

**HISTOPATOLOGIA COMPARATIVA EM FÍGADOS DE BOVINOS, BUBALINOS E OVINOS
INFECTADOS POR *Fasciola hepatica***
(*Hepatopathology of infection by Fasciola hepatica in cattle, buffaloes and sheep*)

BOSTELMANN, S.C.W.¹; LUZ, E.²; THOMAZ SOCCOL, V.²; CIRIO, S.M.³

¹Setor de Ciências Agrárias, UFPR;

²Departamento de Patologia Básica, UFPR;

³Curso de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias e Ambientais, PUC-PR.

RESUMO – Através técnicas de rotina para histopatologia foram examinados fígados de bovinos, bubalinos e ovinos infectados por *Fasciola hepatica*. As colorações utilizadas foram Hematoxilina-Eosina, Tricrômico de Schorr, Tricrômico de Mallory e Azul de Toluidina. As principais lesões observadas foram cortes de parasitas em ductos biliares, fibrose portal, hiperplasia de ducto biliar, fibrose de parede de ducto biliar e infiltração por linfócitos, plasmócitos, eosinófilos e neutrófilos. Lesões de ductos biliares mais calibrosos são observados mais acentuadamente em bovinos e bubalinos que em ovinos. No entanto, a eosinofilia está presente de forma mais acentuada em ovinos que nas demais espécies. Comparando os resultados obtidos, conclui-se que a fasciolose em bovinos e bubalinos se trata de uma doença crônica. Nos ovinos o predomínio de eosinófilos caracteriza fase inicial de fasciolose crônica.

Palavras Chave: *Fasciola hepatica*, Histopatologia, Ovinos, Bovinos, Bubalinos.

ABSTRACT – A histopathological study on hepatic lesions caused by *Fasciola hepatica* has been carried out three domestic ruminants: cattle, buffalo's and sheep. Liver samples were processed by routine histological methods. The staining procedures included hematoxinil-eosine, Schorr (triple staining), Mallory (triple staining) and toluidine blue. The most frequent lesions found were the following ones: parasite sections inside the billiary ducts, portal system fibrosis and billiary duct hyperplasia. Lymphocytes, plasmocytes, eosinophils and neutrophils, characteristics of a chronic disease, were found in bovines and bubalines. The presence of eosinophils in sheeps was characteristic of the initial phase of a chronic fascioliasis.

Key Words: *Fasciola hepatica*, Histopathology, sheep, cattle, bubaline.

Introdução

A fasciolose hepática é uma helmintose causada por parasita do filo Plathelminthes, classe Trematoda, sub-classe Digenae, família Fasciolidae gênero *Fasciola*. Este trematoda acomete o fígado e as vias biliares de muitas espécies de animais domésticos e selvagens, ocasionando prejuízo econômico à pecuária mundial devido à condenação de fígados nos abates. Igualmente, ocorrem queda de produção do rebanho, qualidade do leite, perda de peso, assim como, atraso no crescimento e eleva o custo terapêutico no tratamento de freqüentes infecções bacterianas secundárias (HAIBA e SELIM, 1960; DAWES e HUGHES, 1964; UENO, 1979; BECK, 1984). A fasciolose também é considerada uma importante zoonose (SERRA-FREIRE, 1995).

Esta helmintose tem distribuição mundial, principalmente em regiões onde as condições climáticas são adequadas para os moluscos aquáticos do gênero *Lymnaea* que servem como hospedeiro intermediário para o parasita (CORRÊA, 1971; CARLTON e McGAVIN, 1990).

