística, comparado aos demais (ver Tabela 1, na Introdução). Gennari et al. (1999) trabalharam com uma amostra de 187 e Ramos et al. (2013) com 146 animais, porém em levantamentos de helmintofauna geral. O maior estudo sobre *P. fastosum* até então foi o de Ferreira et al. (1999), com 110 animais no Rio de Janeiro.

A distribuição de sexo e faixa etária nos trabalhos publicados nem sempre foi avaliada ou mencionada. A maior frequência de fêmeas e adultos foi compatível com amostras de levantamentos gerais recentes (ISHIZAKI et al., 2006; MENDES DE ALMEIDA et al., 2007; RAMOS et al., 2013). Rodriguez-Vivas et al. (2004) encontraram uma proporção de fêmeas para machos semelhante à presente amostra, e prevalência superior nas fêmeas. Esses autores justificaram a maior prevalência em fêmeas devido ao comportamento de caçar para alimentar a prole. O método de avaliação da faixa etária por cronologia dentária pareceu mais preciso do que aquele utilizado por Ramos et al. (2013), que dividiu jovens e adultos pelo ponto de corte de 1,4kg de peso corporal. No presente estudo, foram observados gatos abaixo de 1,4kg com dentição permanente quase completa, e poucos com mais de 1,4kg e presença de dentes decíduos. O método do peso mostra uma baixa sensibilidade para classificação etária de gatos com baixo escore corporal.

No presente estudo, o exame clínico preliminar mostrou alta proporção de desnutrição e comorbidades infecto-contagiosas. Quase a metade dos indivíduos amostrados mostrou sinais de doenças infecto-parasitárias (gastroenterites, conjuntivites, gengivites), seguidas por traumatismos músculo-esqueléticos. Não foi observada associação entre prevalência e sinais clínicos específicos, nem diferença estatística entre os escores corporais dos infectados e não infectados. Comparados aos casos clínicos publicados, os sinais clínicos específicos mostraram-se vagos e somente detectados em caso de doença crônica grave, com alta carga parasitária e obstrução de ductos biliares com intensa colestase. Na experiência de Foley (1994), em casos sintomáticos foi comum a ocorrência de vômito e diarreia mucoide, observando-se

anemia, ascite, icterícia e fezes claras, secundárias a obstruções biliares por grande quantidade de trematódeos.

Dentre as publicações selecionadas na revisão de literatura, nenhum dos levantamentos reportou o estado clínico dos animais amostrados, exceto pelos relatos de casos. Rodriguez-Vivas et al. (2004) estudaram a infecção por *P. fastosum* em gatos no México, tendo registrado 10% de baixos escores corporais naquela amostra (10/100), sendo que metade dos animais com baixo escore se revelou infectada. Embora a análise de regressão logística não tenha apontado associação entre o baixo peso e a infecção, a amostra pode não ter tido tamanho suficiente alcançar significância estatística.

Os trematódeos coletados foram identificados como *P. fastosum* segundo as descrições de Rodrigues (1963) e Pinto et al. (2014). Rodrigues (1963) concluiu em suas observações que quatro espécies do gênero (*P.semifuscum*, *P. fastosum*, *P.illiciens*, *P. proxilliciens*) poderiam ser consideradas as mesmas até que estudos posteriores pudessem superar a diferenciação morfológica. Esse autor relatou apenas diferenças morfométricas que terminaram incluindo uma amplitude de comprimentos e larguras ao que hoje se conhece como *P. fastosum* (sin. *P.illiciens*). Os dados morfométricos deste trabalho poderiam levantar questionamentos quanto à identificação da espécie, pois extrapolaram as especificações tabeladas de *P. fastosum* em Rodrigues (1963). Já as morfometrias obtidas na infecção experimental de Pinto et al. (2014) não atingiram os extremos de tamanho dos trabalhos mais antigos, o que pode ser explicado hipoteticamente pela diferença espacial no tamanho do fígado entre hospedeiros originais e experimentais.

A prevalência de 42,5% por *P. fastosum* observada no presente trabalho foi a maior dentre os inquéritos epidêmico-patológicos nacionais dos últimos 50 anos (TORRES; PINTO, 1936; OGASSAWARA et al., 1986; FERREIRA et al., 1999; SILVA et al., 2001; MUNDIM et al., 2004; ISHIZAKI et al., 2006; RAMOS et al., 2013, ver Tabela 1). Ferreira et al. (1999) citaram que, na década de 1960, um inquérito em gatos do Rio de Janeiro, revelou prevalência de 45% por *P. fastosum*. Os dados de prevalência e tamanho amostral do presente trabalho foram semelhantes aos de Rodriguez-Vivas et al. (2004) no México. Não obstante, é possível que as prevalências dos trabalhos anteriores pudessem ter valores mais elevados se utilizassem o método de pesquisa de ovos na bile, o qual se mostrou quase duas vezes

mais sensível do que a coleta de trematódeos por necrópsia. A citologia biliar é empregada como diagnóstico clínico em casos de hepatopatias sintomáticas, com suspeita de obstrução dos ductos biliares principais, realizada por meio de laparotomia exploratória (RUTGERS, 2014) ou por biópsia de agulha fina guiada por ultrassom (SAVARY-BATAILLE et al., 2003). No presente trabalho, foi possível comparar a pesquisa de ovos na bile com a coleta de trematódeos por necrópsia, e constatar uma sensibilidade diagnóstica 1,6 vezes maior da pesquisa na bile.

Exames coproparasitológicos são utilizados nos inquéritos publicados no Brasil, mostrando prevalências que variam entre 1-2% (Gennari et al., 1999; Ragozo et al., 2002). No Mato Grosso do Sul, Franco et al. (2013) detectaram apenas 7,69% (2/26) positivos para *P. fastosum* pela técnica de sedimentação em formol-éter. Na Bahia, Rocha et al. (2014) encontraram 12,5% (5/40) positivos pela centrífugo-flutuação em solução de sacarose. A maior prevalência detectada por exame fecal foi em um inquérito parasitológico em gatos na América Central, no qual Krecek et al.(2010) encontraram prevalência de 91-93% de *P. fastosum* através de método de dupla flutuação e sedimentação fecal. Sithithaworn et al. (1991) não detectou ovos de *O. viverrini* em humanos, pela sedimentação em formol-éter, em baixas cargas parasitárias (<20 trematódeos), constatando baixa sensibilidade do método; mas, encontrou forte correlação inversa de OPG com altas cargas, sugerindo influência da densidade parasitária na restrição da eliminação de ovos. Os autores também concluíram que os exames fecais são menos sensíveis que a coleta manual de trematódeos. Foley (1994) sugere a utilização de óleo de milho, 2ml/kg por via oral, realizando o exame microscópico das fezes dos animais suspeitos de 2 a 24 horas após. Segundo o autor, o óleo de milho tem ação colagoga, aumentando a contração da vesícula e expulsando mais ovos em direção ao intestino, aumentando assim a sensibilidade do teste coproparasitológico.

A prevalência semelhante para machos e fêmeas e maior em adultos é concordante com Ramos et al. (2013). A associação da prevalência à idade era um fato esperado por si, por dois motivos: 1) porque o hábito do carnivorismo em gatos jovens começa a se manifestar entre a terceira e a oitava semanas de vida (LOVELACE, 2006); e 2) porque o período pré-patente médio para *P. fastosum* varia de 56 a 60 dias (MALDONADO, 1945; PINTO et al., 2015). Portanto, a detecção de ovos na bile só ocorreria entre 11 e 16 semanas de idade. Registros de primo-infecção não foram

encontrados anteriormente na literatura; portanto, o presente achado da metacercária na bile de um gato jovem, sem presença de ovos, pode ser caracterizado como primo-infecção de *P. fastosum*. Associação da prevalência com a procedência específica dos animais não foi possível no presente estudo, pois os dados nem sempre estavam disponíveis no CCZ.

A predominância de indivíduos assintomáticos dentre os infectados com *P. fastosum* está de acordo com a literatura. Em ampla revisão bibliográfica, Basu e Charles (2014) citaram que sinais clínicos severos dependem da intensidade de carga parasitária, conceito já definido no estudo de trematodíases humanas (MAIRIANG et al., 1992), e da resposta imune do indivíduo (BIELSA; GREINER, 1985). Em humanos infectados com até 100 espécimes de *C. sinensis*, há nenhuma ou poucas manifestações clínicas; com cargas moderadas, de até 1000 trematódeos, pode ocorrer febre, diarreia, perda de apetite, *rash* cutâneo, edema, cegueira noturna, ascite e hepatomegalia (KEISER; UTZINGER, 2009). Esses autores ainda citaram que em altíssimas cargas, de até 25.000 espécimes de *C. sinensis*, foram relatadas dores abdominais agudas e se seguiram as complicações crônicas como obstruções biliares, colangite, hepatite, colecistite, pancreatite e abscessos. Sobre *P. fastosum*, os relatos publicados sempre mostraram situações graves, com anorexia, vômito, dor abdominal, icterícia generalizada, alterações em bioquímica sérica e em exames de imagem, que em geral evoluíram para óbito a despeito de tratamento clínico e cirúrgico, mesmo em gatos jovens e com baixa carga parasitária (SAMPAIO et al., 2006; XAVIER et al., 2007; CARREIRA et al., 2008; DANIEL et al., 2012; ANDRADE et al., 2012; MONTSERIN et al., 2013; SOUSA FILHO et al., 2015; JESUS et al., 2015). Estudos sobre a imunopatologia de *O. viverrini* explicam que, pelo mesmo habitar os ductos biliares e raramente invadir o parênquima hepático, há mínima resposta imune celular e pouco contato com tecido linfoide, consequentemente pouca resposta imunológica inicial (WONGRATANACHEEWIN et al., 2003). Contudo, em infecções experimentais, foi possível observar os níveis de anticorpos subindo em um período de 8 a 14 dias. Wongratanacheewin et al.(2003) explicaram que deve haver liberação de抗ígenos solúveis pela cutícula do trematódeo, que são absorvidos pelo epitélio biliar, gerando resposta imune específica.

