

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS ÁGRARIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

LAILA MACHADO MÜLLER

**DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE LESÕES FIBRÓTICAS EM FÍGADOS
BOVINOS CONDENADOS POR FASCIULOSE EM MATADOURO FRIGORÍFICO**

ALEGRE - ES

2015

LAILA MACHADO MÜLLER

**DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE LESÕES FIBRÓTICAS EM FÍGADOS
BOVINOS CONDENADOS POR FASCIULOSE EM MATADOURO FRIGORÍFICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Diagnóstico e Terapêutica das Enfermidades Clínico-cirúrgicas.
Orientador: Profa. Dra. Louisiane de Carvalho Nunes

ALEGRE - ES

2015

LAILA MACHADO MÜLLER

**DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE LESÕES FIBRÓTICAS EM FÍGADOS
BOVINOS CONDENADOS POR FASCIULOSE EM MATADOURO
FRIGORÍFICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Diagnóstico e Terapêutica das Enfermidades Clínico-cirúrgicas.

Aprovada em 28 de julho de 2015

COMISSÃO EXAMINADORA



Prof^a. Dra. Louisiane de Carvalho Nunes
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientadora



Prof^a. Dra. Isabella Vilhena Freire Martins
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof. Dr. Julio Lopes Sequeira
Universidade Estadual Paulista

À Paloma, minha amada filha.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Angela Maria Machado Ferraz Müller e Arnildo Arno Müller, meus exemplos de determinação e força. Sempre me ajudaram em tudo para que eu pudesse estudar e concluir minhas atividades, sempre dizendo para eu não desistir. Nenhuma palavra ou atitude de gratidão será suficiente para retribuir a benignidade de vocês em minha vida e nada em minha vida seria possível sem o apoio, incentivo e amor incondicional que me foi proporcionado. Meu eterno “obrigada”, amo vocês!

À Paloma Müller Carreiro, minha filha linda, meu amor maior. Dedico este trabalho a ela também, pois veio ao mundo para me ajudar na superação de limites, trouxe mais ânimo à minha vida e me deu forças para concluir este trabalho. Nos dias de maior dificuldade, os sorrisos, abraços e o carinho recebido foram essenciais para me fazer querer ir cada vez mais longe.

Agradeço à minha orientadora, professora doutora Louisiane de Carvalho Nunes, pela infindável paciência, consideração, pela sabedoria e conhecimento transmitidos que ficarão especialmente guardados.

Ao meu namorado Bruno Camata Andreon, que tanto amo, que em inúmeras vezes foi meu porto seguro. Cada palavra dita, cada conselho dado para me fazer superar os momentos difíceis tornaram-se motivo para admiração cada vez maior. Sempre me apoiando em toda minha caminhada, ajudou-me a chegar até aqui.

Aos meus amados irmãos, Felipe Machado Müller e Tulio Machado Müller pelo apoio e companheirismo. À minha cunhada, Mariana Drummond Costa Ignacchiti, pelas dicas, amizade e à minha sobrinha linda, Helena Ignacchiti Müller, com sua alegria, trazendo descontração.

Aos animais, em especial aos bovinos, que, sem eles, nada deste trabalho poderia ter sido realizado.

À UFES, por me proporcionar a oportunidade de concluir um curso de pós-graduação.

Às empresas Cofril e Frigofal e seus funcionários, que cordialmente me receberam e ajudaram na realização deste trabalho.

Às professoras doutoras Isabella Vilhena Freire Martins e Jankerle Neves Boeloni, pelas ideias, conselhos e ensinamentos compartilhados.

Um agradecimento especial a amiga Lidiany Lopes Gomes, pela amizade,

pela ajuda nos estudos pré-prova, risadas e companheirismo.

A todos os colegas do laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Espírito Santo, agradeço especialmente a Letícia Uzai, Giuliano Failla, Natalia Tamiasso, Adriano Stelzer e Vanessa Zanotti, que contribuíram diretamente nas minhas atividades, no laboratório e/ou na realização do meu experimento.

Ao professor e amigo mestre Antonio Calais, pela ajuda com minhas lâminas e pelas válidas dicas.

Aos meus colegas do mestrado, pelos momentos de descontração, pelas festas, e àqueles que sempre se dispuseram a me ajudar, em especial ao amigo Leandro Egert.

Aos colegas do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Espírito Santo, Tarcísio Ávila, Kamilla Beatriz, Priscila Lorenzoni e Braulio Faria que foram prestativos e me ajudaram em coletas nos matadouros frigoríficos.

Agradeço a toda minha família, minha vó querida, Paulina Machado, tias, tios, primas e primos que estão distantes, mas que amo muito e sempre desejaram a minha felicidade, meu sucesso e realização profissional.

A todos os meus amigos do peito, principalmente àqueles que estiveram presentes durante a minha caminhada, me apoiando, e que estão especialmente guardados no meu coração.

Agradeço a Deus pela vida e pela oportunidade de concluir mais uma etapa.

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original”

Albert Einstein

RESUMO

MÜLLER, LAILA M. **Diagnóstico diferencial de lesões fibróticas em fígados bovinos condenados por fasciolose em matadouro frigorífico**. 2015. 50p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2015

A fasciolose bovina apresenta alta prevalência na região sul do Espírito Santo e uma das principais características deste processo é a fibrose hepática. Em matadouros frigoríficos é comum a condenação de fígados que apresentam fibrose por fasciolose, mesmo na ausência do parasito. Objetivou-se com este estudo realizar o diagnóstico diferencial de lesões fibróticas em fígados bovinos condenados por esta enfermidade. Foram avaliados macro e microscopicamente fígados bovinos condenados por fasciolose no Sul do Estado do Espírito Santo e consideradas as variáveis: infiltrado inflamatório, fibrose, metaplasia mucoide e macrófagos espumosos nas regiões periportais. Utilizou-se estatística descritiva e teste de Qui-quadrado seguido do teste V de Cramer a 5% de probabilidade. No total, 28 fígados foram analisados e revelaram fibrose periportal e infiltrado inflamatório linfocítico predominantemente discretos. Também se verificou inflamação eosinofílica, predominantemente intensa. Os macrófagos espumosos foram observados em 25% dos casos e a metaplasia mucoide em 39,28%. Houve associação significativa entre fibrose e infiltrado inflamatório linfocítico e vice-versa, entre fibrose e macrófagos espumosos e vice-versa e entre metaplasia e infiltrado inflamatório eosinofílico. Conclui-se com este estudo que a fibrose e o infiltrado inflamatório são as alterações mais frequentes em fígados condenados por fasciolose. Contudo, a fibrose hepática também está associada à presença de macrófagos espumosos, que pode ser decorrente de outras enfermidades. Assim, a fibrose, isoladamente, não deveria ser utilizada como um critério para condenação por fasciolose. Por outro lado, a metaplasia mucoide é uma alteração frequente em animais com esta doença e poderia ser considerada como um critério de julgamento pela histopatologia.

Palavras-chave: condenação de fígados; *Fasciola hepatica*, fibrose hepática; macrófagos espumosos

ABSTRACT

MÜLLER, LAILA M. **Differential diagnosis of fibrotic lesions in bovine livers condemned by fasciolosis in slaughterhouse.** 2015. 50p. Dissertation (Master of Veterinary Science) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2015

Bovine fasciolosis is highly prevalent in the southern region of the Espírito Santo and the major feature of this process is liver fibrosis. In slaughterhouses condemnation of livers by fasciolosis is common even in the absence of the parasite, taking into consideration only the fibrosis. The aim of this study was to carry out the differential diagnosis of fibrotic lesions in bovine livers condemned by *Fasciola hepatica*. Bovine livers condemned by fasciolosis in the southern state of Espírito Santo were evaluated macro- and microscopically and the considered variables were: inflammatory infiltrate, fibrosis, mucoid metaplasia and foam cells in the periportal regions. Descriptive statistics and chi-square test followed by Cramer's V test at 5% probability were performed. In total, 28 livers were analysed and revealed periportal fibrosis and lymphocytic inflammatory infiltrate predominantly discrete. It was also found eosinophilic inflammation, predominantly intense. Foam cells were observed in 25% of the cases and mucoid metaplasia in 39.28%. There was a significant association between fibrosis and lymphocytic inflammatory infiltrate and vice versa and between metaplasia and eosinophilic inflammatory infiltrate. It can be concluded that fibrosis and inflammatory infiltrate are the most frequent changes in livers condemned by fasciolosis. Nonetheless liver fibrosis is also associated with the presence of foam cells which may be due to other diseases. Thus, fibrosis alone should not be used as a criterion to condemnation by fasciolosis. On the other hand, the mucoid metaplasia is a frequent change in animals with this disease and it could be considered as a criterion of judgment by histopathology.

Key words: *Fasciola hepatica*; foam cells; liver fibrosis; liver condemnation

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Fotomacrografia de fígado condenado por fasciolose em matadouro frigorífico do município de Atílio Vivácqua revelando cordões brancacentos com depressão de parênquima (setas) e espessamento de ducto biliar (setas tracejadas). Fonte: arquivo pessoal.25
- Figura 2 - Fotomacrografia de fígado condenado por fasciolose revelando espessamento de ductos biliares (setas) em matadouro frigorífico do município de Atílio Vivácqua.....26
- Figura 3 - Fotomicrografia de fígado condenado por fasciolose revelando fibrose periportal discreta (grau 1), infiltrado inflamatório discreto (+) e proliferação e hiperplasia de ductos biliares. Coloração de hematoxilina e eosina (Barra=50µm) ..27
- Figura 4 - Fotomicrografia de fígado condenado por fasciolose revelando fibrose periportal difusa e intensa (grau 3) com divisão do parênquima em lóbulos, infiltrado inflamatório moderado (++) e proliferação de ductos biliares. Coloração de hematoxilina e eosina (Barra=100µm)27
- Figura 5 - Fotomicrografia de fígado condenado por fasciolose revelando grupo de macrófagos espumosos (seta) contendo cristais refringentes no interior do citoplasma. Coloração de hematoxilina e eosina. (Barra=50µm).30
- Figura 6 - Fotomicrografia de fígado condenado por fasciolose com células gigantes multinucleadas contendo cristais refringentes no interior do citoplasma (círculo). Coloração de hematoxilina e eosina. (Barra=20µm).30
- Figura 7 - Fotomicrografia de fígado condenado por fasciolose revelando ducto biliar com hiperplasia epitelial e metaplasia mucoide, circundados por abundante tecido conjuntivo fibroso. Coloração de hematoxilina e eosina (Barra=200µm).32
- Figura 8 - Fotomicrografia de fígado condenado por fasciolose revelando ducto biliar com metaplasia mucoide e intenso infiltrado inflamatório eosinofílico. Coloração de hematoxilina e eosina (Barra=50µm).32
- Figura 9 - Fotomicrografia de fígado condenado por fasciolose revelando ducto biliar com metaplasia mucoide intensa (setas) e infiltrado eosinofílico intenso. Coloração de hematoxilina e eosina (Barra=50µm).33