O parasita necessita de quatro a cinco meses para completar seu ciclo evolutivo, ou seja, para fazer seu ciclo no hospedeiro intermediário e hospedeiro definitivo. As formas imaturas de *Fasciola* permanecem no parênquima hepático durante 35-45 dias, alimentando-se de sangue e tecidos, durante sua migração causa traumatismo no fígado, e alta mortalidade, principalmente em ovinos. A fasciolose aguda é causada pela súbita invasão do fígado por um grande número de trematodas imaturos, ocasionando destruição do parênquima pela migração, insuficiência hepática e hemorragia na cavidade peritoneal, levando à hepatite aguda hemorrágica. O fígado fica aumentado e hiperêmico, com pequenas hemorragias sob a cápsula. No que se refere ao parênquima hepático

Correspondência para: Silvia Bostelmann – Departamento de Medicina Veterinária, Setor de Ciências Agrárias, UFPR.

propriamente dito, as lesões migratórias agudas tendem a ser traumáticas. No entanto, apresentam também um componente necrótico coagulativo importante, provavelmente correlacionado a algum agente toxigênico liberado pelo parasita. Microscopicamente, estes túneis mostram hepatócitos degenerados e preenchidos com sangue e detritos, além de pigmentos sangüíneos e eosinófilos. Posteriormente ocorre reparação tecidual com cicatrização, por tecido de granulação (BORDIN, 1995; CARLTON e McGAVIN, 1990).

No caso dos animais resistirem à fase inicial, o parasita alcançará o ducto biliar, atingindo o estágio adulto, manifestando-se gradativamente, os sinais clínicos da fasciolose crônica à medida que aumentam em tamanho (UENO, 1979).

Autores descrevem a fasciolose em bovinos, bubalinos e ovinos a nível mundial principalmente no que se refere a eco-epidemiologia destacam-se NEVEU LEMAIRE, 1936; CRAIG e FAUST, 1945; GIOVANNONI e KUBIAK, 1947; SINCLAIR, 1967; REZENDE *et al.*, 1973; AMATO *et al.*, 1982; BUSETTI *et al.*, 1981; FERNANDES e HAMANN, 1985; SUAZO *et al.*, 1989; SERRA-FREIRE e NUERNBERG, 1992; MATTOS *et al.*, 1997.

Em relação à patologia poucos são os trabalhos que abordam esta doença. Por esta razão o presente trabalho tem como objetivo estudar comparativamente os aspectos microscópicos das lesões causadas por *Fasciola hepatica* em fígados de bovinos, bubalinos, e ovinos provenientes de abate para consumo.

Material e Métodos

Animais. Os bovinos e bubalinos eram provenientes de matadouros e frigoríficos oficialmente inspecionados na cidade de São José dos Pinhais e Bocaiúva do Sul, ambas no Estado do Paraná. Os animais da espécie bubalina eram oriundos da cidade de Morretes e São José dos Pinhais. Os fígados da espécie ovina foram coletados em pequenas propriedades na cidade de Quatro Barras e Fazenda Rio Grande, Paraná.

Amostragem. Foram analisados quatro fígados de cada espécie acima citada, infectados por *Fasciola hepatica*, comprovado por exame macroscópico.

Histopatologia. Os cortes de fígados das três espécies foram fixados em solução de formol a 10% por 24 horas. Após a fixação, foi desidratado, diafanizado, incluído em parafina

e realizado cortes de cinco micrômetros e em seguida corados. As colorações utilizadas foram Hematoxilina-Eosina, Tricrômico de Schorr, Tricrômico de Mallory e Azul de Toluidina. (BÜCHERL, 1965). Para o estudo histopatológico, foram confeccionadas 100 lâminas nas colorações propostas.

Resultados

Bovinos. Os cortes histológicos dos fígados dos bovinos apresentavam ductos biliares dilatados, com fibrose de parede e presença de cortes de *Fasciola hepatica* adulto íntegro. Em um dos fígados, o parasita na luz do ducto, apresentava-se degenerado e o conteúdo parcialmente calcificado e observado também calcificação de parede. Em todos os cortes histológicos havia ainda detritos celulares na luz. As paredes dos ductos mais calibrosos eram espessadas, com formações acinares irregulares compostas por epitélio colunar alto, distribuídas no terço médio da parede, infiltradas por linfócitos, plasmócitos, eosinófilos e mastócitos. Internamente o epitélio de revestimento dos ductos apresentavam áreas de necrose ou eram ausentes de forma focal. No terço externo da parede do ducto havia infiltração linfoplasmocitária e neutrofílica escassa.