A razão de prevalência (risco relativo) não foi anteriormente calculada em outros estudos de *P. fastosum*. O *odds ratio* calculado neste trabalho foi de 8,8 –

semelhante ao encontrado por Rodriguez-Vivas et al., (2004) no México – mas o valor foi desprezado para efeito de análise, por ser mais indicado para inquéritos de morbidades de baixa prevalência e estudos de caso-controle, pois pode exacerbar a estimativa de risco em estudos transversais (SCHMIDT; KOHLMANN,2008). As análises de risco envolvendo trematódeos costumam associar sua infecção crônica ao desenvolvimento de neoplasias específicas. Na Ásia, o CCA, rara neoplasia do epitélio biliar, ocorre 5 vezes mais em humanos infectados por *O.viverrini*, sendo que em altas cargas parasitárias o risco aumenta para 15 vezes (HASWELL-ELKINS et al., 1994 apud FÜRST, 2012); e de 6 a 13 vezes mais em infectados por *Clonorchis sinensis* (CARDINALE et al., 2010). No Egito, estudo de caso-controle sugeriu risco 3 vezes maior de desenvolvimento de câncer de bexiga em humanos portadores crônicos de *Schistosoma haematobium* (BEDWANI et al., 1998). Em gatos, o CCA tem sido descrito e sugerida a associação a infecções crônicas por trematódeos biliares, como *C.sinensis* (HOU, 1964) e *P. fastosum* (SANTOS et al., 1981; ANDRADE et al., 2012).

A carga parasitária de *P. fastosum* recuperada foi considerada baixa à moderada (1-219), representando de 8 a 26% da carga máxima relatada na literatura nacional (FERREIRA et al., 1999; ISHIZAKI et al., 2006; RAMOS et al., 2013). Entretanto, foi superior aos achados de Torres e Pinto (1936), que encontraram carga máxima de 12 espécimes, e de Foley (1994), que estabeleceu ponto de corte de 125 espécimes, além do qual a carga seria considerada alta. Comparada aos estudos com *O.viverrini* em humanos, a carga também foi considerada baixa à moderada, conforme Sithithaworn et al. (1991), que registraram o máximo de 2.946 espécimes à necropsia de um indivíduo e, a partir de uma série de 181 casos, estabeleceu seis classes de carga parasitária (0, 1-50, 51-100, 101-200, 201-400, >400), correlacionadas diretamente com as faixas etárias do estudo. Nos relatos de casos clínicos de *P. fastosum*, publicados no Brasil e no exterior, raramente se faz contagem de carga parasitária. Recentemente, em um caso na Bahia (JESUS et al., 2015), foram recuperados 18 espécimes de *P. fastosum* para identificação. Segundo estudos de associação, seria possível estimar a carga parasitária do hospedeiro a partir de análise fecal quantitativa: uma contagem de 10.000 OPG equivaleria a uma carga média de 100 trematódeos da espécie *O.viverrini* em humanos (ELKINS et al., 1990; ELKINS et al., 1991). A baixa densidade de trematódeos na vesícula biliar também é um resultado esperado, segundo

Sithithaworn et al. (1991). No presente estudo porém, deve-se levar em consideração certa imprecisão na recuperação da carga parasitária, uma vez que os trematódeos podem evadir-se através do duodeno, e os intestinos não foram analisados.

O presente estudo esteve entre os poucos estudos transversais nacionais sobre *P. fastosum* que exploraram a patologia (TORRES; PINTO, 1936; FERREIRA et al., 1999).

As presentes alterações macroscópicas do fígado e vesícula foram consideradas leves, quando comparadas às publicações nacionais. As principais alterações macroscópicas relatadas em estudos de necrópsia compreenderam icterícia, hepatomegalia, dilatação de ductos biliares (ao corte) e distensão da vesícula (FERREIRA et al., 1999; SAMPAIO et al., 2006; CARREIRA et al., 2008; VIEIRA et al., 2009; HEADLEY et al., 2011; DANIEL et al., 2012; JESUS et al., 2015; SOUSA FILHO et al., 2015). Torres e Pinto (1936) não observaram alterações hepáticas superficiais dignas de nota, apenas ao corte foi evidenciada dilatação de ductos biliares. Em relatos de casos mais graves, achados menos frequentes foram registrados, como padrão lobular no fígado, exsudato catarral nos ductos, ascite, cistos hepáticos, espessamento da parede da vesícula, esteatonecrose do pâncreas (CARREIRA et al., 2008; VIEIRA et al., 2009; HEADLEY et al., 2011; DANIEL et al., 2012; JESUS et al., 2015). No presente trabalho, mesmo nos animais com lesões graves, não foi observada icterícia amplamente distribuída. O padrão lobular ou “fígado em noz-moscada” foi citado em 37% dos trabalhos consultados, estando em geral associado a processos congestivos (MACLAGHLAM; CULLEN, 1990); entretanto, o achado não foi levado em consideração neste trabalho, devido à possibilidade de as congestões hepáticas serem decorrentes do método de eutanásia. O espessamento da bile também foi citado na literatura nos casos de *P. fastosum*; contudo, no presente trabalho não foi encontrada diferença estatística do achado entre infectados e não infectados.

Na presente análise da hepatomegalia, observou-se que a faixa de peso absoluto dos fígados dos animais amostrados esteve abaixo do esperado (DYCE et al., 1987). Os pesos relativos mostraram micro-hepatia e hepatomegalia, mas não foi observada diferença estatística entre os pesos de fígados de infectados e não infectados. Como muitas comorbidades foram detectadas na presente amostra, uma

perspectiva seria aplicar uma análise estatística multivariada, a fim de tentar relacionar as diferenças de peso com algum dos fatores de morbidade observados.

As alterações histológicas do presente trabalho concordaram com os achados da literatura. Semelhante a Warren et al. (2010), amostras de múltiplos lobos hepáticos mostraram variabilidade na intensidade das lesões. No presente trabalho, as lesões próximas ao hilo sempre se mostraram mais severas que as periféricas, o que concorda com os processos de inflamação e fibrose mais graves no colédoco e ducto hepático hilares, onde ocorre maior concentração de trematódeos. Outros autores citaram que é incomum se observar o *P. fastosum* nos cortes histológicos de fígado (MACLAGHLAM; CULLEN, 1990; CULLEN, 2009). Entretanto, em relatos de necrópsia publicados, foi comum se observar o trematódeo no interior de ductos aos cortes histológicos (SANTOS et al., 1981; FERREIRA et al., 1999; CARREIRA et al., 2008; VIEIRA et al., 2009; HEADLEY et al., 2011; ANDRADE et al., 2012; JESUS et al., 2015), provavelmente pela intensidade da carga sitiada no trato biliar. Mesmo em cargas baixas, alguns autores já conseguiram registrá-los à histologia (TORRES; PINTO, 1936).

A esteatose hepática teve uma frequência de 50% na amostra do presente estudo. Segundo Norsworthy (2006), a síndrome da Lipidose Hepática Felina, caracterizada por esteatose hepática, é a hepatopatia primária de maior importância em gatos domésticos, decorrente principalmente de anorexia aguda subsequente a situações de estresse (mudança de território, separação do proprietário, introdução de animais estranhos na convivência). Armstrong e Blanchard (2009) ressaltaram que os períodos de anorexia causadores costumam ser longos (semanas), mas que mesmo períodos curtos como 2 a 7 dias são suficientes para iniciar a lipólise periférica. Os autores mostraram que a Lipidose Hepática Felina também pode ser secundária ao outras morbillidades. No presente trabalho, a estatística não sugeriu associação entre a infecção por *P. fastosum* e a esteatose hepática nos animais amostrados. A causa da esteatose hepática nesse estudo muito provavelmente se deveu à anorexia devido ao estresse da captura e manutenção dos animais em ambiente de cativeiro. A predominância de esteatose microvesicular (78%) se revelou um fato intrigante, uma vez que decorre de um processo mais grave, associado a defeitos mitocondriais, podendo estar relacionada toxicidade por fármacos, como por acetoaminofeno (CULLEN, 2009). Quanto à degeneração hidrópica, considerada por Hübscher (2006)

como traço marcante da esteato-hepatite em humanos, não mostrou associação com a presença de esteatose na amostra estudada.

Ferreira et al. (1999) citaram a congestão dos espaços portais e ocasionalmente dos sinusóides hepáticos. No presente trabalho, foram observadas congestões centrolobulares e dilatação de sinusóides hepáticos, que mostraram maior frequência, e teoricamente estatisticamente significante, em gatos infectados por *P. fastosum*. Antes de aceitar que o achado pudesse realmente ser efeito da infecção, examinou-se o método de eutanásia como um possível confundidor da análise estatística. Desta forma, concluiu-se que a significância do achado pode ter sido decorrência de erro tipo I (rejeitar H₀ quando a mesma é verdadeira).

Na maioria das publicações sobre *P. fastosum* consultadas, a principal alteração histológica citada foi a fibrose periductal (colédoco), seguida da inflamação mononuclear (colangite crônica). A gravidade da resposta inflamatória tem se mostrado menor em infecções crônicas do que em agudas, sugerindo imunomodulação (SRIPA; KAWEKES, 2000). A fibrose periportal, hiperplasia glandular, a dilatação de ductos e a inflamação polimorfonuclear foram citadas moderadamente, e com menos frequência foi relatada colestase, proliferação ductular, necrose de hepatócitos, espessamento de parede biliar, congestão portal, hemossiderose e massas neoplásicas (TORRES; PINTO, 1936; O'SULLIVAN et al., 1976; TAYLOR; PERRI, 1977; OGASSAWARA et al., 1980; SANTOS et al., 1981; ZAMRII-SAAD et al., 1984; FERREIRA et al., 1999; SAMPAIO et al., 2006; XAVIER et al., 2007; CARREIRA et al., 2008; FILGUEIRAS et al., 2008; VIEIRA et al., 2009; MIM et al., 2010; HEADLEY et al., 2011; DANIEL et al., 2012; ANDRADE et al., 2012; MONTSERIN et al., 2013; SOUSA FILHO et al., 2015; JESUS et al., 2015). O presente estudo teve como principais alterações histológicas a fibrose periductal (61,4%); a inflamação mononuclear periportal (45,6%); a hiperplasia glandular do colédoco (38,7%); a hiperplasia mucosa no colédoco (22,8%), e a fibrose na vesícula (37%). A fibrose periportal leve mostrou uma tendência à significância, o que sugere tempos de infecção relativamente curtos. As demais alterações foram menos frequentes (atrofia do epitélio ductal, fibrose hepática, proliferação ductular, infiltrado inflamatório na vesícula, dentre outras). A proliferação ductular mostrou associação com a carga parasitária, concluindo que foi observada uma intensidade parasitária capaz de causar obstrução biliar. Massas neoplásicas não foram detectadas no presente estudo e a

hemossiderose não foi investigada. Considerando a inflamação mononuclear, com predominância de macrófagos nos estádios iniciais, há necessidade de uma investigação imuno-histoquímica posterior para a caracterização dos subtipos de macrófagos envolvidos neste processo. Bility e Sripa (2014) observaram predominância de macrófagos M2 em infecções crônicas por *O.viverrini* na Tailândia. Os macrófagos M2 estão envolvidos na resposta Th2, com consequente fibrose e atividade proliferativa no microambiente tumoral em várias doenças, incluindo o CCA (BILITY; SRIPA, 2014).