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Valores percentuais dos graus de fibrose encontrados nos fígados bovinos condenados por fasciolose no Sul do Espírito Santo, 2014.	25
Gráfico 2 - Valores percentuais da intensidade do infiltrado inflamatório linfocítico encontrado nos fígados bovinos condenados por fasciolose no Sul do Espírito Santo, 2014	29
Gráfico 3 – Valores percentuais da intensidade dos macrófagos espumosos encontrados nos fígados bovinos condenados por fasciolose no Sul do Espírito Santo, 2014.....	31
Gráfico 4 – Valores percentuais da intensidade da metaplasia mucoide encontrada nos fígados bovinos condenados por fasciolose no Sul do Espírito Santo, 2014.....	33

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	10
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1.	Principais causas de condenação de fígados em matadouro frigorífico	12
2.1.1.	Telangiectasia	13
2.1.2.	Peri-hepatite	14
2.1.3.	Abscesso hepático	14
2.1.4.	Fibrose e cirrose.....	15
2.1.5.	Esteatose hepática	17
2.1.6.	Cistos congênitos e parasitários	18
2.1.7.	Migração larvar de parasitos	18
2.1.8.	Fasciiose	18
3.	DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS PARA CONDENAÇÃO POR FASCIOLOSE	19
3.1.	Intoxicação por plantas hepatotóxicas como <i>Brachiaria</i> spp.	20
4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	23
5.	RESULTADOS	25
6.	DISCUSSÃO	35
7.	CONCLUSÃO.....	40
8.	REFERÊNCIAS	41

1. INTRODUÇÃO

A bovinocultura é uma atividade de grande importância para o Brasil, visto que o país possui o segundo maior rebanho efetivo do mundo e desenvolve dois segmentos muito lucrativos, as cadeias produtivas da carne e leite.

Por conta do importante papel nutricional na alimentação humana, a produção de carne bovina e seus subprodutos é um segmento promissor, apesar dos problemas sanitários existentes.

Em matadouros frigoríficos, estes problemas são minimizados pela acurácia da inspeção *post mortem*, realizada pelo médico veterinário. Desta forma, o conhecimento das alterações possui um efeito sanitário em identificar, selecionar, realizar o diagnóstico e destinar da melhor forma o produto para que se evitem enfermidades que possam afetar a espécie humana durante o consumo. Na inspeção *post mortem*, todos os órgãos e tecidos são examinados macroscopicamente, o que possibilita melhor identificação de lesões.

Dentre as condenações de órgãos realizadas pelo serviço de inspeção sanitária em matadouros frigoríficos, o fígado encontra-se entre as vísceras com maior percentual de descarte. Esse órgão é afetado por diversas enfermidades e, quando condenado, constitui um prejuízo econômico direto para a indústria frigorífica.

No Brasil existem diversas causas de condenação de fígados em matadouros frigoríficos sendo as afecções mais frequentes: telangiectasia, hepatite, peri-hepatite, fasciolose, hidatidose e tuberculose e, ainda, abscesso, cirrose e esteatose.

A fasciolose, uma doença parasitária que acomete fígados de bovinos, é de alta prevalência na região sul do Espírito Santo. As lesões desse parasitismo incluem necrose e hemorragia nas infecções agudas e cirrose hepática nas infecções crônicas e, na maioria das vezes, podem ser confundidas macroscopicamente com outras doenças crônicas do fígado, como por exemplo, a intoxicação por *Brachiaria* spp.

Com relação às lesões macroscópicas que caracterizam o processo de

fasciolose em matadouros frigoríficos, destaca-se a fibrose. Assim, muitos fígados que apresentam lesões fibróticas mesmo na ausência do parasito são condenados por fasciolose.

Acredita-se que uma das dificuldades enfrentadas pelos inspetores oficiais em estabelecimentos de abate tem sido relacionada à falta de segurança em diagnosticar algumas doenças e, em seguida, estabelecer o destino apropriado e confiável para as carcaças e vísceras desses animais.

Desta forma, nota-se em estudos de prevalência em matadouros frigoríficos a superestimação de dados sobre determinadas doenças. Na região sul do Espírito Santo, por exemplo, a fasciolose mostra-se endêmica sendo responsável por cerca de 25% das condenações de fígados. Embora o destino de vísceras condenadas seja o descarte, a realização de estudos que visem melhorar os diagnósticos diferenciais para condenações, bem como o estabelecimento de novos critérios poderia minimizar erros de condenação e dados epidemiológicos equivocados.

Estudos nesta linha também são de grande importância para os criadores, que, por meio do diagnóstico correto, poderão implementar melhores medidas de manejo e controle das doenças nas propriedades e reduzir as perdas econômicas por conta do descarte de órgãos durante o abate.

Diante do exposto, objetivou-se com este estudo realizar o diagnóstico diferencial de lesões fibróticas em fígados bovinos condenados por fasciolose em matadouro frigorífico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A bovinocultura é uma atividade de grande importância para o Brasil, visto que o país detém o segundo maior rebanho efetivo do mundo e desenvolve dois segmentos muito lucrativos, as cadeias produtivas da carne e leite. O valor bruto da produção desses dois segmentos, estimado em R\$ 67 bilhões, aliado a presença da atividade em todos os estados brasileiros, evidenciam a importância econômica e social da bovinocultura em nosso país. O consumo per capita de carne bovina no Brasil chega a 37,4 kg (MAPA, 2015).

Segundo Fruet et al. (2013), o fígado, subproduto da cadeia produtiva de carnes, contribui para o rendimento financeiro de vísceras em matadouros frigoríficos provavelmente por conta do seu elevado peso e, constataram que o fígado foi o órgão com maior percentagem de condenação.

Vieira et al. (2011) observaram um grande número de condenações hepáticas em um matadouro frigorífico do Sul do Estado do Espírito Santo, durante os anos de 2008, 2009 e 2010. Dos 102.492 animais abatidos nos três anos, 44.587 apresentaram lesões hepáticas, totalizando uma condenação de 43,5%.

2.1 Principais causas de condenação de fígados em matadouro frigorífico

No Brasil, diversas causas são apontadas para a condenação de fígados em matadouros frigoríficos, sendo as afecções mais frequentes: telangiectasia, hepatite, peri-hepatite, fasciolose, hidatidose e tuberculose (WILSON, 1970; SANTOS, 1986; HERENDA et al., 1994). Outros trabalhos incluem outras causas, como abscesso, cirrose e esteatose (RIBEIRO, 2011).

2.1.1 Telangiectasia

A telangiectasia é uma alteração comum em fígados bovinos, caracterizada por áreas focalmente extensas, em que sinusóides estão dilatados e repletos de sangue, apresentando regiões escuras de dimensões variáveis no parênquima hepático (McGAVIN; ZACHARY, 2012).

O fígado todo pode ser comprometido por esta alteração, sendo identificada por áreas em depressão, vermelho escuras, irregulares, mas bem delimitadas, variando o tamanho entre lesões puntiformes até alguns centímetros. As manchas escuras visíveis à superfície do órgão quando da inspeção post mortem estão disseminadas pelo parênquima. Ao corte representam uma cavidade onde o sangue estagnou e, microscopicamente, aparece rodeada por pouco estroma e alguns hepatócitos atrofiados (STALKER; HAYES, 2007).

Estudos discutem que a telangiectasia maculosa pode ter diversas causas, como necrose hepatocelular, malformação congênita com ramificações anormais das veias centrolobulares ou das sub-lobulares, retorno a uma estrutura embrionária, hepatite focal necrótica, distúrbio circulatório causado por compressão esplênica, redução da densidade das fibras de reticulina, e conseqüente, redução da resistência trabecular à pressão intrasinusoidal e também a remoção de hepatócitos por células mononucleares presentes em reações inflamatórias (MARCATO et al., 1998). Segundo estes mesmos autores, lesões de pré-telangiectasia aparecem como áreas contíguas às de telangiectasia que apresentam dilatação sinusoidal de duas a quatro vezes maior que o normal, com aumento do lúmen, desorganização hepatocitária, dilatação do espaço de Disse e disjunção do endotélio sinusoidal, com evidência de discreta fibrose perisinusoidal.

Trabalhos citando o estudo desta alteração em bovinos abatidos demonstram taxas de condenações que vão desde 1,6% (VECHIATO, 2009) a 41,61% (BONESI et al., 2003).

2.1.2 Peri-hepatite

Coelho (2002) definiu a peri-hepatite como sendo uma inflamação do invólucro fibroso do fígado, que pode ser acompanhado por inflamação do peritônio. Pode ocorrer também por contiguidade devido à peritonite aguda e, neste caso, a serosa que reveste o fígado é contaminada, tornando-se espessa e podendo aderir-se às outras vísceras.

Em um estudo de Silva (1996), foram avaliados 250 fígados de búfalos acometidos por peri-hepatite e macroscopicamente foram observados padrões de opacidade variável da cápsula, em extensão e intensidade e também deposição irregular de fibrina. Microscopicamente, foi encontrado discreto infiltrado focal de linfócitos e degeneração parenquimatosa que é compatível com degeneração hidrópica e deposição de fibrina no mesmo.

2.1.1. Abscesso hepático

Os abscessos hepáticos que são decorrentes de infecções bacterianas do fígado, são comuns nos bovinos em regime intensivo de engorda. Vechiato (2009) descreveu macroscopicamente esses abscessos como processos inflamatórios circunscritos, delimitados, com formação de cápsula de tecido conjuntivo fibroso, causado por bactérias.

Usualmente a hepatite bacteriana em bovinos de corte ocorre como sequela da ruminite tóxica, porque a lesão à mucosa do rumen permite que a microflora rumenal, particularmente o *Fusobacterium necrophorum* penetre na circulação portal. Após a localização inicial no fígado, proliferam bactérias e produzem áreas focais de necrose hepatocelular e hepatite, que podem, com o tempo, formar abscessos hepáticos (McGAVIN; ZACHARY, 2012).

Várias bactérias podem ser causadoras de abscessos hepáticos, sendo as anaeróbias as predominantes. Em bovinos, *Fusobacterium necrophorum* é o principal agente etiológico dos abscessos hepáticos, seguido de *Arcanobacterium pyogenes*. Têm também sido isolados *Bacteroides* sp., *Clostridium* sp., coliformes,

Mobiluncus sp., *Mitsuokella* sp., *Pasteurella* sp., *Peptostreptococcus* sp., *Porphyromonas* sp., *Prevotella* sp., *Propionibacterium* sp., *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., e outras bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (NAGARAJA; LECHTENBERG, 2007).