Em todos os fígados existia hiperplasia de ductos biliares em espaços porta e proliferação de tecido conjuntivo fibroso. A infiltração por linfócitos, plasmócitos, neutrófilos e eosinófilos variava de moderada a intensa, com presença de mastócitos. Em dois fígados havia necrose focal com presença de macrófagos e poucos eosinófilos. Em um dos fígados existia área de necrose antiga com tecido de granulação e macrófagos com hemossiderina. Observava-se também a presença de fibrose difusa. As principais lesões e intensidades das mesmas estão descritas no TABELA 1.

Bubalinos. Nos cortes histológicos dos fígados dos bubalinos existiam ductos dilatados com corte de parasita em todos os fígados estudados. As paredes eram espessadas e apresentavam, a partir da porção média interna, formações acinares revestidas por epitélio colunar alto e infiltradas por linfócitos, plasmócitos e eosinófilos. Adjacente aos ductos, havia necrose moderada do parênquima. O revestimento interno dos ductos estava ausente na maior parte dos cortes. Em alguns ductos, com corte de parasita,

observava-se infiltração linfoplasmocitária com localização periductal, variando de moderada a intensa. A hiperplasia de ductos biliares em espaços porta era de forma leve. O infiltrado inflamatório nos espaços porta era de leve a moderado, composto por linfócitos, plasmócitos e

eosinófilos. O grau de fibrose neste local também variava de leve a moderado, existindo ainda edema (TABELA 1). As artérias das tríades portais apresentavam deposição de colágeno na parede e estenose. Fibrose difusa não foi observada nos fígados estudados.

TABELA 1 – RESULTADOS COM CLASSIFICAÇÃO DE ESCORE EM BOVINOS, BUPALINOS E OVINOS, CURITIBA, 1999.

| Lesões | Bovinos | | | | Bupalinos | | | | Ovinos | | | |
|--|---------|------|------|------|-----------|------|------|------|--------|------|------|------|
| | BV-1 | BV-2 | BV-3 | BV-4 | BB-1 | BB-2 | BB-3 | BB-4 | OV-1 | OV-2 | OV-3 | OV-4 |
| Cortes de parasitas em ductos biliares | P | 0 | P | P | P | P | P | P | P | P | P | 0 |
| Fibrose de espaço Porta | +++ | + | ++ | +++ | + | + | + | ++ | ++ | + | + | + |
| Hiperplasia dos ductos biliares | +++ | ++ | ++ | ++ | + | + | + | + | ++ | + | + | + |
| Fibrose de parde de ducto biliar | ++ | + | + | + | ++ | +++ | ++ | ++ | + | 0 | + | + |
| Infiltração por linfócitos e plasmócitos | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | + | ++ | ++ | + | ++ | + |
| Infiltração por neutrófilos | + | + | + | ++ | 0 | 0 | 0 | + | +++ | 0 | ++ | ++ |
| Infiltração por eosinófilos | + | + | + | + | + | + | + | + | +++ | +++ | +++ | +++ |
| Presença de Mastócitos | P | P | P | P | P | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Estenose de vasos | 0 | 0 | 0 | 0 | P | P | P | P | P | P | P | 0 |
| Tecido de Granulação | P | P | P | P | 0 | 0 | 0 | 0 | P* | P | P | P |
| Áreas de necrose | P | P | P | P | P | P | P | P | P | P | P | P |
| Fibrose difusa | P | P | P | P | 0 | 0 | 0 | 0 | P | P | P | 0 |
| Lesão de ductos biliares calibrosos: | | | | | | | | | | | | |
| - Formações acinares | P | P | P | P | P | P | P | P | 0 | 0 | 0 | 0 |
| - Necrose do epitélio de revestimento | P | P | P | P | P | P | P | P | 0 | 0 | 0 | 0 |
| - Infiltração por células inflamatórias | P | P | P | P | P | P | P | P | 0 | 0 | 0 | 0 |

Escore: Leve: +Moderada: ++Severa: +++Ausente: 0 Presente: P.
Em Ov-1 há presença de ovos do parasita na reação granulomatosa.