Segundo informações reunidas por Clark et al. (2011), as colangites são as patologias hepatobiliares mais comuns em gatos domésticos, apresentando prognóstico bom na maioria dos casos, exceto em situações de comorbidades que contribuam para o aumento da mortalidade. Ainda conforme esses autores, alterações extra-hepáticas relatadas em gatos com colangite compreendem pancreatite e doença inflamatória do intestino grosso; a última, de patogênese obscura, tendo como hipótese o refluxo de bactérias entéricas pelos ductos biliares extra-hepáticos comuns. No presente trabalho, não foi realizada a análise microscópica extra-hepática; contudo, a análise macroscópica *in situ* do pâncreas não revelou alterações que sugerissem afecção do órgão.

De uma forma geral, comparando-se à infecção por *O. viverrini* em humanos, igualmente há ausência de lesões e sintomas em infecções recentes ou leves, e em altas cargas parasitárias os achados são extremamente semelhantes: afecção principalmente do fígado, com hepatomegalia; dilatação de ductos, hiperplasia glandular e fibrose periductal; e infiltrado inflamatório, principalmente mononuclear (SRIPA, 2003). Baseado em ampla revisão de literatura, esse autor também ressalta que não se acompanham as lesões extra-hepáticas com a mesma atenção. Apenas em infecções com grande intensidade de carga parasitária foi possível detectar alterações na vesícula biliar, como dilatação, espessamento nas paredes e na bile, e presença de trematódeos no colédoco extra-hepático e pâncreas (SRIPA et al., 2003). Tal observação corrobora os resultados do presente trabalho, os quais demonstraram alterações mínimas na vesícula biliar, exceto em um animal, o que tinha a carga parasitária máxima encontrada no estudo. Sobre outras alterações, Sripa et al. (2003) ainda compilam trabalhos que mostram que não foi encontrada relação entre colelitíase e a infecção parasitária. Os cálculos biliares são raros em todas as espécies domésticas,

ocorrendo apenas em casos de obstrução biliar e precipitação dos componentes solúveis da bile (MACLAGHLAM; CULLEN, 1990). Ocasionalmente, os ovos de *O. viverrini* que possam ter acesso ao parênquima hepático podem causar reação granulomatosa (SRIPA, 2003).

No tocante ao potencial tumorigênico dos trematódeos biliares, a Agência Internacional para Pesquisa do Câncer (IARC) incluiu os trematódeos biliares no Grupo 1 da lista de carcinógenos humanos (considerados agentes com vasta evidência de risco carcinogênico). Um grupo de pesquisadores da Tailândia, país de alta prevalência de trematódeos biliares e de maior incidência de CCA, vem pesquisando a patogenicidade de *O.viverrini* e *C.sinensis* por pelo menos 25 anos. Sripa et al.(2012) relataram que o CCA induzido *O.viverrini* é decorrente de “uma tempestade de estímulos carcinogênicos”, incluindo 1) a injúria mecânica crônica das ventosas dos trematódeos, causando ulceração crônica e estimulação da regeneração tecidual; 2) as secreções parasitárias, que estimulam a liberação de IL-6 e IL-8 pelos colangiócitos; 3) a secreção da granulina, estimulando a proliferação de células do hospedeiro (superexpressão de genes reguladores de proliferação celular) ; 4) o constante estímulo à regeneração tecidual, com consequente fibrose, e 5) os infiltrados inflamatórios mononucleares e espécies reativas do oxigênio. Sripa et al. (2012) citaram que a hiperplasia mucosa está na primeira fase do modelo inflamatório induzido por infecção por trematódeos, seguida de metaplasia, hiperplasia glandular e por último fibrose periductal. A fibrose periductal crônica é considerada como evento precursor para o desenvolvimento do CCA no modelo hamster, tendo sido igualmente detectada em seres humanos cronicamente infectados por *O.viverrini* (SRIPA et al., 2012). No presente trabalho, não foram detectadas massas neoplásicas nem alterações displásicas no epitélio biliar intra-hepático. Nenhuma suspeita de tumores hepáticos foi levantada. Apesar disso, foi observada alta frequência e significância estatística de hiperplasias mucosas, principalmente no colédoco. Alterações pré-neoplásicas na vesícula biliar não puderam ser precisamente avaliadas devido ao destacamento do epitélio de sua mucosa pela rápida autólise *post mortem*; contudo, não foram observadas alterações invasivas nas camadas subjacentes ao epitélio da vesícula, corroborando a não ocorrência desta neoplasia na presente amostra. Entretanto, a expectativa de vida da amostra provavelmente não é longa o suficiente para permitir o processo de carcinogênese do CCA associado à infecção parasitária por *P. fastosum*.

O presente estudo apresentou os primeiros dados epidemiológicos de infecção pelo trematódeo dicrocelídeo *P. fastosum* em gatos no município de Maracanaú, Ceará, região nordeste do Brasil. Associação da prevalência com a localização específica dos animais no município não foi possível, pois este dado não estava precisamente disponível nos registros do CCZ. Uma possível associação da infecção com o sexo dos animais talvez tivesse sido possível se a distribuição do sexo na amostra fosse mais uniforme, devido à dificuldade na captura dos indivíduos machos. A contagem da carga parasitária pode não ter sido precisa, pois existiu a possibilidade de evacuação de trematódeos pelo colédoco até o duodeno, e os intestinos não foram coletados nem examinados. Uma parte da amostra foi composta por indivíduos portadores de comorbidades infecciosas ou neoplásicas, o que pode gerar questionamentos sobre a resposta fisiopatológica dos hospedeiros aos parasitas. As alterações circulatórias no fígado não puderam ser precisamente avaliadas, devido à influência do método de eutanásia. Indícios de coincidência da Síndrome da Lipidose Hepática Felina com outras morbididades foram observados, e possivelmente as lesões foram decorrente do estresse de captura e cativeiro dos animais da amostra, e podem ter influenciado a resposta inflamatória observada.

Trabalhos publicados no Brasil tentaram associar o CCA felino ao *P. fastosum* (SANTOS et al., 1981; ANDRADE et al., 2012). No trabalho de Santos et al. (1981), os afetados eram gatos idosos, achados proporcionalmente compatíveis com a idade de risco descrita por Sripa (2003). Andrade et al. (2012) caracterizaram CCA em 27% (3/11) de gatos parasitados por *P. fastosum*, com idades de 8 a 20 anos, em um estudo retrospectivo na Paraíba. Observa-se que o CCA somente foi detectado em gatos de idade avançada; então, essas informações corroboram que a neoplasia é comum em hospedeiros adultos com infecção crônica (7 a 15 anos no caso de humanos) (Sripa, 2003). Em infecções crônicas, as hiperplasias epitelial e glandular e a fibrose periductal são consideradas lesões precursoras de CCA (Sripa 2003). Nos gatos de Maracanaú, foram observadas tais lesões; no entanto, gatos de vida livre têm baixa expectativa de vida. Segundo Ogan e Jurek (1997), a longevidade de gatos domésticos de vida livre é estimada em 4 a 5 anos de idade, enquanto gatos domiciliados podem viver mais de 15 anos. Portanto, era esperado não se detectar lesões neoplásicas nos animais desta amostra.

7. CONCLUSÕES

O trematódeo dicrocelídeo *P. fastosum* está presente no município de Maracanáu, Ceará, e possui prevalência moderada, principalmente em gatos não domiciliados. Animais adultos, provavelmente, por terem maior tempo de exposição ao agente, mostraram maior prevalência que os jovens.

A carga parasitária detectada foi considerada leve a moderada. A maioria dos gatos infectados mostrou sinais clínicos discretos, que se tornavam mais severos de acordo com a quantidade de trematódeos albergados pelos ductos biliares. A carga parasitária máxima encontrada não foi significativamente associada às lesões observadas, constatando-se que a cronicidade da infecção e o status imune do hospedeiro também são fatores decisivos na morbidade desta infecção.

O risco de desenvolvimento de colangites, colecistites e hepatites foi três vezes maior nos animais infectados. Os achados anátomo-patológicos variaram de leves (colangites leves) a graves (colângio-hepatites e colecistites crônicas). Os infiltrados inflamatórios mononucleares, em variados graus, foram os achados de maior frequência à histopatologia. O ducto colédoco intra-hepático foi o órgão mais afetado nos gatos infectados por *P. fastosum*.

Lesões microscópicas consideradas precursoras de CCA foram detectadas, mas nenhum tumor foi diagnosticado. A idade dos hospedeiros e o tempo de suas infecções não foram suficientes para desenvolver neoplasias, embora o risco esteja presente.

Outras metodologias de estudos patológicos, envolvendo imuno-histoquímica e técnicas de biologia molecular, estão disponíveis e podem ser utilizadas para melhor caracterizar a infecção por *P. fastosum* no município.