As bactérias podem chegar ao fígado por diversas vias: como pela veia porta, veia umbilical (recém-nascidos), artéria hepática (em caso de bacteremia), infecção ascendente do sistema biliar e migração parasitária (CULLEN, 2007). Podem ainda resultar de perfuração por corpo estranho vindo do retículo ou de invasão direta da cápsula por lesão supurada de reticulite traumática, simples ou múltipla, mas em ambos os casos se distribuem preferencialmente pelo lobo esquerdo (STALKER; HAYES, 2007).

Os abscessos hepáticos, em geral, constituem lesões incidentais, provocando perda na produção de leite e carne, assim como, menos comum, podem atingir a veia cava caudal e induzir surgimentos de trombose, levando à congestão passiva do fígado (McGAVIN; ZACHARY, 2012).

Trabalhos que envolvem o estudo desta lesão em bovinos abatidos para consumo citam taxas de condenações que vão desde 1,60% (VECHIATO, 2009) a 42,42% (BASSANI et al., 2008).

Vechiato (2009) estudando abscessos hepáticos em frigorífico paulista reporta uma vasta frequência em animais procedentes de confinamentos no Estado.

2.1.4 Fibrose e cirrose

Fibrose é a condição caracterizada por aumento do estroma conjuntivo de um órgão decorrente de cicatrização normal ou exagerada ou de um processo reacional em que a produção de matriz extracelular não está relacionada com o processo reparativo. Nas fibroses hepáticas, a matriz extracelular do fígado tem características diferentes nos espaços porta, no interior dos lóbulos e na região em torno da veia centrolobular (McGAVIN; ZACHARY, 2012).

Os componentes da matriz extracelular são sintetizados pelos fibroblastos portais (nos espaços porta), pelas células perisinusoidais armazenadoras de gordura

(células de Ito, ou células estreladas) e pelas células endoteliais dos sinusóides nos espaços de Disse e em torno da veia centrolobular. Embora os hepatócitos possam produzir componentes da matriz, especialmente glicosaminoglicanos e poliglicanos, sua contribuição para síntese da matriz é pequena quando comparada à das células estreladas (de Ito) e endoteliais (BRASILEIRO FILHO, 2006).

Por outro lado, a cirrose é o estado final de doença hepática generalizada, também conhecida como “fígado terminal” caracterizada por regeneração nodular, deposição de grande quantidade de tecido fibroso e hiperplasia de ductos biliares com remodelação da circulação sanguínea intrahepática (STALKER; HAYES, 2007). Estes autores afirmaram que os septos fibrosos têm canais vasculares, originados pelos sinusóides ou por angiogênese, o que permite a chegada de sangue aos hepatócitos. Esta vascularização é bastante deficiente porque está bastante comprimida pelo tecido fibroso que a sustenta, o que faz com que ocorra bastante resistência ao fluxo sanguíneo e, assim, se desencadeie hipertensão portal.

Miguel (2009) citou que no processo de cirrose a arquitetura do fígado está completamente alterada, e agravada pela fibrose. Macroscopicamente o órgão apresenta-se de coloração anormal (clara), bordos arredondados, presença de sulcos pronunciados na superfície do órgão, consistência aumentada e ligeiras aderências com o diafragma.

Com isto, verificam-se igualmente dificuldades na realização de trocas de nutrientes e metabólitos entre os hepatócitos e o sangue sinusoidal, devido ao aumento da matriz extracelular perisinusoidal. Os nódulos de parênquima, criados pelas tentativas de regeneração de vários hepatócitos, são compostos por trabéculas, que são aglomerações celulares com redução do espaço sinusoidal. A progressão da lesão e a reorganização constante do tecido hepático pode levar a compressão de vasos importantes, provocando isquemia na zona portal (STALKER; HAYES, 2007).

Werner (2010), abordando a regeneração hepática, citou que a mesma tem papel importante e que o fígado quando agredido, além da inflamação, responde com fibrose e proliferação de hepatócitos. A combinação desses dois processos resulta na formação de focos de hepatócitos que se multiplicaram desordenadamente, circundados por tecido conjuntivo fibroso, resultando no aspecto

encontrado macroscopicamente na inspeção.

Estudos referentes à cirrose hepática em bovinos abatidos para consumo citaram taxas de condenações que vão desde 3,46% (BAPTISTA, 2008) a 21,73% (LOCATTELI et al., 2008).

Boabaid et al. (2008) reportaram fibrose hepática em bovino abatido criado no cerrado do Estado de Mato Grosso de causa não esclarecida.

2.1.5 Esteatose hepática

A degeneração gordurosa hepática é um distúrbio metabólico, caracterizado pela presença excessiva de lipídios nas células hepáticas. Também é conhecida como lipidose hepática e fígado gorduroso e ocorre quando a velocidade de acumulação de triglicerídios dentro dos hepatócitos excede a velocidade de degradação metabólica dos triglicerídios ou de sua liberação como lipoproteínas. Com o progressivo acúmulo de lipídios, o órgão aumenta de tamanho e adquire uma coloração amarelada. Nos casos mais leves a gordura pode acumular-se apenas em porções específicas de cada lóbulo. Nos casos extremos, todo o fígado é afetado, e o órgão pode tornar-se consideravelmente distendido, e com uma textura extremamente gordurosa (BRASILEIRO FILHO, 2006).

Microscopicamente, os hepatócitos apresentam vacúolos (depósitos de lipídios) citoplasmáticos de tamanho variável, podendo ser: pequenos e múltiplos (esteatose microvacuolar) em que a célula tem a dimensão próxima do normal, o núcleo mantém a sua posição e raramente ocorre aumento de volume do fígado ou grandes e únicos, que preenchem completamente o citoplasma (esteatose macrovacuolar), sendo o núcleo empurrado para a periferia. Nestes casos, as células estão bastante aumentadas de volume, assim como todo o órgão (PIRES; TRAVASSOS; GARTNER, 2004).

Estudos acerca da esteatose hepática em bovinos abatidos citaram taxas de condenações de 1,63% (BONESI et al., 2003) e 4,3% (LOCATTELI et al., 2008).

2.1.6 Cistos congênitos e parasitários

Os cistos congênitos podem ocasionalmente ser encontrados nos fígados de todas as espécies domésticas e usualmente como achados incidentais. Originam-se dos ductos biliares intra-hepáticos e da cápsula hepática e precisam ser diferenciados dos cistos parasitários, particularmente dos cisticercos (BRASILEIRO FILHO, 2006).

A hidatidose é a doença em que o “cisto hidático” ou “hidátide” (metacestóide [forma larval] de *Echinococcus granulosus*) desenvolve-se em vários órgãos, principalmente no fígado e pulmão (BROWN et al., 2007; TAYLOR et al., 2007; BROWN, 2009).

Reis, Coelho e Manzan (2000) realizaram estudo em Uberlândia (MG) e avaliaram 31 cistos hepáticos, em que 30 (97%) foram diagnosticados como cistos congênitos e um como hiperplasia de ductos biliares. Neste estudo, nenhum cisto hidático foi encontrado, representando importante diagnóstico diferencial na região.

2.1.7 Migração larvar de parasitos

A migração de larvas de helmintos pelo fígado é um achado comum na inspeção. À medida em que as larvas migram pelo parênquima hepático produzem trajeto com necrose hepatocelular associados à inflamação. A partir daí, com o tempo, são substituídos por tecido conjuntivo que produzem cicatrizes fibrosas, principalmente na cápsula de Glisson (manchas leitosas), apresentando características de áreas pálidas. As larvas, ocasionalmente são aprisionadas no parênquima e isoladas em abscessos ou granulomas (MACLACHLAN; CULLEN, 1998).

2.1.8 Fasciolose

A fasciolose (ou distomatose hepática) é uma doença parasitária que, no

Brasil, tem como agente etiológico *Fasciola hepatica*. Fígado e vias biliares de muitas espécies animais são parasitados por *F. hepatica*, inclusive humanos. É considerado um problema de saúde pública em muitas regiões tropicais e subtropicais (ESPINOZA et al., 2010; MARCOS et al., 2007).

O parasitismo por *F. hepatica* leva a grandes prejuízos econômicos à pecuária mundial, com perdas anuais superiores a três bilhões de dólares, devido às numerosas condenações de fígados em matadouros frigoríficos (ESPINOZA et al., 2010).

De acordo com Fraga (2008), a fasciolose tem crescido no Sul do Espírito Santo, com prevalência anual em 2007 de 20%. Em um trabalho de Bernardo et al. (2011), de 110.956 bovinos abatidos entre os anos de 2006 e 2009, 27.625 fígados foram condenados por fasciolose, representando uma prevalência de 24,89%.

As alterações hepáticas crônicas causadas pela fasciolose são resultado da ação dos parasitos adultos nos ductos biliares, onde há inflamação, edema e fibrose desses ductos. Além da fibrose nos ductos, pode haver distensão, espessamento e calcificação, o que caracteriza a cirrose biliar progressiva (ADRIEN et al., 2013; BOSTELMANN et al., 2000; TESSELE; BRUM; BARROS, 2013).

Na fase crônica da fasciolose, o fígado apresenta-se pálido, com lobo ventral reduzido de tamanho. Os parasitos adultos estão presentes nos grandes ductos biliares causando colangite e colangiohepatite. A colangite crônica aliada à obstrução dos ductos biliares causam ectasia e estenose dos ductos e, fibrose periductal que torna as paredes dos ductos mais espessas e ficam assim, mais evidentes. O conteúdo no interior dos ductos distendidos é marrom (RIET-CORREA et al., 2001; CARLTON; McGAVIN, 1998). Os ductos biliares aumentam de volume, ocorrendo com frequência a hiperplasia das paredes e também calcificação das lesões tissulares (SILVA et al., 1980; BECK, 1993; BERNE, 1994).

3 DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS PARA CONDENÇÃO POR FASCILOSE

Em matadouros frigoríficos da região Sul do Espírito Santo a condenação de

fígados por fasciolose é baseada na aparência macroscópica da fibrose hepática com coloração esbranquiçada do ducto hepático principal e depressão do parênquima, com ou sem a presença de parasitos (informação verbal).

Há grande dificuldade dos inspetores oficiais em estabelecimentos de abate relacionada à segurança em diagnosticar as diversas enfermidades (FREITAS, 1999). A fibrose hepática, por exemplo, é um processo comum em várias doenças, inclusive intoxicação crônica por plantas. Desta forma, Tamiasso et al. (2015, dados ainda não publicados) citaram que por conta da semelhança entre as lesões hepáticas nos casos de intoxicação crônica por *Brachiaria* spp. e em casos de parasitismo por *F. hepatica*, erros de condenação de fígado podem estar ocorrendo em matadouros frigoríficos.