Ovinos. Três dos fígados analisados de ovinos apresentavam corte de parasita íntegro na luz dos ductos biliares. A parede dos ductos era espessada por tecido fibroso e isenta de epitélio de revestimento interno. Alguns ductos apresentavam hiperplasia do epitélio de revestimento com formação de pregas. Adjacente aos ductos afetados existia necrose de hepatócitos. Nos quatro fígados observavam-se áreas irregulares de necrose com hemorragia. Em áreas de necrose antiga havia reação granulomatosa com presença de células gigantes multinucleadas e macrófagos com hemossiderina. Em um dos fígados ovos do parasita estavam envoltos pelo tecido de granulação. A fibrose e hiperplasia de ductos biliares em espaços porta variava de leve a moderada. Em três fígados foi observado estenose de vasos da tríade portal (TABELA 1). Havia intensa infiltração eosinofílica em espaços porta, com arterite e flebite e hiperplasia de ductos biliares em um dos fígados, em outro fígado observavam-se edema no espaço porta e presença de focos linforreticulares distribuídos difusamente no parênquima.

Discussão

Na fasciolose a ação do parasito sobre o tecido do hospedeiro é evidenciada pelos danos hepatobiliares. A resposta do hospedeiro ao parasita ocorreu por reações fibrocelulares. Nos cortes histológicos dos fígados estudados estavam presentes cortes de *Fasciola hepatica* adulto nos ductos biliares nas três espécies estudadas, o que caracteriza uma fasciolose crônica, dados também observados por outros autores (SINCLAIR, 1967; FREIRE, 1967; DOW *et al.*, 1968; BARNOUIN *et al.*, 1981; PESSÔA e MARTINS, 1982; RICKARD e FOREYT, 1992; RAMOS *et al.*, 1993; BORDIN, 1995). O parasita é encontrado no interior de ductos biliares causando angiocolite crônica, com dilatação da luz e fibrose da parede (PESSÔA e MARTINS, 1982; SERRA-FREIRE, 1995; CARLTON e McGAVIN, 1990). A colangite crônica e a obstrução levam à ectasia e estenose dos ductos biliares, bem como a uma fibrose

periductular que produz espessamento das paredes ductais (CARLTON e McGAVIN, 1990). Neste estudo, a fibrose de espaço porta foi observada em bovino e ovino. Nesta última espécie animal a fibrose aumenta com a progressão da doença (DOW *et al.*, 1967). A fibrose no espaço porta dos fígados dos bibalinos mostrou-se de forma leve. Estas lesões também foram observadas por RUSHTON e MURRAY, 1977; RICKARD e FOREYT, 1992; SADJJADI e ORYAN, 1997.

A hiperplasia de ductos biliares, em espaços porta, trata-se de uma alteração proeminente na fasciolose crônica. Tais observações são compatíveis com as que descrevem DOW 1968; SIQUEIRA *et al.*, 1970-71; SANTOS, 1979; RICKARD e FOREYT, 1992; SADJJADI *et al.*, 1997.

RICKARD e FOREYT, 1992, através de experimento em lhamas e ovinos, relatam semelhanças com relação ao grau de hiperplasia de ductos biliares em fígados dessas duas espécies, o qual era similar ao descrito para fasciolose crônica em ovinos e bovinos. Nesta última espécie ela é mais evidente a partir da 8^a semana pós-infecção (ROSS *et al.*, 1966). Em infecção experimental de ovinos por *Fasciola hepatica*, DOW *et al.*, 1967; afirmam que a hiperplasia de ductos biliares ocorreu a partir de 24 a 30 semanas pós-infecção, sendo mais acentuada com aproximadamente 11 semanas pós-infecção.