8. REFERÊNCIAS

- ABEBE, R.; ABUNNA, F.; BERHANE, M.; MEKURIA, S.; MEGERSA, B.; REGASSA, A. Fasciolosis: Prevalence, financial losses due to liver condemnation and evaluation of a simple sedimentationdiagnostic technique in cattle slaughtered at Hawassa Municipal abattoir, southern Ethiopia. **Ethiopian Veterinary Journal**, v.14, n.1, p.39-51, 2010.
- ABRAHAM, S. Gallbladder and extrahepatic biliary system. In: WESTRA, W.H. et al. **Surgical Pathology Dissection: An Illustrated Guide, 2nd Edition**. New York: Springer-Verlag, 2003, p.82-87.
- AHID, S.M.M.; FILGUEIRA, K. D.; SUASSUNA, A. C. D. Ocorrência de *Platynosomum fastosum* (Trematoda: Dicrocoeliidae) em gato doméstico em Mossoró- RN. **Nosso Clínico**, v. 8, n. 47, p. 66-70, 2005.
- AHN, N.T.L.; PHUONG, N.T.; HA, G.H.; THU, L.T.; JOHANSEN, M.J.; MURRELL, D.K.; THAMSBORG, S.M. Evaluation of techniques for detection of small trematode eggs in faeces of domestic animals. **Veterinary Parasitology**, v.156, p.346-349, 2008.
- ALVES, R.R.N.; PEREIRA FILHO, G.A.; VIEIRA, K.S.; SOUTO, W.M.S.; MENDONÇA, L.E.T.; MONTENEGRO, P.F.G.P.; ALMEIDA, W.O.; VIEIRA, W.L.S. A zoological catalogue of hunted reptiles in the semiarid region of Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 8, n. 27, p. 1-29, 2012.
- ANDRADE, R.L.F.S.; DANTAS, A.F.M.; PIMENTEL, L.A.; GALIZA, F.K.L.; CARVALHO, F.K.L.; COSTA, V.M.M.; RIET-CORREIA, F. *Platynosomum fastosum*-induced cholangiocarcinoma in cats. **Veterinary Parasitology**, v. 190, p. 277-280, 2012.
- ANDRADE, S.F.; SANTARÉM, V.A. Endoparasiticidas e ectoparasiticidas. In: ANDRADE, S.F. **Manual de Terapêutica Veterinária**, 2a. Ed. São Paulo: Roca, 2002, p. 437 – 476.
- ANDREWS, R.H.; SITHITHAWORN, P.; PETNEY, T.N. *Opisthorchis viverrini*: and underestimated parasite in world health. **Trends in Parasitology**, v. 24, n. 11, p. 497-501, 2008.
- ARCEO, A.F.G.; ALVARADO, M.M.S.; CRUZ, A.R.J. Platinosomiasis in animales: una revisión. **Revista Científica, FCV-Luz**, v.9, n.1, p.56-70, 1999.
- ARMSTRONG, P.J.; BLANCHARD, G. Hepatic lipidosis in cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animals Practice**, v. 39,p.599–616, 2009.
- AUNPROMMA, S.; TANGKAWATTANA, P.; PAPIROM, P.; KANJAMPA, P., TESANA, S., SRIPA, B.; TANGKAWATTANA, S. High prevalence of *Opisthorchis viverrini* infection in reservoir hosts in four districts of Khon Kaen Province, an

opisthorchiasis endemic area of Thailand. **Parasitology International**, v.61, p.60-64, 2012.

AZEVEDO, F.D. Alterações hepatobiliares em gatos domésticos (*Felis catus domesticus*) parasitados por *Platynosomum illiciens* (Braun, 1901) Kossack, 1910 observadas através do exame radiográfico, ultra-sonográfico e de tomografia computadorizada. 2008. 46 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

AZEVEDO, F.D.; VEIGA, C.C.P.; SCOTT, F.B.; AZEVEDO, T.R.C.; SOUZA, B.G.; VULCANO, L.C. Computed tomography evaluation of the liver and gallbladder in domestic cats (*Felis catus domesticus*) parasitized by *Platynosomum illiciens* (Braun 1901) Kossak 1910. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.34, n.4, p.275-278, 2012.

AZEVEDO, F.D.; VEIGA, C.C.P.; SCOTT, F.B.; CORREIA, T.R.; FERNANDES, J.I.; VEROCAI, G.G. Avaliação radiográfica e ultrassonográfica do fígado e da vesícula biliar em gatos domésticos (*Felis catus domesticus*) parasitados por *Platynosomum illiciens* (Braun, 1901) Kossak, 1910. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.35, n.3, p.283-288, 2013.

BASU, A.K.; CHARLES, R.A. A review of the cat liver fluke *Platynosomum fastosum* Kossack, 1910 (Trematoda: Dicrocoeliidae). **Veterinary Parasitology**, v.200, p.1-7, 2014.

BEDWANI, R.; RENGANATHAN, E.; KWHSKY, F.; BRAGA, C.; SEIF, A.; AZM, T.; ZAKI, A.; FRANCESCHI, S.; BOFFETTAS, B.; VECCHIA, C. Schistosomiasis and the risk of bladder cancer in Alexandria, Egypt. **British Journal of Cancer**, v. 77, n. 7, 1186-1189, 1998.

BIELSA, L.M.; GREINER, E.C. Liver fluke (*Platynosomum concinnum*) incats. **Journal of American Veterinary Association**, v. 21, p. 269–274, 1985.

BILITY, M.T.; SRIPA, B. Chronic *Opisthorchis viverrini* infection and associated hepatobiliary disease is associated with iron loaded M2-like macrophages. **Korean Journal of Parasitology**, v. 52, n. 6,p. 695-699, 2014.

BLACKSHAW, J.K. Developments in the study of human-animal relationships. **Applied Animal Behavior Science**, v. 47, p. 1-6, 1996.

CABITZA, M. Peru: Campaigning for the rights of cats. BBC News Online. Disponível em <http://www.bbc.com/news/magazine-19846516>. Acesso em 26 Outubro 2015.

CAMERON, C. Killing dogs and cats for meat is still legal in 44 U.S. states. Disponível em <http://inhabitat.com/killing-dogs-and-cats-for-meat-is-still-legal-in-44-u-s-states/>. Acesso em 26 Outubro 2015.

CARDINALE, V.; SEMERARO, R.; TORRICE, A.; GATTO, M.; NAPOLI, C.; BRAGAZZI, M.C.; GENTILE, R.; ALVARO, D. Intra-hepatic and extra-hepatic cholangiocarcinoma: New insight into epidemiology and risk factors. **World Journal of Gastrointestinal Oncology**, v.2, n.11, p.407-416, 2010.

CARREIRA, V.S.; VIEIRA, R.F.C.; MACHADO, G.F.; LUVIZOTTO, M.C.R. Feline cholangitis/cholangiohepatitis complex secondary to *Platynosomum fastosum* infection in a cat. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, Supl. 1, p. 184-187, 2008.

CHAN, C.W.; LAM, S.K. Diseases caused by liver flukes and cholangiocarcinoma. **Bailliere's Clinical Gastroenterology**, v.1, n.2, p.297-318, 1987.

CLARK, J.E.C.; HADDAD, J.L.; BROWN, D.C.; MORGAN, M.J.; WINKLE, T.J.V.; RONDEAU, M.P. Feline cholangitis: a necropsy study of 44 cats (1986 – 2008). **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.13, p. 570-576, 2011.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. **Resolução nº1000 de 11 de Maio de 2012**. Brasília: Diário Oficial da União 17/05/2012, seção 1, p.124-125.

CULLEN, J.M. Summary of the World Small Animal Veterinary Association Standardization Committee Guide to Classification of Liver Disease in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animals Practice**, v. 39, p.395-419, 2009.

CULLEN, J.M.; BROWN, D.L. Sistema hepatobiliar e pâncreas exócrino. In: ZACHARY, J.F.; McGAVIN, M.D. **Bases da patologia em veterinária**. 5^a. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013, p.407-460.

DANIEL, A.G.T.; DIAZ, R.F.; CAMIGNATTO, L.O.; KAGE, N.K.; PELLEGRINO, A.; COGLIATI, B. Polycystic liver disease associated with *Platynosomum fastosum* infection in a cat. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 5, n. 3, p. 137-141, 2012.

DYCE, K.M.; SACK, W.O., WENSING, C.J.G. Aparelho digestivo. In: DYCE, K.M.; SACK, W.O., WENSING, C.J.G. **Tratado de Anatomia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1990, p.65-96.

ECKERLIN, R.P.; LEIGH, W.H.; *Platynosomum fastosum* Kossack, 1910(Trematoda: Dicrocoeliidae) in South Florida. **Journal of Parasitology**, v.48,n.2, p.49, 1962.

ELKINS, D.B.; HASWELL-ELKINS, M.R.; MAIRIANG, E.; MAIRIANG, P.; SITHITHAWORN, P.; KAEWKES, S.; BHUDHISAWASDI, V.; UTTARAVICHEN, T.A high frequency of hepatobiliary disease and suspected cholangiocarcinoma associated with heavy *Opisthorchis viverrini* infection in a small community in north-east Thailand. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.84, n.5, p.715-719, 1990.

ELKINS, D.B.; SITHITHAWORN, P.; HASWELL-ELKINS, M.; KAEWKES, S.; AWACHARAGAN, P.; WONGRATANACHEEWIN, S. *Opisthorchis viverrini*: relationships between egg counts, worms recovered and antibody levels within an endemic community in northeast Thailand. **Parasitology**, v.102,n.2, p.283-288, 1991.

ENES, J. E.; WAGES, A. J.; MALONE, J. B.; TESANA, S. Prevalence of *Opisthorchis viverrini* infection in the canine and feline hosts in three villages, Khon Kaen province, northeastern Thailand. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v.41, n.1, p. 36–42, 2010.

FARAH, S.T.; LAPOSY, C.B.; SANTARÉM, V.A. Prevalência e achados laboratoriais em gatos infectados com *Platynosomum concinnum*, no gatil da Unoeste, Presidente Prudente, São Paulo. **Colloquium Agrariae**, v. 5, n. Especial, p.170-173, 2009.