3.1 Intoxicação por plantas hepatotóxicas como *Brachiaria* spp.

A intoxicação por *Brachiaria* spp. (*B. decumbens*, *B. humidicola* e *B. brizantha*) afeta diversas espécies de animais de produção como bovinos, ovinos, caprinos, búfalos e equinos (RIET-CORREA; MÉNDEZ, 2007; ALBERNAZ et al., 2010; TOKARNIA et al., 2012). No Brasil, esta intoxicação tem sido observada principalmente em bovinos e ovinos de até dois anos de idade e raramente em animais acima desta idade (DÖBEREINER et al., 1976; NUNES, 1976; RIET-CORREA et al., 2002).

As braquiárias são capazes de provocar fotossensibilização hepatógena assim como outras plantas como *Panicum* spp., *Tribulus terrestris*, *Agave lecheguilla* e *Nartheicum ossifragum* (CRUZ et al., 2001), *Lantana* sp., *Myoporum laetum* e *Enterolobium gummiferum* (TOKARNIA et al., 2012).

Durante muito tempo acreditava-se que a esporidesmina, um metabólito do fungo *Pithomyces chartarum*, era a responsável por causar a fotossensibilização observada nos pastos de *Brachiaria* spp. Essa toxina é hepatotóxica, causa necrose hepática e acúmulo de substâncias fotossensíveis, gerando um quadro de fotossensibilização hepatógena (RUSSOMANNO et al., 2003).

A esporidesmina afeta primariamente o sistema biliar, causando uma

colangite obstrutiva, com extensa necrose na adventícia dos ductos com fibroplasia ativa e cicatrização. Ocorre proliferação de tecido conjuntivo e de ductos biliares próximo ao espaço-porta. Entretanto, os animais intoxicados por *Brachiaria* spp. no Brasil não apresentam área de necrose e fibroplasia, como descrito na lesão causada pela esporidesmina, o que leva a acreditar que o princípio ativo responsável pela intoxicação seria um componente da própria planta (TOKARNIA et al., 2012; RIET-CORREA et al., 2007).

Diversos estudos químicos sobre *Brachiaria* spp. foram realizados e vários compostos como saponinas e sapogeninas foram isolados das gramíneas (SALAM-ABDULLAH, 1992; LAJIS et al., 1993; CRUZ et al., 2000; BRUM et al., 2007, 2009), do conteúdo ruminal (SALAM-ABDULLAH, 1992; LAJIS et al., 1993; CRUZ et al., 2000) e biliar e de cristais biliares (CAMP et al., 1988; HOLLAND et al., 1991; MILES et al., 1993; CRUZ et al., 2000).

Estas saponinas esteróides são metabolizadas no rúmen em epismilagenina e episarsasapogenina, e estas são conjugadas em ácido glicurônico que se combina com sais de cálcio e forma cristais nos ductos biliares e células hepáticas (GRAYDON et al., 1991; BRUM et al., 2007).

Brum et al. (2007) observaram a presença de cristais formando imagens negativas no lúmen de alguns ductos biliares. Driemeier et al. (1999) relataram esses cristais de imagens negativas não apenas dentro de ductos biliares, mas também nos macrófagos espumosos.

As alterações histopatológicas causadas pela intoxicação por *Brachiaria* spp. são encontradas principalmente no fígado e linfonodos hepáticos e mesentéricos e podem ocorrer em animais aparentemente saudáveis, mas que estejam consumindo *Brachiaria* spp. (RIET-CORREA et al., 2007).

As áreas onde há lesão de pele caracterizam-se histopatologicamente por dermatite necrótica crônica. No fígado ocorre hepatite periportal crônica focal, com intumescimento dos hepatócitos e retenção biliar nestas células e nos canalículos biliares, aumentando o número de neutrófilos dispersos pelo parênquima hepático e nos rins, ligeiro infiltrado inflamatório mononuclear intersticial e degeneração, com ocasional hiperplasia de grupos de túbulos (BLOOD; RADOSTITS, 1991).

Hepatócitos apresentam-se com tumefação difusa, necrose individual de

células hepáticas, megalocitose, bilestase e pericolangite linfocitária de células epiteliais dos ductos biliares. No entanto, considera-se como principal alteração microscópica a presença de cristais birrefringentes nos ductos biliares e acúmulos multifocais de macrófagos espumosos (“foam cells”), alguns contendo imagens negativas de cristais acutiformes (RIET-CORREA et al., 2007).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste estudo foram avaliados fígados de bovinos condenados por fasciolose, sem a presença do parasito no momento da inspeção do órgão, em dois matadouros frigoríficos do Sul do Estado do Espírito Santo. Foram realizadas quatro visitas aos matadouros frigoríficos dos municípios de Atílio Vivácqua e Muniz Freire, ambos sob a autorização e fiscalização do Instituto de Defesa Agropecuária e Florestal do Espírito Santo (IDAF-ES).

No momento da inspeção dos fígados, todos os órgãos foram avaliados macroscopicamente e foi realizado primeiramente um corte longitudinal sobre o ducto biliar principal, para constatar se havia ou não parasitos. Em seguida, foram feitos cortes transversais em toda a extensão do parênquima para a confirmação da ausência de parasitismo, sendo selecionados os fígados que apresentavam lesões fibróticas caracterizadas por depressão do parênquima e/ou espessamento e coloração brancacenta do ducto biliar principal, formando “cordões esbranquiçados” em baixo relevo.

De cada fígado foram coletados cinco fragmentos do parênquima para análise microscópica. Os fragmentos hepáticos foram colocados em frascos de vidro de boca larga contendo formol a 10% e, em seguida, direcionados ao Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo. As amostras fixadas foram submetidas ao processamento histológico de rotina e submetidas à microtomia para a secção de cortes histológicos de cinco micrômetros de espessura e depois corados por Hematoxilina-Eosina (HE) (LUNA, 1968). Para evidenciação das lesões fibróticas, cortes do mesmo material foram corados pela técnica histoquímica de Tricrômico de Masson (LUNA, 1968).

A análise microscópica do fígado foi realizada de forma descritiva, considerando-se apenas as lesões periportais, em que foram consideradas a presença ou ausência das seguintes variáveis: infiltrado inflamatório, fibrose, metaplasia mucoide ductal, presença de macrófagos espumosos contendo cristais birrefringentes no interior dos ductos. De cada variável obteve-se a intensidade da

lesão por método subjetivo semi-quantitativo baseado em escores, a saber: (+) discreta, (++) moderada e (+++) intensa. Para a classificação do grau de fibrose utilizou-se o método citado por Oliveira, Sousa e Andrade (2004) que descreveram a fibrose grau 1 caracterizada por acúmulo de matriz extracelular discreta em volta dos espaços porta; a fibrose grau 2 com acúmulo de matriz extracelular formando septos incompletos e a fibrose grau 3 com septação completa do parênquima hepático dividindo-o em lóbulos.

Para a avaliação do infiltrado inflamatório foram utilizados critérios de Trivilin (2010), para metaplasia mucoide seguiu-se a metodologia de Paula et al. (2014) e para os macrófagos utilizou-se a descrição de Driemeier et al. (1999).

Para a avaliação estatística foi utilizado o método descritivo baseado em percentuais. Para a avaliação entre a presença de fibrose e macrófagos espumosos, fibrose e infiltrado linfocítico, fibrose e metaplasia e entre metaplasia e infiltrado eosinofílico utilizou-se o teste de Qui-quadrado seguido do teste V de Cramer a 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS

Foram coletadas amostras de 28 fígados de bovinos contendo lesões macroscópicas de fibrose e ausência do parasito *Fasciola hepatica*. Estas alterações foram observadas em 100% (28/28) dos fígados avaliados. Além disto foi possível observar atrofia do parênquima (Figuras 1 e 2).

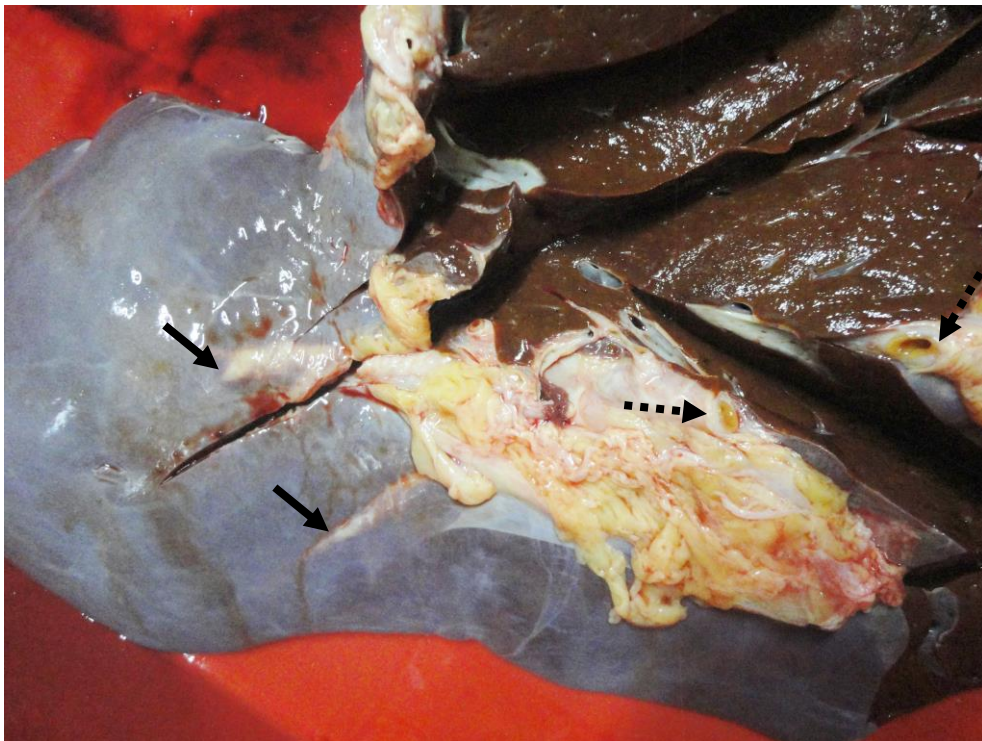


Figura 1 - Fotomacrografia de fígado condensado por fasciolose em matadouro frigorífico do município de Atílio Vivácqua revelando cordões brancacentos com depressão de parênquima (setas) e espessamento de ducto biliar (setas tracejadas).