A idade de abate de bovinos, no Estado do Paraná, é de aproximadamente 36 meses, a de bibalinos está entre 24 a 30 meses, e a dos ovinos em torno de seis meses. É possível que a diferença observada, com relação a hiperplasia de ductos biliares, esteja relacionada com o período de evolução da doença. De acordo com MACEDO (1987); um grande obstáculo que se encontra para a identificação da fasciolose em ovinos é que a maioria dos animais são abatidos sem fiscalização nas propriedades rurais e poucos são abatidos em frigoríficos ou matadouros com os devidos exames do Serviço de Inspeção, são jovens e ainda não foram contaminados pela doença.

Áreas de necrose no parênquima hepático estavam presentes nos bovinos, bibalinos e ovinos, mas sem evidência de túneis de hepatócitos degenerados e preenchidos com sangue e detritos, além de pigmentos sangüíneos e eosinófilos, os quais caracterizam fasciolose aguda como descrevem BORDIN (1995) e CARLTON e McGAVIN (1990).

Nos bovinos estudados, a necrose era

variável. Segundo ROSS *et al.*, 1966, a necrose focal com presença de macrófagos e poucos eosinófilos ocorre entre 5 a 6 semanas pós-infecção, a qual foi observada em dois dos fígados parasitados. O mesmo autor descreve área de necrose com tecido de granulação e fibrose difusa entre 7 e 8 semanas pós-infecção, como foi observado nos outros dois fígados dos bovinos do presente estudo.

A necrose observada nos bibalinos é aquela que acontece adjacente aos ductos biliares, os quais apresentam deposição de colágeno e estenose, sem sinal de consequência da migração do parasita como cita ROSS *et al.*, 1966 em bovinos e RUSHTON e MURRAY (1977) em ovinos.

Nos ovinos estudados, a necrose observada também foi variável. RUSHTON e MURRAY, 1977, descreve áreas de necrose com hemorragia em até seis semanas pós-infecção. Tais lesões foram observadas em todos os fígados desta espécie animal. Mas, em um deles existia ainda reação granulomatosa com presença de células gigantes multinucleadas e macrófagos com hemossiderina, e em outro havia ovos de parasitas envoltos por tecido de granulação. Ambas as lesões são características de seis e trinta semanas pós-infecção, respectivamente (RUSHTON e MURRAY, 1977). A fibrose difusa esteve presente na maioria dos fígados analisados desta espécie.

A infiltração por células inflamatórias geralmente é observada em todos os casos de fasciolose desde o início da infecção hepática, variando a população de células conforme a evolução da doença (SINCLAIR, 1967; RUSHTON, 1977; RICKARD e FOREYT, 1992).

Nos bovinos os tipos celulares que predominaram nos espaços porta foram os linfócitos e plasmócitos, com menor quantidade de neutrófilos e eosinófilos. Segundo ROSS *et al.*, 1966, tais células caracterizam os períodos pós-infecção entre sete e onze semanas.

Nos bibalinos estudados a infiltração era leve a moderada por linfócitos e plasmócitos, e leve por eosinófilos. Em um dos fígados haviam raros neutrófilos, e mastócitos estavam presentes em outro.

ROSS *et al.*, 1966 descreve lesão de ductos biliares calibrosos de bovino pela *Fasciola* a partir de nove semanas pós-infecção, onde observam-se, aumento da espessura da parede, com formação de estruturas acinares irregulares na porção interna e revestida por epitélio colunar alto, além de infiltração eosinofílica da porção média externa. Nos

bovinos estudados existem numerosos ductos biliares com lesões semelhantes, havendo diferença apenas na localização das formações acinares que estariam dispostas ao longo do terço médio das paredes, com infiltração nos linfócitos, plasmócitos e eosinófilos.

Também foi observado calcificação da parede de ducto em fígado de bovino, lesão descrita por ROSS, 1966 a partir de 23 semanas pós infecção. Nos fígados dos bubalinos estudados igualmente existem formações acinares a partir da porção média interna das paredes de ductos biliares calibrosos, com infiltração por linfócitos, plasmócitos e eosinófilos, além de fibrose da parede.

Somente nos bubalinos foi observada estenose de vasos da tríade portal, lesão observada por RUSHTON e MURRAY, 1977 em ovinos a partir da primeira semana pós infecção. Esse autor descreve também arterite e flebite na tríade portal como presentes na fase inicial da infecção. Nos fígados dos ovinos estudados também foram observadas tais lesões.