FEITOSA, F.L.F. Exame físico geral ou de rotina. In: FEITOSA, F.L.F. **Semiologia Veterinária**, 1a. Edição. São Paulo: Editora Roca, 2004, p. 77-102.

FERREIRA, A.M.R.; ALMEIDA, E.C.P.; LABARTHE, N.V. Liver fluke infection (*Platynosomum concinnum*) in Brazilian cats: Prevalence and Pathology. **Feline Practice**, v. 27, n. 2, p. 19-22, 1999.

FILGUEIRAS, K.D.; AHID, S.M.M.; PAULA, V.V.; BATISTA, J.S.; SUASSUNA-BEZERRA, A.C.D. Aspectos histopatológicos do sistema hepatobiliar de três felinos domésticos parasitados por *Platynosomum concinnum* (Trematoda: Dicrocoeliidae). **Medvep – Revista Científica de Medicina Veterinária – Pequenos animais e animais de estimação**, v.6, n.19, p.229-232, 2008.

FITZPATRICK, J.L. Global food security: The impact of veterinary parasites and parasitologists. **Veterinary Parasitology**, v. 195, p. 233-248, 2013.

FLAVELL, D.J. Liver-fluke infection as aetiological factor in bile-duct carcinoma of man. **Transactions of The Royal Society of Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 6, p. 814-824, 1981.

FOLEY, R.H. *Platynosomum concinnum* infection in cats. **Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian**,v.16, p.1271–1277, 1994.

FRANCO, P.A.; MAJA, T.A.; ANDRADE, A.L.S.; HOZOKAWA, R.M. Pesquisa de *Platynosomum concinnum* por técnica de sedimentação em felinos domésticos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 7, Supl. 1, p. 287-289, 2013.

FRIEDMANN, E.; SON, H. The human-companion animal bond: How humans benefit. Veterinary Clinics of North America. **Small Animals Practice**, v. 39, p. 293-326, 2009.

FÜRST, T.; DUTHALER, U.; SRIPA, B.; UTZINGER, J.; KEISER, J. Trematode infections. Liver and lung flukes. **Infectious Disease Clinics of North America**, v.26, p.399- 419, 2012.

GENNARI, S.M.; KASAI, N.; PENA, H.F.J.; CORTEZ, A. Ocorrência de protozoários e helmintos em amostras de fezes de cães e gatos da cidade de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Science**, v. 36, n. 2, 1999.

GRACE, S.F. Icterus. In: NORSWORTHY, G.D.; CRYSTAL, M.A.; GRACE, S.F.; TILLEY, L.P. **The Feline Patient**, 3rd Edition. Ames: Blackwell Publishing, 2006, p.163-165.

HEADLEY, S.A.; FERIOLI, R.B.; REIS, A.C.F.; BRACARENSE, A.P.F.R.L.; *Platynosomum fastosum*-induced infections in domestic shorthair cats: a retrospective study of seven cases. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v.4, n.3, 227–234, 2011.

HO, M.L., CHEN, J.Y., LING, U.P., SU, P.H. Gallbladder volume and contractility in term and preterm neonates: normal values and clinical applications in ultrasonography. **Acta Pediatrica**, v.87, p.799-804, 1998.

HOFFMANN, R.P. Técnicas helmintológicas. In: **Diagnóstico de parasitismo veterinário**. 1^a. Edição. Porto Alegre: Editora Sulina, 1987, p. 127-134,

HOU, P.C. Hepatic clonorchiasis and carcinoma of bile duct in a dog. **Journal of Pathology and Bacteriology**,v.89, p.363-367, 1964.

HÜBSCHER, S. G. Histological assessment of non-alcoholic fatty liver disease. **Histopathology**,v.49, p.450–465, 2006.

HYLLIER, G.V.; APT, W. Food-borne trematode infections in the Americas. **Parasitology Today**, v. 13, n. 3, p. 87-88, 1997.

ILHA, M.R.S.; LORETTI, A.P.; REIS, A.C.F. Wasting and mortality in beef cattle parasitized by *Eurytrema coelomaticum* in the State of Paraná, southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, n. 133, p. 49-60, 2005.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH OF CÂNCER (IARC). Monographs on the evaluation of carcinogen risks to humans. *Schistosomes, liver flukes and Helicobacter pylori.* v.61, p.121-162, 1994. Disponível em <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol61/mono61.pdf> Acesso em 02/11/2015.

ISHIZAKI, M.N.; NASCIMENTO, A.A.; KANETO, C.N.; MONTANO, T.R.P.; PERRI, S.H.V.; VASCONCELOS, R.O.; BRESCIANI, K.D.S. Freqüência e intensidade parasitária de helmintos gastrintestinais em felinos dazona urbana do município de Araçatuba, SP. **Ars Veterinaria**, v.22, n.3, p. 212-216, 2006.

JESUS, M.F.P.; BRITO, J.A.; SILVA, V.C.; PEDROSO, P.M.O.; PIMENTEL, L.A.; MACEDO, J.T.S.A.; SANTIN, F.; NETO, A.F.S.; RIBEIRO, R.R. Natural infection by *Platynosomum illiciens* in a Stray Cat in Cruz das Almas, Recôncavo da Bahia, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v.8, n.1., p.25-28, 2015.

KATSOULOS, P.D.; CHRISTODOULOPOULOS, G.; KARATZIA, M.A.; POURLIOTIS, K.; MINAS, A. Liver flukes promote cholelithiasis in sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 179, p. 262-265, 2011.

KEISER, J.; UTZINGER, J. Food-Borne Trematodiases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 22, n. 3, p. 466-483, 2009.

KIM, J.M.; CHE, J.H.; JEONG, D.H.; KHANG, B.C. *Platynosomum fastosum* infestation in a domestic cat in Korea. **Laboratory Animal Research**, v.26, n.3, p.307-309, 2010.

KRECEK, R.C.; MOURA, L.; LUCAS, L.; KELLY, P. Parasites of stray cats (*Felis domesticus* L., 1758) on St. Kitts, West Indies. **Veterinary Parasitology**, v.172, p.147–149, 2010.

LIM, J.H. Liver flukes: the malady neglected. **Korean Journal of Radiology**, v. 12, n. 3, p. 269-279, 2011.

LOVELACE, K.M. Age approximation. In: NORSWORTHY, G.D.; CRYSTAL, M.A.; GRACE, S.F.; TILLEY, L.P. **The Feline Patient**, 3rd Edition. Ames: Blackwell Publishing, 2006, p.687-690.

MACLACHLAN, N.J.; CULLEN, J.M. Fígado, sistema biliar e pâncreas exócrino. In: THOMSON, R.G. **Patologia Veterinária Especial**. São Paulo: Manole, 1990, p.265-308.

MAIRIANG, E.; ELKINS, D.B.; MAIRIANG, P.; CHAIYAKUM, J.; CHAMADOL, N.; LOAPAIBOON, V.; POSRI, S.; SITHITHAWORN, P.; HASWELL-ELKINS, M. Relationship between intensity of *Opisthorchis viverrini* infection and hepatobiliary disease detected by ultrasonography. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v.7, n.1, p.17-21, 1992.

MALDONADO, J.F. The life history and biology of *Platynosomum fastosum* Kossak, 1910 (Trematoda: Dicrocoeliidae). **Puerto Rico Journal of Public Health and Tropical Medicine**, v. 21, n. 1, p. 17-39, 1945.

MENDES DE ALMEIDA, F.; LABARTHE, N. ; GUERRERO, J.; FARIA, M.C.F.; BRANCO, A.S.; PEREIRA, C.D., BARREIRA, J.D.; PEREIRA, .M.J.S. Follow-up of the health conditions of an urban colony of free-roaming cats (*Felis catus* Linnaeus, 1758) in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Veterinary Parasitology**,v.147,p. 9–15, 2007.

MICHAELSEN, R.; SILVEIRA, E.; MARQUES, S.M.T.; PIMENTEL, M.C.; COSTA, F.V.A. *Platynosomum concinnum* (Trematoda: Dicrocoeliidae) em gato doméstico da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Veterinária em Foco**, v.10, n.1, p. 53-60, 2012.

MIDDLEHURST, C. **Thousands of dogs and cats slaughtered at China festival despite government promises to crack down.** <http://www.telegraph.co.uk/news/worldnews/asia/china/11689773/Thousands-of-dogs-and-cats-slaughtered-at-China-festival-despite-government-promises-to-crack-down.html>. Acesso em 26 Outubro 2015.

MONTSERIN, S.A.S.; MUÑOZ, K.; SEEBARANSINGH, R.; BASU, A.K. Clinical case: *Platynosomum fastosum* Kossack, 1910 infection in a cat: First reported case in Trinidad and Tobago. **Revue de Medecine Veterinaire**, v.164, n.1, 2013.

MUNDIM, T.C.D.; OLIVEIRA JÚNIOR, S.D.; RODRIGUES, D.C.; CURY, M.C. Freqüência de helmintos em gatos de Uberlândia, Minas Gerais. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 4, p. 562-563, 2004.

NAUCK, E.G.; LIANG, B. Primares Leberkrebs und Clonorchis infektion. **Archiv für Schiffs-u. Tropenhygiene**, v. 32, p. 109-112, 1928.

NORSWORTHY, G. Flukes: liver, biliary, and pancreatic. In: NORSWORTHY, G.D.; CRYSTAL, M.A.; GRACE, S.F.; TILLEY, L.P. **The Feline Patient**, 3rd Edition. Ames: Blackwell Publishing, 2006, p.108-109.

NORSWORTHY, G. Hepatic Lipidosis. In: NORSWORTHY, G.D.; CRYSTAL, M.A.; GRACE, S.F.; TILLEY, L.P. **The Feline Patient**, 3rd Edition. Ames: Blackwell Publishing, 2006, p.123-124.

OGAN, C.V.; JUREK, R.M. Biology and ecology of feral, free-roaming and stray cats. In: HARRIS, J.E.; OGAN, C.V. (eds.). **Mesocarnivores of northern California: biology, management, and survey techniques, workshop manual**. California: California North Coast Chapter, 1997, 127 p.87-91.