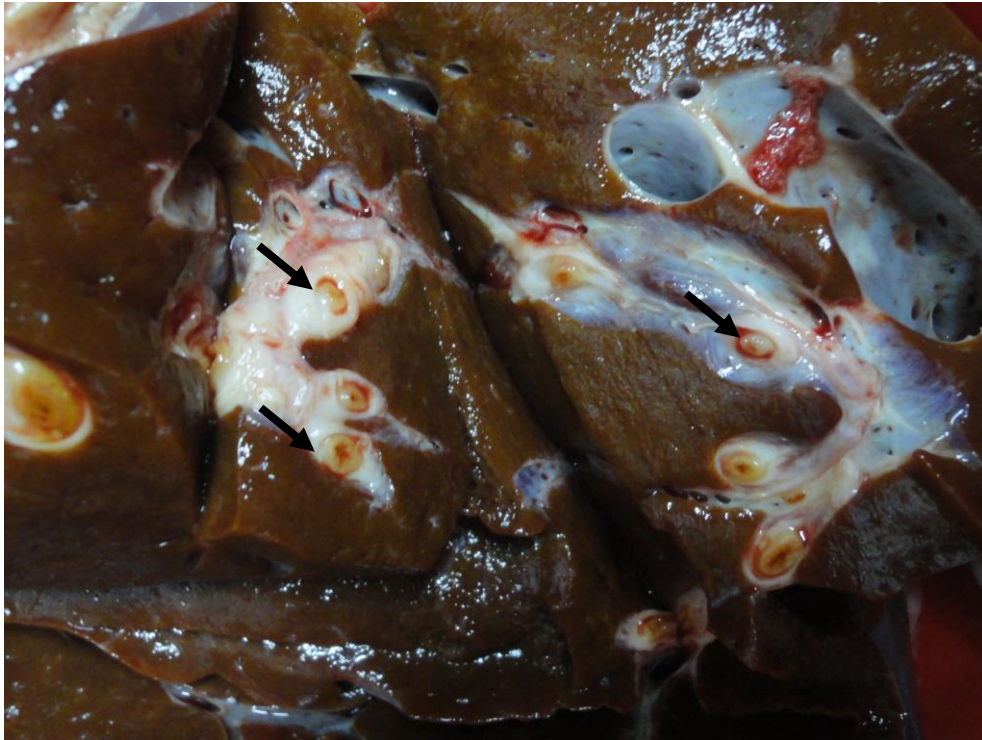


Figura 2 - Fotomacrografia de fígado condensado por fasciolose revelando espessamento de ductos biliares (setas) em matadouro frigorífico do município de Atílio Vivácqua.

Microscopicamente, 100% (28/28) dos fígados apresentaram fibrose periportal com acúmulo de matriz extracelular. Juntamente com a fibrose observou-se proliferação de ductos biliares e de vasos sanguíneos.

Com relação à intensidade da fibrose, 53,57% (15/28) apresentaram fibrose discreta (grau 1); 39,28% (11/28) apresentaram fibrose moderada (grau 2) e 7,14% (2/28) apresentaram fibrose intensa (grau 3) (Figuras 3 e 4 e Gráfico 1).

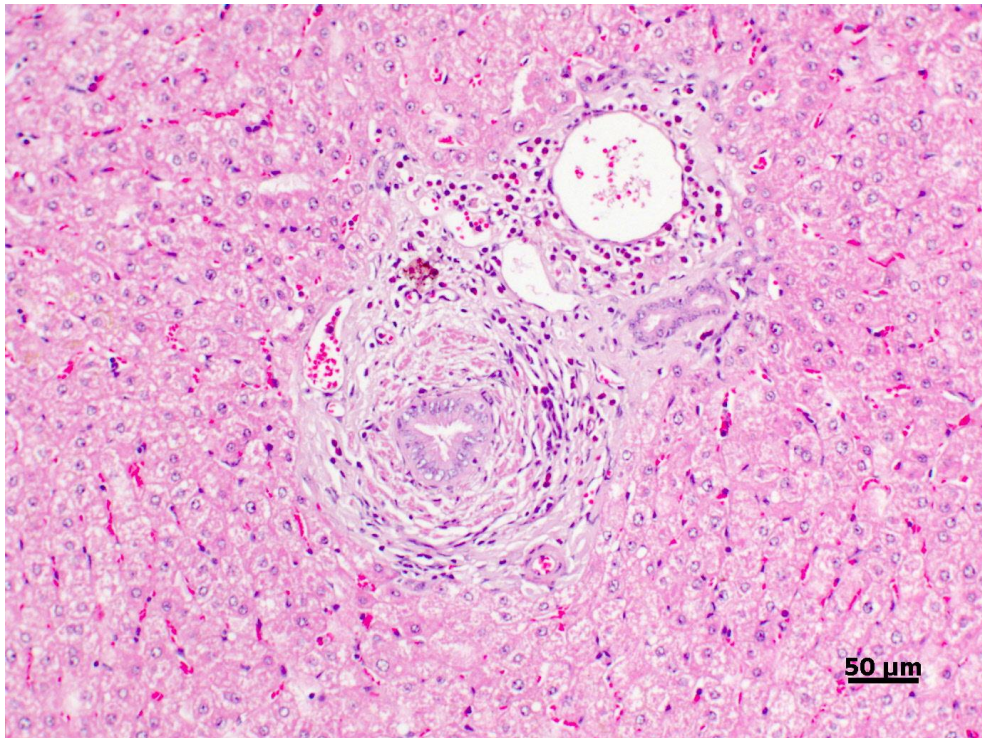


Figura 3 - Fotomicrografia de fígado condenado por fasciolose revelando fibrose periportal discreta (grau 1), infiltrado inflamatório discreto (+) e proliferação e hiperplasia de ductos biliares. Coloração de hematoxilina e eosina (Barra=50µm).

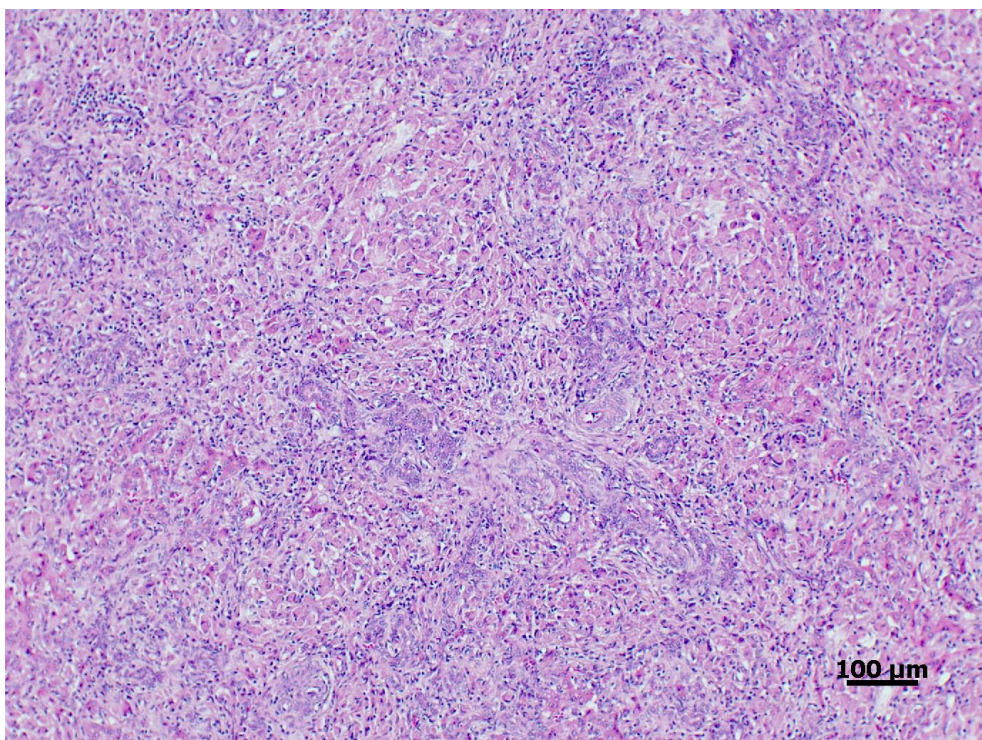


Figura 4 - Fotomicrografia de fígado condenado por fasciolose revelando fibrose periportal difusa e intensa (grau 3) com divisão do parênquima em lóbulos, infiltrado inflamatório moderado (++) e proliferação de ductos biliares. Coloração de hematoxilina e eosina (Barra=100µm).

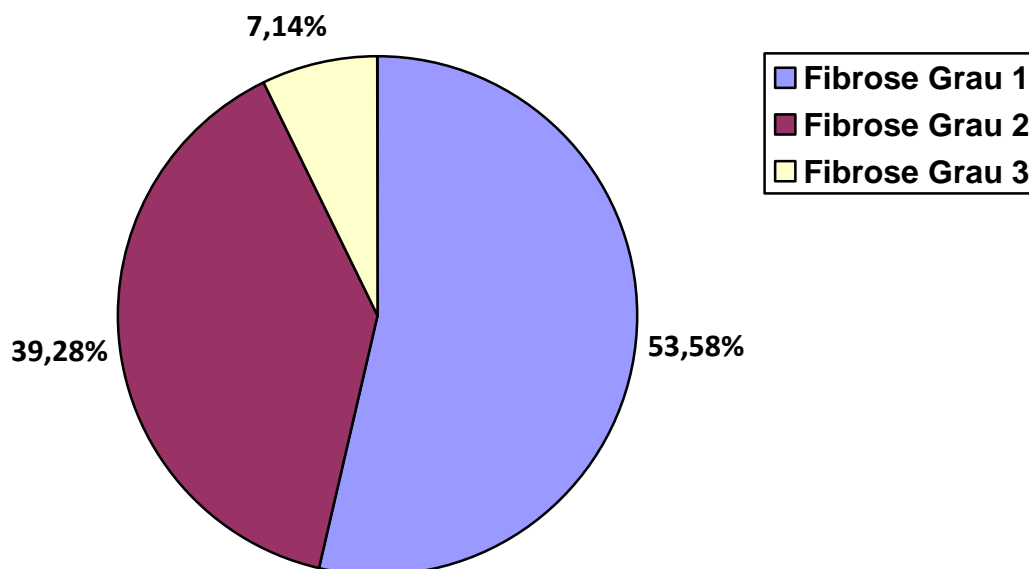


Gráfico 1 – Valores percentuais dos graus de fibrose encontrados nos fígados bovinos condenados por fasciolose no Sul do Espírito Santo, 2014.

A variável infiltrado inflamatório foi observada em 100% (28/28) dos fígados sendo o infiltrado predominante o mononuclear composto principalmente por linfócitos.

Com relação à intensidade do infiltrado linfocítico verificou-se que 46,43% (13/28) apresentaram infiltrado inflamatório discreto, 42,86% (12/28) moderado e 10,71% (3/28) intenso. Verificou-se que os ductos com infiltrado inflamatório associado também revelaram hiperplasia ductal (Gráfico 2).