Conclusões

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, chegou-se às seguintes conclusões:

- o tempo de infecção no fígados de bovinos e bubalinos estudados provavelmente era superior a nove semanas, indicando uma fasciolose crônica. A presença de parasitas adultos no interior dos ductos biliares corrobora com esta observação;

- a eosinofilia observada foi maior em ovinos que em bovinos e bubalinos, o que leva a concluir que a fasciolose em ovinos estava mais próxima da fase crônica inicial;

- o grau de fibrose da parede dos ductos biliares dos bovinos e bubalinos é maior que dos ovinos, pela maior progressão da doença devido a idade do abate do bubalino ser entre 24 a 30 meses e do bovino 36 meses;

- ovinos foi a única espécie que apresentou ovos do parasito na reação granulomatosa, fato esse que merece maior estudo;

- as lesões nos fígados dos bubalinos são observadas com menor intensidade, em relação ao bovino e ovelha demonstrando que possivelmente há maior resistência desta espécie à ação da *Fasciola hepatica*;

- no geral as lesões observadas em espaço porta dos fígados de bovinos são mais acentuadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMATO, S.B.; REZENDE, H.E.B.; GOMES, D.C.; SERRA FREIRE, N.M.; ARAÚJO, J.L.B. Epidemiologia da fasciolose hepática no Vale do Paraíba: resultado do 1º ano de estudo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, 7, Porto Alegre, 1982, Congresso Brasileiro de Parasitologia, **Resumos**, p.35.
- BARNOUIN, J.; MIALOT M.; LEVIEUX D. Évaluation de la Pathologie hépatique des Bovins sur un Prélèvement de Sang. Relations Avec L'histopathologie **Annales de Recherches Veterinaires**, v.12, n.4, p. 363-369, 1981.
- BECK, A.H. Fasciolose em bovinos - **Revista Balde Branco**, v.231, p. 6-10, 1984.
- BORDIN, E.L. Revisão da anatomia patológica da fasciolose bovina, **A Hora Veterinária**, n.1, p.33-35, 1995.
- BÜCHERL, W. **Técnica Microscópica**. São Paulo: Polígrano. 3 ed. 1965, 502p.
- BUSETTI, E.T.; PASKE, A.; GARCIA, E. Incidência parasitária em *Bubalus bubalis*. **Arquivo de Biologia e Tecnologia**, v.24, n.3, p.397-398, 1981.
- CARLTON, W.W.; McGAVIN, M.D. **Patologia veterinária especial de Thomson**, Porto Alegre Artmed, 2 ed. 1990. 753p.
- CORRÊA, O. **Doenças parasitárias dos animais domésticos**, Porto Alegre, Sulina, 1971, 348 p.
- CRAIG, C. F.; FAUST, E.C. **Parasitologia Clínica**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1945, 882 p.
- DAWES, B.; HUGHES, D.L. Fascioliasis. The invasive stages of *Fasciola hepatica* in mammalian hosts. **Advances in Parasitology**, v.2 p. 97-165, 1964.
- DOW, C., ROSS J.G.; TODD J. R. The Pathology of experimental fascioliasis in Calves. **Journal of Comparative Pathology**. v.77, p.377-386, 1967.
- DOW, C., ROSS J.G.; TODD J.R. The histopathology of *Fasciola hepatica* infections in sheep. **Parasitology**. v.58, p.129-135, 1968.
- FERNANDES, B.F.; HAMANN, W. Considerações sobre a verminose em bovinos e bubalinos no litoral Paranaense. **Revista do Setor de Ciências Agrárias**, v.7, p.137-140, 1985.
- FREIRE, J.J. Fauna Parasitária Riograndense. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.3, n.2, p.143-158, 1967.
- GIOVANNONI, M.; KUBIAK, G.V.L. Fauna parasitológica IV: lista prévia da ocorrência de helmintos em animais domésticos. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v.2, p.225-232, 1947.
- HAIBA, M.H.; SELIM, M.K. Detailed study on the morphological status of *Fasciola* worms infesting buffaloes, cows and sheep in Egypt. **Parasitenk**, v.19, p.525, 1960.
- MACEDO, J.B.R. Os prejuízos da fasciolose para bovinos e ovinos. **Revista Dirigente Rural**, v.26, n.12, p.34-37, 1987.
- MATTOS, M.J.T.; UENO, H.; GONÇALVES, P.C. Ocorrência estacional e bioecologia de *Lymnaea columella* Say, 1817 (Mollusca, Lymnaeidae) em habitat natural no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.19, n.6, p.248-251, 1997.