OGASSAWARA, S.; BENASSI, S.; LARSSON, C. E. *Platynosomum fastosum* in a domestic cat in the city of Sao Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.47,n.1/2 pp. 39-42, 1980.

OGASSAWARA, S.; BENASSI, S.; LARSSON, C.E.; LEME, P.T.Z.; HAGIWARA, M.K. Prevalência de infecções helmínticas em gatos na cidade de São Paulo. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v.23, n.2, p.145-149, 1986.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Trabalhando para superar o impacto global das doenças tropicais negligenciadas. Primeiro relatório da OMS sobre doenças tropicais negligenciadas. Genebra, 2010. 188 p.

O'SULLIVAN, B.M.; ROSENFELD, L.E.; GREEN, P.E. Concurrent infectionwith *Yersinia pseudotuberculosis* and *Platynosomum fastosum* in a cat. **Australian Veterinary Journal**, v.52, p.232–233, 1976.

PESSOA, S. B.; MARTINS, A. V. **Parasitologia Médica**. 12º edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

PINTO, H.A.; MATI, V.L.T.; MELO, A.L. New insights into the life cycle of *Platynosomum* (Trematoda: Dicrocoeliidae). **Parasitology Research**, v.113, p. 2701–2707, 2014.

PINTO, H.A.; MATI, V.L.T.; MELO, A.L. Can the same species of *Platynosomum* (Trematoda: Dicrocoeliidae) infect both mammalian and avian hosts? **Journal of Helminthology**, 2015a (in press).

PINTO, H.A.; MATI, V.L.T.; MELO, A.L. Experimental platynosomosis: Characterization of parasite development in the mouse model. **Veterinary Parasitology**, v.211, p. 40–44, 2015b.

R Development Core Team (2011). R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.

RAGOZO. A.M.A.; MURADIAN, V.; RAMOS E SILVA, J.C.; CARAVIERI, R.; AMAJONER, V.R.; MAGNABOSCO, V.; GENNARI, S.M. Ocorrência de parasitos gastrintestinais em fezes de gatos das cidades de São Paulo e Guarulhos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n. 5, p. 244-246, 2002.

RAMOS, D.G.S.; SCHEREMETA, R.G.A.C.; OLIVEIRA, A.C.S.; SINKOC, A.L.; PACHECO, R.C. Survey of helminth parasites of cats from the metropolitan area of Cuiabá, Mato Grosso, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 2, p. 244-246, 2013.

RIM, H.J.; FARAG, H.F.; SORNMANI, S.; CROSS, J.H. Food-borne trematodes: Ignored or Emerging? **Parasitology Today**, v. 10, n. 6, p. 207-209, 1994.

ROCHA, N.O.; PORTELA, R.W.; CAMARGO, S.S.; SOUZA, W.R.; CARVALHO, G.C.; BAHIENSE, T.C. Comparison of two coproparasitological techniques for the detection of *Platynosomum* sp. infection in cats. **Veterinary Parasitology**, v. 204, n.3, p.392-395, 2014.

RODRIGUEZ-VIVAS, R.I.; WILLIAMS, J.J.; QUIJANO-NOVELO, A.G.; BOLIO, G.M.E.; TORRES-ACOSTA, J.F.J. Prevalence, abundance and risk factors of liver fluke (*Platynosomum concinnum*) infection in cats in Mexico. **Veterinary Record**, v.154, p. 693–694, 2004.

RODRIGUES, H.O. Contribuição ao estudo do gênero *Platynosomum* Looss, 1907 (Trematoda, Dicrocoeliidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.61, 507–515, 1963.

ROJO-VASQUEZ, F.A.; MEANA, A.; VALCARCÉL, F.; MARTÍNEZ-VALLADARES, M. Update on trematode infections in sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 189, p. 15-38, 2012.

RUTGERS, C. Feline liver disease. **In practice**, v.20, p.16-25, 1998.

SALOMAO, M.; SOUZA-DANTAS, L.M.; MENDES-DE-ALMEIDA, F.; BRANCO, A.S.,BASTOS, O.P.M.; STERMAN, F.; LABARTHE, N. Ultrasonography in hepatobiliary evaluation of domestic cats (*Felis catus*, L., 1758) infected by *Platynosomum Looss*, 1907. **The Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**,v.3, n.3, p.271–279, 2005.

SAMPAIO, M.A.S.; BERLIM, C.M.; ANGELIM, A.J.G.L.; GONDIM, L.F.P.; ALMEIDA, M.A.O. Infecção natural pelo *Platynosomum Looss* 1907, em gato no município de Salvador, Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 7, n. 1, p. 1-6, 2006.

SANTOS, J.A.; LOPES, M.A.F.; SCHOTT, A.C.; SANTOS, A.E.S.; PORFÍRIO, L.C., PASSOS, L. Colangiocarcinomas em gatos com parasitismo de ductos biliares por *Platynosomum fastosum*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 1, p. 31-36, 1981.

SAVARY-BATAILLE, K.C.M.; BUNCH, S.E.; SPAULDING, K.A.; JACKSON, M.W.; LAW,J.M.; STEBBINS, M.E. Percutaneous ultrasound-guided cholecystocentesis in healthy cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**,v.17, p.298–303, 2003.

SERPELL, J. Beneficial effects of pet ownership on some aspects of human health and behaviour. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 84, p. 717-719, 1991.

SCHMIDT, C.A.; KOHLMANN, T. When to use the odds ratio or the relative risk?**International Journal of Public Health**,v.53, p.165–167, 2008.

SHELL, L.; KETESIS, J.; HALL, R.; RAWLINS, G.; PLESSIS, W.D. Praziquantel treatment for *Platynosomum* species infection of a domestic cat on St Kitts, West Indies. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**, p.1–4, 2015.

SHIN, H.R.; OH, J.K.; LIM, M. K.; SHIN, A.; KONG, H.J.; JUNG, K.W.; WON, Y.J.; PARK, S.; PARK, S.J.; HONG, S.T. Descriptive epidemiology of cholangiocarcinoma and clonorchiasis in Korea. **Journal of Korean Medical Science**, v. 25, p. 1011-1016, 2010.

SILVA, K.S.M.; SILVA, R.J.; PEREIRA, W.L.A. Ocurrence of infection by *Platynosomum illiciens* (Braun, 1901) in captive neotropical primates. **Primates**, v. 53, n. 1, p. 79-82, 2012.

SITHITHAWORN, P.; TESANA, S.; PIPITGOOL, V.; KAEWKES, S.; PAIROJKUL,C.; SRIPA, B.; PAUPAIROJ, A.; THAIKLAR, K. Relationship between faecal egg count and worm burden of *Opisthorchis viverrini* in human autopsy cases. **Parasitology**, v.102, n.2, 277–281, 1991a.

SITHITHAWORN, P.; TESANA, S.; PIPITGOOL, V.; KAEWKES, S.; THAIKLAR, K.; PAIROJKUL, C.; SRIPA, B.; PAUPAIROJ, A.; SANPITAK, P.; ARANYANAT, C. Quantitative post-mortem study of *Opisthorchis viverrini* in man in north-east Thailand. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**,v.85, p.765–768, 1991b.

SITHITHAWORN, P.; HASWELL-ELKINS, M. Epidemiology of *Opisthorchis viverrini*. **Acta Tropica**, v. 88, p. 187-194, 2003.

SOUSA FILHO, R. P.; SAMPAIO, K. de O.; HOLANDA, M. S. B.; VASCONCELOS, M. C.; MORAIS, G. B. de; VIANA, D. de A.; COSTA, F. V. A. da. Primeiro relato de infecção natural pelo *Platynosomum* spp. em gato doméstico no município de Fortaleza, Ceará, Brasil. **Arquivo de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v.18, n.1, 2015. (in press)

SRIPA, B. The pathobiology of opisthorchiasis: an update. **Acta Tropica**, v.88, p.209–220, 2003.

SRIPA, B.; BRINDLEY, P.J.; MULVENNA, J.; LAHA, T.; SMOUT, M.J.; MAIRIANG, E.; BETHONY, J.M.; LOUKAS, A. The tumorigenic liver fluke *Opisthorchis viverrini* – multiple pathways to cancer. **Trends in Parasitology**, v.28, n. 10, p. 395-407, 2012.

SRIPA, B.; HASWELL-ELKINS, M.R.; SINAWAT, P. Histological analysis of gallbladder diseases in relation to opisthorchiasis in endemic areas of Thailand. **Acta Tropica**, v.88, p.239–24, 2003.

SRIPA, B.; KAEWKES, S. Localisation of parasite antigens and inflammatory responses in experimental opisthorchiasis. **International Journal of Parasitology**, v. 30, p. 735–740, 2000.

TAYLOR, D.; PERRI, S.F. Experimental infection of cats with the liverfluke *Platynosomum concinnum*. **American Journal of Veterinary Research**, v.38, p.51–54, 1977.

TORBENSON, M.S. Liver. In: WESTRA, W.H. et al. **Surgical Pathology Dissection: Na Illustrated Guide, Second Edition**. New York: Springer-Verlag, 2003, p.76-81.

TORRES, C.M.; PINTO, C. Processos patogênicos determinados pelos trematóides *Eurytrema fastosum* e *E. coelomaticum* (Dicrocoeliidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.31, n.4., p. 732-748, 1936.

TRAVASSOS, L.; FREITAS, J.F.T.; KOHN, A. Trematódeos do Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.67, n.1,p.1-886, 1969.

VIEIRA, A.L.S.; ECCO, R.; LIMA, W.S.; GUEDES, R.M.C. Platynosomum fastosum infection in two cats in Belo Horizonte, Minas Gerais State -Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**,v.2, n.1,p.45-48, 2009.

WARREN, A.; CENTER, S.; McDONOUGH, S.; CHIOTTI, R.; GOLDSTEIN, R.; MESECK, E.; JACOBSEN, M.; ROWLAND, P.; SIMPSON,K. Histopathologic Features, Immunophenotyping, Clonality, and Eubacterial Fluorescence *In Situ* Hybridization in Cats With Lymphocytic Cholangitis/Cholangiohepatitis. **Veterinary Pathology**, 000(00) 1-15, 2010 (in press).