Verificou-se presença de infiltrado eosinofílico em 25% (7/28). Com relação à intensidade, 28,57% (2/7) apresentaram infiltrado eosinofílico discreto, 28,57% (2/7) apresentaram infiltrado eosinofílico moderado e 42,86% (3/7) intenso.

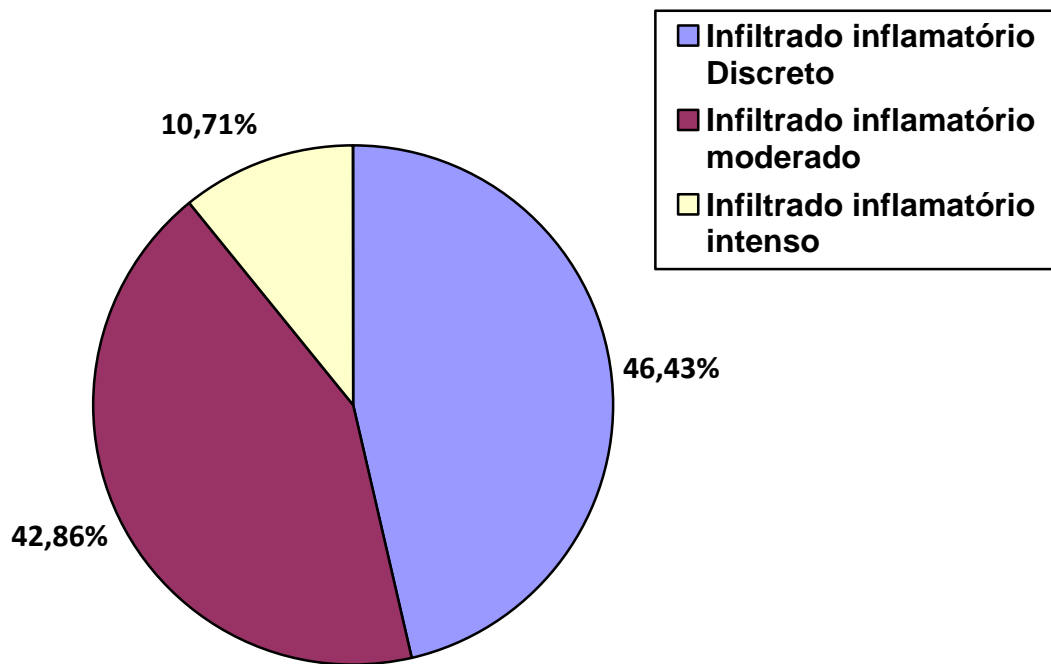


Gráfico 2 – Valores percentuais da intensidade do infiltrado inflamatório linfocítico encontrado nos fígados bovinos condenados por fasciolose no Sul do Espírito Santo, 2014.

Dos 28 fígados, 25% (7/28) apresentaram macrófagos espumosos, células gigantes multinucleadas distribuídas pelo parênquima, principalmente na região ao redor das veias centrolobulares e na zona centroacinar. No interior dos macrófagos espumosos notou-se cristais refringentes (Figuras 5 e 6). Em relação à intensidade observou-se acúmulo de macrófagos espumosos de forma discreta em 71,42% (5/7), acúmulo de macrófagos espumosos de forma moderada em 14,28% (1/7) e de forma intensa em 14,28% (1/7) (Gráfico 3).

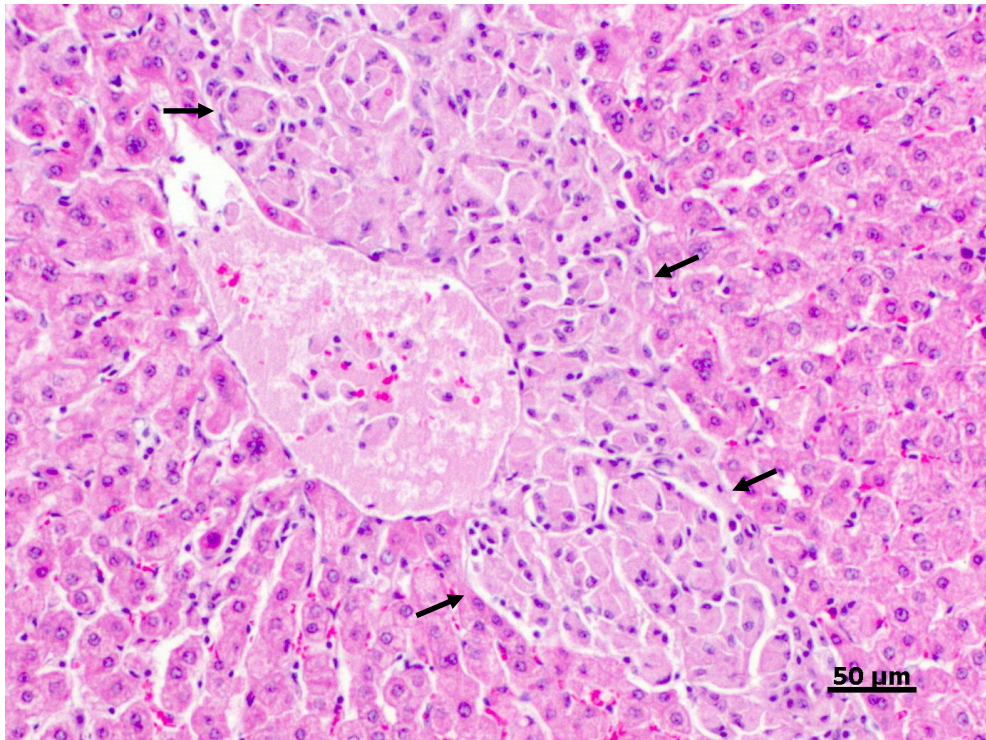


Figura 5 - Fotomicrografia de fígado condensado por fasciolose revelando grupo de macrófagos espumosos (seta). Coloração de hematoxilina e eosina. (Barra=50μm).

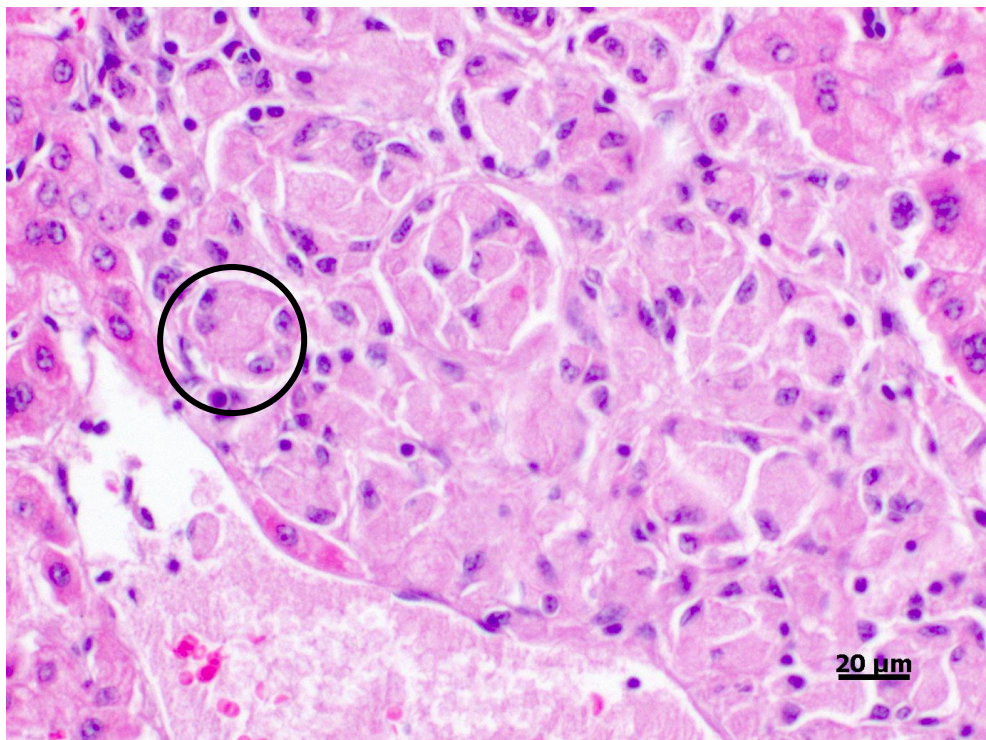


Figura 6 - Fotomicrografia de fígado condensado por fasciolose com células gigantes multinucleadas contendo cristais refringentes no interior do citoplasma (círculo). Coloração de hematoxilina e eosina. (Barra=20μm).

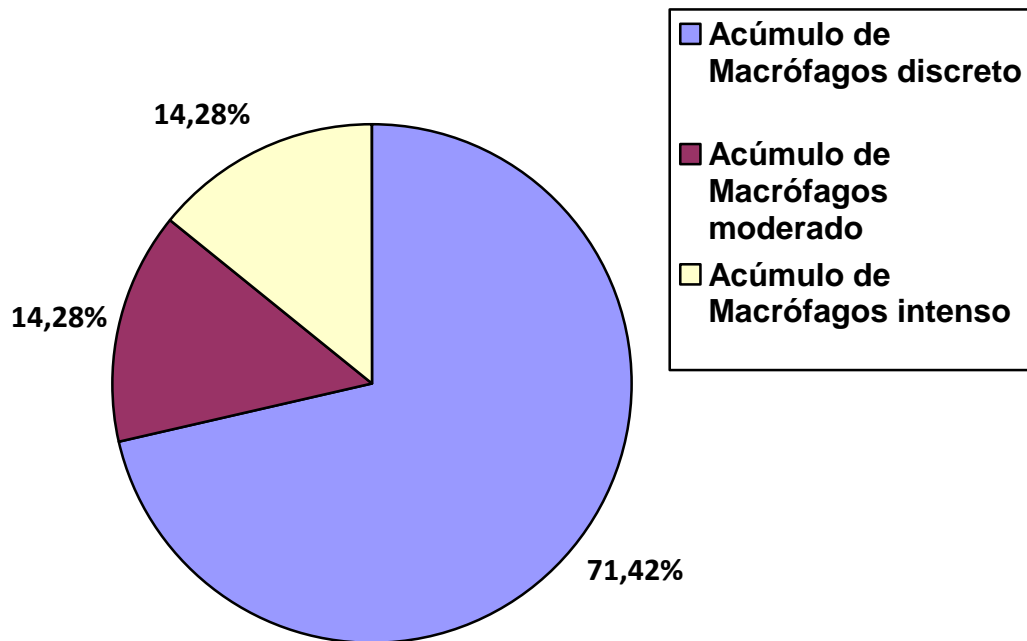


Gráfico 3 – Valores percentuais da intensidade dos macrófagos espumosos encontrados nos fígados bovinos condenados por fasciolose no Sul do Espírito Santo, 2014.