- NEVEU LEMAIRE, M. *Traité d'helminthologie Médicale et Veterinaire*. Paris, Vigot Frères, 1936.
- PESSÔA, S.B.; MARTINS, A.V. *Parasitologia Médica*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 11 ed. 1982, 872p.
- RAMOS, A.M., ROMERO, H.Q., MOLINA, C.G. MARTINEZ, M.H. Frecuencia de fasciolasis através de cuatro técnicas de diagnóstico em toros sacrificados en la plaza México. *Veterinária México*, v.24, n.3, p.239-241, 1993.
- REZENDE, H.E.B.; ARAÚJO, J.L.B.; GOMES, P.A.C. Notas sobre duas espécies de *Lymnaea* Lamark, 1799, hospedeiros intermediários de *Fasciola hepatica* L. no Estado do Rio de Janeiro. (Mollusca, Gastropoda, Basommatophora, Lymnaeidae). *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, v.3, n.1, p.21-23, 1973.
- RICKARD, L.G.; FOREYT, W.J. Experimental fascioliasis in lambs. *Journal of Helminthology*, v.59, n.1, p. 140-144, 1992.
- ROSS, J.G.; TODD J.R.; DOW C. Single experimental infections of calves with the liver fluke, *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758). *Journal of Comparative Pathology*, n.76, p.67-81, 1966.
- RUSHTON, B.; MURRAY M. Hepatic pathology of a primary experimental infection of *Fasciola hepatica* in sheep. *Journal of Comparative Pathology*, v.87, p.459-470, 1977.
- SADJJADI, S.M.; TAKI, T.M.; ORYAN, A. Quantitative histopathology of liver and portal lymphnode in chronic bovine fascioliasis. *Indian Journal of Animal Sciences*, v.67, n.4, p.270-274, 1997.
- SANTOS, J.A. *Patologia especial dos animais domésticos (mamíferos e aves)*. Rio de Janeiro, Interamericana. 2 ed. 1979, 576 p.
- SERRA-FREIRE, N.M.; NUERNBERG, J. Geopolitical dispersion of the occurrence of *Fasciola hepatica* in the state of Santa Catarina, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.87, p.263-269, 1992.
- SERRA-FREIRE, N.M. Fasciolose hepatica. *A Hora Veterinária*, n.1 p.13-18, 1995.
- SINCLAIR, K.B. Pathogenesis of *Fasciola* and other liver-flukes. *Helminthological Abstracts*. v.36, n.2, p.115-134, 1967.
- SIQUEIRA, P.A.; SERRA, O.P.; ROCHA, U.F.; SERRA, R.G. Fasciolose hepática em búfalo (*Bubalus bubalis* var. *bubalis*) Linnaeu, 1758, no Estado de São Paulo - Brasil. *Boletim da Indústria Animal*. p.27-28, 1970-71.
- SUAZO, F.M.; HERNANDEZ, E.F.; SORIANO, G.F. Estudio epizootiológico de la fascioliasis en la zona centro del Estado de Guerrero. *Técnica Pecuária en México*, v.27, n.1, p.41-47, 1989.
- UENO, H. Aspectos biológicos da *Fasciola*. In: Seminário Nacional sobre Parasitoses dos bovinos, 1: Campo Grande, 1979. *Anais*. Campo Grande, EMBRAPA CNPGC, 1979, p.145-148.