WATSON-WEMYSS, H.L.; Carcinoma of the liver associated with infection of *Clonorchis sinensis*. **Edinburgh Medical Journal**, v. 22, p.103, 1919.

WERNER, P. Acúmulos ou deposições de substâncias. In: WERNER, P. **Patologia geral veterinária aplicada**. 1a. Ed. São Paulo: Roca, 2011, p. 140.

WILLARD, M.D.; FOSSUM, T.W. Diseases of the gallbladder and extra-hepatic biliary system. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. (Eds.), **Textbook of Veterinary Internal Medicine**, 5th ed. Philadelphia: WB. Saunders, 2000, p. 1343.

WONGRATANACHEEWIN, S.; SERMSWAN, R.W.; SIRISINHA, B.S. Immunology and molecular biology of *Opisthorchis viverrini* infection. **Acta Tropica**, v.88, 195–207, 2003.

WROBEL, T.A.; DYE, A.L. Grieving pet death: normative, gender and attachments issues. **Omega**, v. 47, n. 4, p. 385-393, 2003.

XAVIER, F.G.; MORATO, G.S.; RIGHI, D.A.; MAIORKA, P.C.; SPINOSA, H.S. Cystic liver disease related to high *Platynosomum fastosum* infection in a domestic cat. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 9, p. 51-55, 2007.

ZAMRII-SAAD, M.; CHULAN, U.; WONG, W.T. *Platynosomum fastosum* infestation in a cat: a case report. **Pertanika**, v. 7, n.1, 87-89, 1984.

APÊNDICE A – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS CLÍNICOS E ANATOMOPATOLÓGICOS

PROJETO *Platynosomum fastosum* – PILOTO EXPERIMENTAL

FICHA DE COLETA DE DADOS CLÍNICOS E PATOLÓGICOS

Nº de ID:	Pelagem:
Peso (kg):	Data da necropsia:
Sexo	<input type="checkbox"/> Macho <input type="checkbox"/> Fêmea
Faixa etária	<input type="checkbox"/> Jovem <input type="checkbox"/> Adulto <input type="checkbox"/> Meia-idade
Escore Corporal	<input type="checkbox"/> Caquético <input type="checkbox"/> Magro <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Sobrepeso
Coloração mucosas/pele/palato	<input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Ictérica Descrição _____
Semiologia fígado	<input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Hepatomegalia
Coleta fígado /vesícula biliar/pâncreas	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
	Obs: _____

MACROSCOPIA FÍGADO

Peso (g) :				
COR	<input type="checkbox"/> NORMAL (Vermelho-acastanhado)	<input type="checkbox"/> Ictérico	<input type="checkbox"/> Pálido	<input type="checkbox"/> Congesto
Esteatose	<input type="checkbox"/> Outros _____	<input type="checkbox"/> Necrótico <input type="checkbox"/>		
TAMANHO	<input type="checkbox"/> Normal	<input type="checkbox"/> Aumentado	<input type="checkbox"/> Diminuído	
CONSISTÊNCIA	<input type="checkbox"/> Normal (Friável)	<input type="checkbox"/> Firme	<input type="checkbox"/> Duro	<input type="checkbox"/> Em autólise
SUPERFÍCIE	<input type="checkbox"/> Lisa	<input type="checkbox"/> Áspera/Granular	<input type="checkbox"/> Depressões	<input type="checkbox"/> Protuberâncias <input type="checkbox"/> _____
PRESENÇA DE LESÕES?	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim (Forma, cor, tamanho, consistência, superfície, margens, distribuição)		

PRESENÇA DE TREMATÓDEOS NAS VIAS BILIARES?	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não		
Intensidade Parasitária	<input type="checkbox"/> Baixa	<input type="checkbox"/> Moderada	<input type="checkbox"/> Alta	

MACROSCOPIA VESÍCULA BILIAR

Medidas (cm) _____ x _____ x _____	Espessura da parede (mm) _____
SEROSA	<input type="checkbox"/> Lisa <input type="checkbox"/> Espessada <input type="checkbox"/> Adelgaçada <input type="checkbox"/> Enrugada <input type="checkbox"/> Irregular
MUCOSA Cor	<input type="checkbox"/> Típica <input type="checkbox"/> Pálida <input type="checkbox"/> Congesta <input type="checkbox"/> Necrótica
Conteúdo	<input type="checkbox"/> Repleta <input type="checkbox"/> Vazia/Flácida
<input type="checkbox"/> Bile normal (fluído)	<input type="checkbox"/> Bile espessada <input type="checkbox"/> Cálculos <input type="checkbox"/> Trematódeos
Quantidade de cálculos/trematódeos _____	
Lesões ?	<input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim (úlceras / hiperemia / estrias / outros _____)
COLÉDOCOS	<input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Dilatado <input type="checkbox"/> Parede espessada <input type="checkbox"/> Mucosa hiperêmica <input type="checkbox"/> _____

MACROSCOPIA PÂNCREAS

Peso (g) :				
COR	<input type="checkbox"/> NORMAL (Rosa acinzentado)	<input type="checkbox"/> Ictérico	<input type="checkbox"/> Pálido	<input type="checkbox"/> Congesto
Esteatose	<input type="checkbox"/> Outros _____	<input type="checkbox"/> Necrótico <input type="checkbox"/>		
TAMANHO	<input type="checkbox"/> Normal	<input type="checkbox"/> Aumentado	<input type="checkbox"/> Diminuído	
CONSISTÊNCIA	<input type="checkbox"/> Normal (Friável)	<input type="checkbox"/> Firme	<input type="checkbox"/> Duro	<input type="checkbox"/> Em autólise
SUPERFÍCIE	<input type="checkbox"/> Lisa	<input type="checkbox"/> Áspera/Granular	<input type="checkbox"/> _____	
PRESENÇA DE LESÕES?	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim (Forma, cor, tamanho, consistência, superfície, margens, distribuição)		

PRESENÇA DE TREMATÓDEOS NAS VIAS BILIARES?	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não		
Intensidade Parasitária	<input type="checkbox"/> Baixa	<input type="checkbox"/> Moderada	<input type="checkbox"/> Alta	
Lesões ?	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim (úlceras / hiperemia / estrias / outros _____)		

APÊNDICE B – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS MICROSCÓPICOS

FICHA DE AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA (Warren et al., 2010)

Nº identificação _____ Sexo _____
 Faixa etária _____ Pelagem _____
 Positivo para *P. fastosum*? Não SIM (Ovos / parasitas adultos)
 Carga parasitária _____ Vesícula; _____ ducto cístico; _____ intra-hepático;
 Quadro clínico _____

HISTOLOGIA FÍGADO

- 1) Inflamação Predominantemente Mononuclear Polimorfonuclear Mista
 Infiltrado polimorfonuclear nos lumens biliares
 Grau 0 (sem inflamação; <5 céls inflamatórias/área portal; maioria dos tratos sem infiltrados)
 Grau 1 (inflamação leve; >5 e <20 céls inflamatórias/adventícia da área portal; envolvimento inconsistente de triades portais)
 Grau 2 (inflamação moderada; >20 e <75 céls inflamatórias/adventícia da área portal; afetando a maioria das triades portais)
 Grau 3 (inflamação grave; >75 céls inflamatórias/adventícia da área portal; envolvimento difuso das triades portais)
- 2) Fibrose Grau 1 (sem fibrose)
 Grau 2 (fibrose leve; TC distribuído irregularmente ao redor das triades portais, sem septos)
 Grau 3 (fibrose moderada; TC distribuído difusamente ao redor das triades, presença de septos, ausência de pontes)
 Grau 4 (fibrose severa; TC distribuído difusamente ao redor das triades, presença de pontes e nódulos)
- 3) Proliferação ductular (pd) Grau 1 (1-2 ductos biliares/área portal)
 Grau 2 (pd leve; 2-3 ductos biliares/área portal)
 Grau 3 (pd moderada; 4-6 ductos biliares/área portal)
 Grau 4 (pd severa; > 7 ductos biliares/área portal)
- CONCLUSÃO NORMAL Colangite neutrofílica Colangite linfocítica
 Colangite destrutiva Colangite crônica associada a Pf
 Outros _____

HISTOLOGIA DE VESÍCULA BILIAR (Sripa et al., 2003)

Table 1
Main histopathologic features of the gallbladder diseases and grading criteria

Histopathology	Grading criteria
1. Inflammation	0 = minimal, 1 = mild (chronic), 2 = moderate (chronic), 3 = severe chronic inflammation with lymphoid aggregation, 4 = acute inflammation
2. Mucous gland hyperplasia	0 = absent, 1 = one group of mucous gland, 2 = two or more groups, 3 = numerous
3. Mucosal atrophy or hyperplasia	0 = atrophy, 1 = no atrophy or hyperplasia, 2 = mild, 3 = moderate to severe hyperplasia
4. Goblet cell metaplasia	0 = absent, 1 = single or discrete groups, 2 = two or more groups, 3 = diffuse
5. Rokitansky–Aschoff sinus	0 = absent, 1 = one sinus, 2 = two or more sinuses, 3 = numerous
6. Fibrosis	0 = absent, 1 = mild, 2 = moderate, 3 = severe fibrosis with smooth muscle hypertrophy
7. Epithelial dysplasia	0 = absent, 1 = small foci, 2 = two or more foci, 3 = diffuse
8. Carcinoma	1 = primary carcinoma, 2 = metastatic carcinoma

ANEXO A – Protocolo de aprovação de projeto no Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal do Ceará



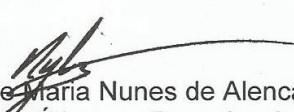
Universidade Federal do Ceará
Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA
Rua: Coronel Nunes de Melo, 1127 Rodolfo Teófilo
Cep: 60430-970 Fortaleza-CE
Tel: (85) 3366.8331 Fax: (85) 3366.8333

DECLARAÇÃO

Declaramos que o protocolo para uso de animais em experimentação nº40/14, sobre o projeto intitulado: “PREVALÊNCIA E PATOGÊNESE ASSOCIADAS À INFECÇÃO NATURAL POR PLATYNOSOMUM FASTOSUM (DIGEA: DICROCOELIDADE) EM GATOS DOMÉSTICOS NAS CIDADES DE FORTALEZA E MARACANAÚ. CEARÁ”, de responsabilidade de Luciano Pamplona de Goes Cavalcanti, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Declaramos ainda que o referido projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA – em reunião realizada em 16 de maio de 2014.