A presença de metaplasia mucoide ou intestinal foi encontrada em 39,28% (11/28) das amostras e revelaram hiperplasia do epitélio ductal, em que as paredes dos ductos mais calibrosos eram intensamente espessadas, com formações irregulares de estruturas glandulares compostas por epitélio colunar alto. Em alguns animais foi possível observar no lúmen do ducto debris celulares indicativos de restos de parasitos adultos. Em relação à intensidade da metaplasia observou-se que esta alteração foi discreta em 27,30% (3/11) das amostras, moderada em 36,35% (4/11) e intensa em 36,35% (4/11) (Figuras 7 a 9 e Gráfico 4).

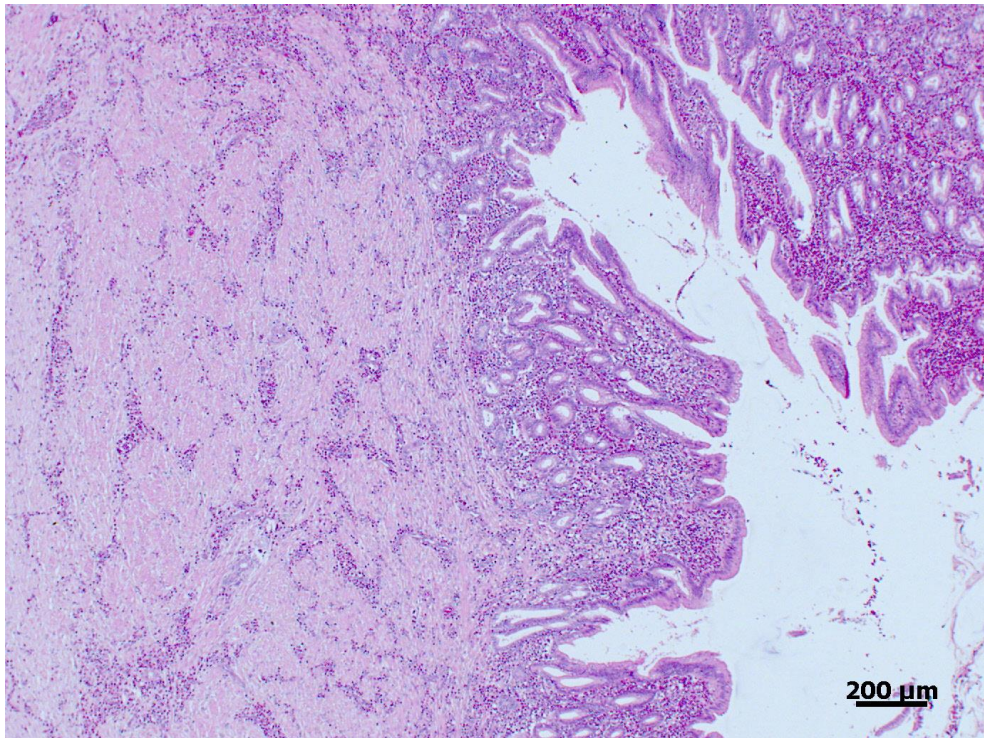


Figura 7 - Fotomicrografia de fígado condensado por fasciolose revelando fibrose grau 3 e ducto biliar com hiperplasia epitelial e metaplasia mucoide, circundados por abundante tecido conjuntivo fibroso. Coloração de hematoxilina e eosina (Barra=200μm).

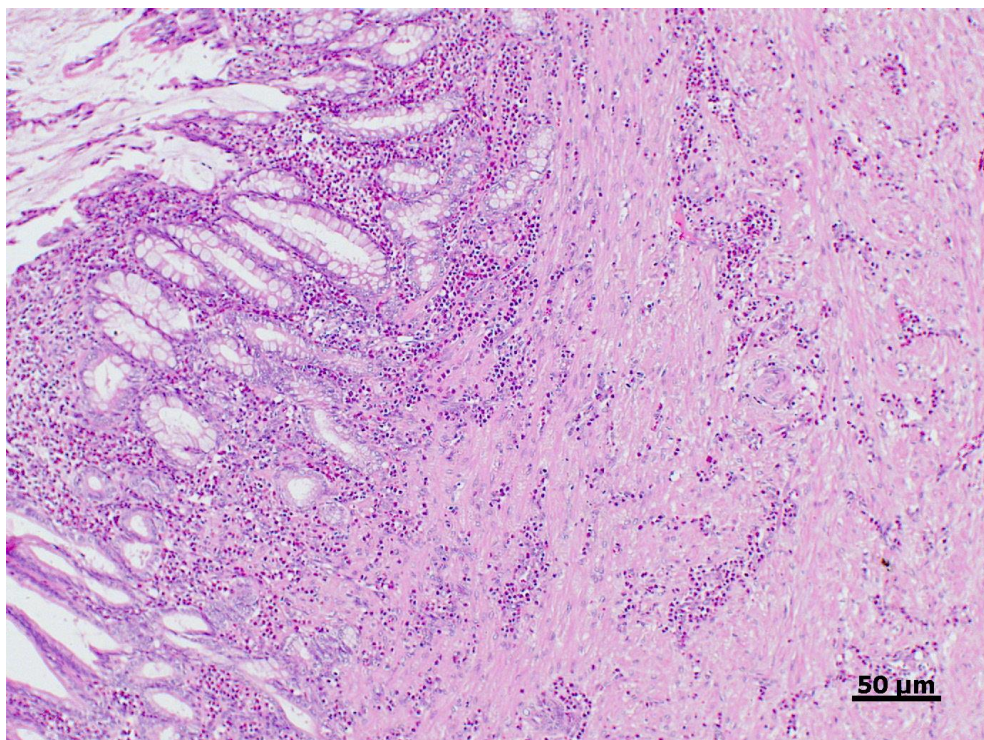


Figura 8 - Fotomicrografia de fígado condensado por fasciolose revelando fibrose grau 3, ducto biliar com metaplasia mucoide e intenso infiltrado inflamatório eosinofílico. Coloração de hematoxilina e eosina (Barra=50μm).

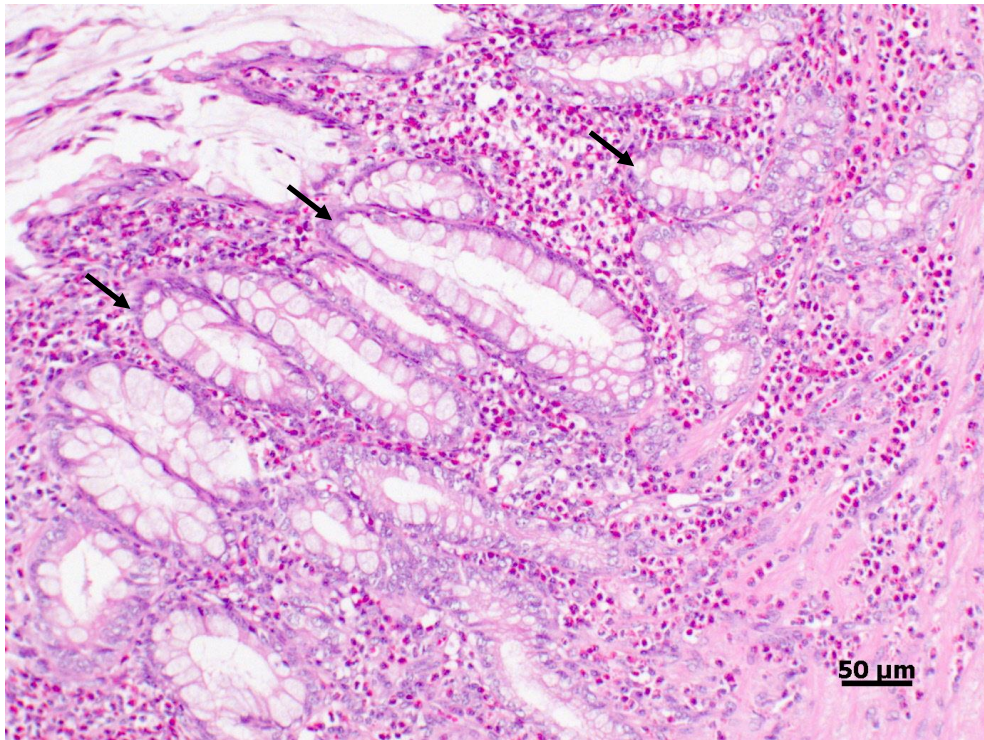


Figura 9 - Fotomicrografia de fígado condensado por fasciolose revelando fibrose grau 3, ducto biliar com metaplasia mucoide intensa (setas) e infiltrado eosinofílico intenso. Coloração de hematoxilina e eosina (Barra=50µm).

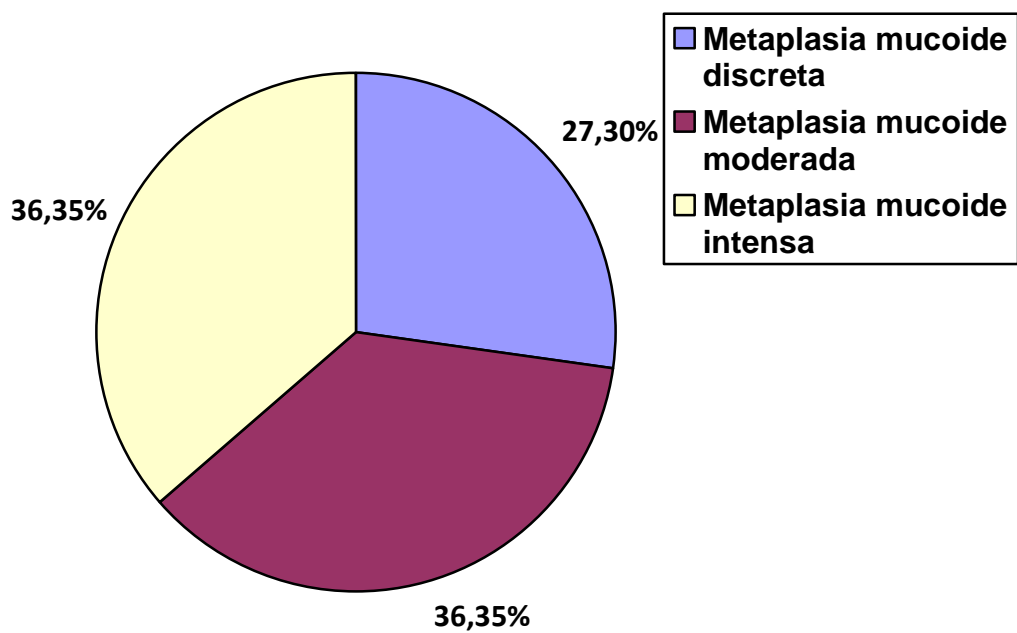


Gráfico 4 – Valores percentuais da intensidade da metaplasia mucoide encontrada nos fígados bovinos condensados por fasciolose no Sul do Espírito Santo, 2014.