Fortaleza, 26 de maio de 2014.


Profa. Dra. Nylane Maria Nunes de Alencar
Coordenadora da Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA

ANEXO B – Termo de cooperação com a Secretaria de Saúde de Maracanaú para realização da pesquisa



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE SAÚDE COMUNITÁRIA

Fortaleza, 24 de fevereiro de 2014.

De: Programa de Pós-graduação em Patologia/UFC
Para: Secretário Municipal de Saúde de Maracanaú
Senhor Francisco Torcápio Vieira da Silva

Assunto: Solicitação de colaboração em Projeto de Pesquisa

Caro Senhor Francisco Torcápio Vieira da Silva,

Estou orientando a aluna **Roberta da Rocha Braga** (médica veterinária) no mestrado em Patologia da Universidade Federal do Ceará, com o trabalho intitulado: “*Prevalência e patogênese associadas à infecção por Platynosomum fastosum (Digenea: Dicrocoeliidae) em gatos domésticos*”.

Para realização desse trabalho precisaremos de uma importante cooperação com o Centro de Controle de Zoonoses de Maracanaú (CCZ), com a realização de necropsias de gatos domésticos; assunto esse já tratado pessoalmente com a veterinária responsável pelo local.

Para o desenvolvimento do projeto está previsto o acompanhamento das eutanásias habituais de gatos domésticos no CCZ, com necropsias subsequentes, pelo período de 15 meses, a contar do mês de abril/2014, quando deve ser realizado o piloto do protocolo, ou do primeiro mês subsequente à aprovação do projeto junto ao Comitê de Ética em Uso de Animais da Universidade Estadual do Ceará (CEUA-UECE).

Desta forma e acreditando que seremos atendidos, me coloco à disposição para esclarecer os aspectos que forem necessários. Quaisquer esclarecimentos adicionais, favor entrar em contato direto comigo (99878969) ou com a responsável pelo Projeto, a Médica Veterinária Roberta Rocha (99779704).

Atenciosamente,

Prof. Dr. Luciano Pamplona de Góes Cavalcanti
Departamento de Saúde Comunitária da UFC

*Ciente
de torcão 26/03/14*
PREFEITURA MUNICIPAL DE MARACANAÚ
SECRETARIA DE SAÚDE
Francisco Torcápio Vieira da Silva
SECRETARIO DE SAÚDE

ANEXO C – RESOLUÇÃO CFMV N° 1000, 11/05/2012.

Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências.

O CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA - CFMV -, no uso das atribuições lhe conferidas pelo artigo 16, alínea ‘f’, da Lei nº 5.517, de 23 de outubro de 1968,

considerando que a eutanásia é um procedimento clínico e sua responsabilidade compete privativamente ao médico veterinário;

considerando a competência do CFMV em regulamentar, disciplinar e fiscalizar o exercício da Medicina Veterinária;

considerando a crescente preocupação da sociedade quanto à eutanásia dos animais e a necessidade de uniformização de metodologias junto à classe médico-veterinária;

considerando a diversidade de espécies envolvidas nos procedimentos de eutanásia e a multiplicidade de métodos aplicados;

considerando que a eutanásia é um procedimento necessário, empregado de forma científica e tecnicamente regulamentada, e que deve seguir preceitos éticos específicos;

considerando que os animais submetidos à eutanásia são seres sencientes e que os métodos aplicados devem atender aos princípios de bem-estar animal,

RESOLVE:

Art. 1º Instituir normas reguladoras de procedimentos relativos à eutanásia em animais.

Art. 2º Para os fins desta Resolução, eutanásia é a indução da cessação da vida animal, por meio de método tecnicamente aceitável e cientificamente comprovado, observando os princípios éticos aqui definidos e em outros atos do CFMV.

CAPÍTULO I

DAS DISPOSIÇÕES GERAIS

Art. 3º A eutanásia pode ser indicada nas situações em que:

I - o bem-estar do animal estiver comprometido de forma irreversível, sendo um meio de eliminar a dor ou o sofrimento dos animais, os quais não podem ser controlados por meio de analgésicos, de sedativos ou de outros tratamentos;

II - o animal constituir ameaça à saúde pública;

III - o animal constituir risco à fauna nativa ou ao meio ambiente;

IV - o animal for objeto de atividades científicas, devidamente aprovadas por uma Comissão de Ética para o Uso de Animais - CEUA;

V - o tratamento representar custos incompatíveis com a atividade produtiva a que o animal se destina ou com os recursos financeiros do proprietário.

Art. 4º São princípios básicos norteadores dos métodos de eutanásia:

I - elevado grau de respeito aos animais;

II - ausência ou redução máxima de desconforto e dor nos animais;

III - busca da inconsciência imediata seguida de morte;

IV - ausência ou redução máxima do medo e da ansiedade;

V - segurança e irreversibilidade;

VI - ausência ou mínimo impacto ambiental;

VII - ausência ou redução máxima de risco aos presentes durante o procedimento;

VIII - ausência ou redução máxima de impactos emocional e psicológico negativos no operador e nos observadores;

Art. 5º É obrigatória a participação do médico veterinário na supervisão e/ou execução da eutanásia animal em todas as circunstâncias em que ela se faça necessária.

Art. 6º O médico veterinário responsável pela supervisão e/ou execução da eutanásia deverá:

I - possuir prontuário com os métodos e técnicas empregados, mantendo estas informações disponíveis para fiscalização pelos órgãos competentes;

II - garantir o estrito respeito ao previsto no artigo 4º;

III - ser responsável pelo controle e uso dos fármacos empregados;

IV - conhecer e evitar os riscos inerentes do método escolhido para a eutanásia;

V - prever a necessidade de um rodízio profissional, quando houver rotina de procedimentos de eutanásia, com a finalidade de evitar o desgaste emocional decorrente destes procedimentos;

VI - garantir que a eutanásia, quando não realizada pelo médico veterinário, seja executada, sob supervisão deste, por indivíduo treinado e habilitado para este procedimento;

VII - esclarecer ao proprietário ou responsável legal pelo animal, quando houver, sobre o ato da eutanásia;

VIII - solicitar autorização, por escrito, do proprietário ou responsável legal pelo animal, quando houver, para a realização do procedimento.

Art. 7º Os animais deverão ser submetidos à eutanásia em ambiente tranquilo e adequado, respeitando o comportamento da espécie em questão.

Art. 8º No que se refere à compra e armazenamento de fármacos, saúde ocupacional e a eliminação de despojos, a eutanásia deve seguir a legislação vigente;

Art. 9º Os animais submetidos à eutanásia por métodos químicos não podem ser utilizados para consumo, salvo em situações previstas na legislação específica.

CAPÍTULO II

DOS PROCEDIMENTOS

Art. 10. A escolha do método dependerá da espécie animal envolvida, da idade e do estado fisiológico dos animais, bem como dos meios disponíveis para a contenção dos mesmos, da capacidade técnica do executor, do número de animais e, no caso de experimentação ou ensino, do protocolo de estudo, devendo ainda o método ser:

I - compatível com os fins desejados e de acordo com o Anexo I desta Resolução;

II - seguro para quem o executa;

III - realizado com o maior grau de confiabilidade possível, comprovando-se sempre a morte do animal, com a declaração do óbito emitida pelo médico veterinário responsável;

Art. 11. Em situações onde se fizer necessária a indicação da eutanásia de grande número de animais, seja por questões de saúde pública ou por questões diversas, aqui não contempladas, a prática da eutanásia deverá adaptar-se a esta condição, seguindo sempre os métodos indicados para a espécie em questão, como previsto no Anexo I desta Resolução.

Art. 12. Nas situações em que o objeto da eutanásia for o ovo embrionado, deve-se seguir o que está previsto no Anexo I desta Resolução.

Art.13. A eutanásia de animais geneticamente modificados (AnGMs) deverá seguir o previsto no Anexo I desta Resolução, atentando para o estabelecido na Resolução CFMV nº 923, de 13 de novembro de 2009 e outras legislações pertinentes.

CAPÍTULO III

DOS MÉTODOS ACEITÁVEIS

Art. 14. Os métodos de eutanásia aceitáveis e aceitos sob restrição encontram-se listados no Anexo I desta Resolução.

§ 1º Para os fins desta Resolução, métodos aceitáveis são aqueles que, cientificamente, produzem uma morte humanitária, quando usados como métodos exclusivos de eutanásia.

§ 2º Para os fins desta Resolução, métodos aceitos sob restrição são aqueles que, por sua natureza técnica, ou por possuírem um maior potencial de erro por parte do executor, ou por apresentarem problemas de segurança, ou por qualquer motivo não produzam uma morte humanitária. Tais métodos devem ser empregados somente diante da total impossibilidade do uso dos métodos aceitáveis, constantes do Anexo I desta Resolução.

Art. 15. São considerados métodos inaceitáveis:

I - embolia gasosa;

II - traumatismo craniano;

III - incineração in vivo;

IV - hidrato de cloral para pequenos animais;

V - clorofórmio ou éter sulfúrico;

VI - descompressão;

VII - afogamento;

VIII - exsanguinação sem inconsciência prévia;

IX - imersão em formol ou qualquer outra substância fixadora;

X - uso isolado de bloqueadores neuromusculares, cloreto de potássio ou sulfato de magnésio;

XI - qualquer tipo de substância tóxica, natural ou sintética, que possa causar sofrimento ao animal e/ou demandar tempo excessivo para morte;

XII - eletrocussão sem insensibilização ou anestesia prévia;

XIII - qualquer outro método considerado sem embasamento científico.

Parágrafo único. A utilização dos métodos deste artigo constitui-se em infração ética, e os casos omissos devem ser tratados como previsto no artigo 14.

Art. 16. A não observância das regras e princípios definidos nesta Resolução sujeitará o médico veterinário a responder processo ético profissional.