Verificou-se que todos os fígados que foram condenados por fasciolose apresentaram fibrose e infiltrado inflamatório e, os que apresentaram maior grau de fibrose revelaram infiltrado inflamatório linfocítico intenso associado. Além disto, encontrou-se macrófagos espumosos nos fígados com maior grau de fibrose, entretanto, sem metaplasia mucoide.

Por outro lado, os fígados que revelaram metaplasia mucoide apresentaram infiltrado inflamatório eosinofílico variando de discreta a intensa.

Em 14,28% das amostras foi encontrada metaplasia e macrófagos espumosos concomitantemente.

A análise estatística pelo qui-quadrado revelou associação significativa entre a presença de fibrose e infiltrado inflamatório linfocítico e vice-versa ($p=0,0002$; V-Cramer=0,47). Estes dados indicam que a fibrose estava associada ao infiltrado inflamatório linfocítico.

Houve associação significativa também entre a fibrose e a presença de macrófagos espumosos e vice-versa ($p=0,019$; V-Cramer=0,27), ou seja, quando se verificava fibrose, havia também presença de macrófagos espumosos. No entanto, não houve associação significativa entre a presença de macrófagos e infiltrado linfocítico ($p=0,2341$).

Em relação à variável metaplasia verificou-se que não houve associação significativa com infiltrado inflamatório linfocítico ($p=0,051$) e entre metaplasia e fibrose ($p=0,1525$). No entanto, houve associação significativa entre a metaplasia e infiltrado inflamatório eosinofílico ($p=0,0004$; V-Cramer=0,36).

5. DISCUSSÃO

A alteração macroscópica mais marcante deste estudo foi a fibrose, também verificada por Paula et al. (2014), que observou que todos os fígados condenados por fasciolose apresentaram fibrose caracterizada por depressão do parênquima e/ou espessamento da parede dos ductos biliares maiores.

No entanto, este tipo de alteração pode ser observado tanto em animais com intoxicação por plantas hepatotóxicas quanto em animais acometidos pela fasciolose (LEMOS et al., 1998; BOSTELMANN et al., 2007; GOMAR, 2002; MUSTAFA, 2009).

Apesar de Paula et al. (2014) terem encontrado fibrose em todos os fígados analisados, cerca de 20% das vísceras não apresentaram parasito no momento da coleta não sendo esclarecida a causa de fibrose nesses fígados.

Estes achados servem para confirmar que esta alteração macroscópica do órgão, sozinha, não deveria ser utilizada como diagnóstico definitivo de fasciolose em matadouros frigoríficos uma vez que diversas doenças causam fibrose hepática.

Microscopicamente, a fibrose também foi uma alteração marcante neste estudo. Entretanto, verificou-se maior prevalência de fibrose grau 1, ou seja, fibrose discreta. Achados semelhantes foram encontrados por Paula et al. (2014) que, por meio da análise histopatológica de lâminas coradas pelo método hematoxilina-eosina, verificaram fibrose em todas as amostras. Estes mesmos autores encontraram 72,34% de prevalência de fibrose grau 1, do tipo discreta, no lobo hepático direito e 55,32% no lobo esquerdo.

Marcos et al. (2007) analisaram 24 amostras de fígados bovinos frescos e concluíram que todos os fígados infectados por *F. hepatica* apresentavam pelo menos um grau de fibrose hepática com predominância de lesões fibróticas graves (66%) e as associaram ao parasitismo. Estes mesmos autores verificaram que casos de cirrose hepática foram associados à maior densidade parasitária.

Trivilin et al. (2013) também sugeriram que há relação entre a presença de parasitos nos ductos biliares e lesões fibróticas mais severas. No entanto, no presente estudo, a prevalência de fibrose grau 3 foi baixa. Desta forma, entende-se que, apesar de todos os fígados utilizados neste estudo terem sido condenados por

fasciolose, um dos critérios para a coleta das amostras foi a ausência do parasito adulto. Assim, a ausência do parasitismo poderia justificar o menor grau de fibrose observado.

Todavia, Paula et al. (2014) utilizaram apenas fígados contendo parasitos adultos e mesmo assim, observaram fibrose discreta. A partir destes achados é possível inferir que o grau de fibrose não necessariamente está relacionado com maior parasitismo, podendo existir outros fatores como, por exemplo, a reinfeção.

O infiltrado inflamatório também foi um achado significativo neste estudo, em que todos dos fígados apresentaram essa alteração variando em intensidade discreta a intensa. Bostelmann et al. (2000) citaram que fígados parasitados por *F. hepatica* frequentemente apresentam esta alteração microscópica. Estudo semelhante de Trivilin (2010), que caracterizava histologicamente fígados de bovinos com fasciolose crônica, a maioria das amostras também apresentou infiltrado inflamatório.

Por outro lado, Gomar (2002) também encontrou infiltrado inflamatório periductal em 100% dos fígados de ovinos que consumiam *Brachiaria* spp. Lemos et al. (1996) e Mustafa (2009) também verificaram em seus trabalhos a presença de infiltrado inflamatório periportal associado ao consumo de *Brachiaria* spp.

Estudos nesta mesma linha foram realizados por Moreira et al. (2009) que encontraram células inflamatórias mononucleares preferencialmente no espaço porta, com pequenos e raros infiltrados no parênquima em animais que consumiram capim braquiária e andropogon. Enquanto que Ringler (2000) verificaram resposta inflamatória do tipo granulomatosa como predominante e observaram macrófagos organizados ou agregados em coleções ou folhetos bastante compactados.

Estes dados demonstram que, embora a presença de infiltrado inflamatório seja uma característica frequente em fígados que apresentam lesões em ductos biliares, não pode ser, isoladamente, associada ao diagnóstico determinante de nenhuma doença específica e podem estar associados a outros fatores como o consumo de plantas hepatotóxicas.

Em relação ao infiltrado eosinofílico intenso encontrado no presente estudo, Bostelmann et al. (2000) também encontraram essa alteração em fígados infectados por *F. hepatica* de ovinos e bovinos, no entanto, estes tipos celulares foram

observados em menor prevalência, assim como neutrófilos. Estes autores associaram a presença de infiltrado inflamatório eosinofílico à infecção pelo parasito e verificaram maior eosinofilia em ovinos que em bovinos.

Neste estudo, verificou-se que quanto maior o grau de fibrose, maior foi a intensidade do infiltrado inflamatório. Da mesma forma, quanto maior o infiltrado inflamatório, maior o grau de fibrose observado. McGavin e Zachary afirmam que a formação da fibrose está relacionada a um processo cicatricial que ocorre a partir de um evento lesivo às células e tecidos, que se inicia por meio de um complexo de respostas defensivas que existem para manter a homeostasia do organismo.

Neste estudo foi encontrada uma elevada prevalência de macrófagos espumosos nos fígados avaliados e sabe-se que esta é uma característica importante em animais intoxicados por plantas hepatotóxicas, inclusive *Brachiaria* spp. Desta forma, acredita-se que estes casos sejam de intoxicação pela planta.

No estudo de Moreira et al. (2009) em que analisaram fígados de bovinos que foram alimentados com capim braquiária e capim *Andropogon*, observaram que a ocorrência de macrófagos espumosos foi maior em animais alimentados com braquiária.

Estudos de Driemeier et al. (1998) e Fioravanti (1999) afirmaram a ocorrência de macrófagos espumosos nas zonas periportais em bovinos alimentados com capim do gênero *Brachiaria* spp., principalmente.

No entanto, sabe-se também que a intoxicação por outras plantas como as dos gêneros *Panicum* e *Tribulus* também causam a presença dos macrófagos espumosos. Entretanto, os animais abatidos nos frigoríficos avaliados neste estudo são provenientes de regiões onde o pastejo é quase que exclusivo de *Brachiaria* spp. e a ocorrência de outras plantas que causem lesões semelhantes não tem sido relatadas.

Neste estudo verificou-se que quanto maior o grau de fibrose, maior a quantidade de macrófagos espumosos encontrados. Da mesma forma, a presença de macrófagos espumosos ocasionou maior grau de fibrose hepática. Uma vez que não houve relação entre a presença de macrófagos espumosos e infiltrado inflamatório linfocítico, pode-se sugerir que a presença de macrófagos espumosos favoreça a deposição de tecido conjuntivo.

A metaplasia mucoide encontrada nos fígados neste estudo foi descrita apenas por Paula et al. (2014). No entanto, acredita-se que seja uma lesão patognomônica da infecção por *F. hepatica*. Estes autores identificaram focos de metaplasia nos fígados com fasciolose crônica sempre associados à presença do parasito adulto e citaram que existe diferença na intensidade de muco produzido frente ao parasitismo.

É importante destacar que os focos de metaplasia mucoide neste estudo foram associados tanto ao infiltrado linfocítico quanto eosinofílico. No entanto, houve maior associação ao eosinofílico (36%), o que reforça que estas lesões possam realmente estar associadas ao parasitismo.

Porém não se verificou associação significativa entre a metaplasia mucoide e a fibrose, assim, sugere-se que essa alteração esteja intimamente relacionada aos processos inflamatórios primários.

Neste estudo, a fibrose foi associada ou à presença de macrófagos espumosos ou à metaplasia mucoide. Também se verificou que a ocorrência concomitante das lesões de metaplasia e presença de macrófagos espumosos foi baixa, o que se sugere que poucos fígados apresentaram ao mesmo tempo fasciolose e intoxicação por planta hepatotóxica. No entanto, também se verificou uma grande quantidade de fígados com fibrose sem causa esclarecida. Sendo assim, pode-se afirmar que outras causas ainda não elucidadas também causam fibrose hepática e que estes achados são de extrema importância para que se continue estudando causas de fibrose em fígados de bovinos condenados em matadouros frigoríficos.

Em outros estudos de avaliação histopatológica de fígados com fasciolose como os de Bostelmann et al. (2000) e Trivilin (2010) utilizou-se a nomenclatura “formações acinares” para descrever estas modificações do epitélio ductal. Todavia é possível observar que o epitélio ductal, composto por epitélio cúbico simples, sofre modificações transformando-se em epitélio cilíndrico com células e glândulas produtoras de muco e, assim, o termo “metaplasia mucoide” seria melhor empregado.

Segundo Brasileiro Filho (2006) a metaplasia é a mudança de um tipo de tecido adulto (epitelial ou mesenquimal) em outro da mesma linhagem e também é

um processo adaptativo decorrente da resposta à agressão. Este processo é resultado de irritações persistentes que acabam levando ao surgimento de um tecido mais resistente, como por exemplo, o que ocorre em casos de inflamações crônicas.

É importante ressaltar que, independentemente do termo utilizado, é consenso que estas modificações epiteliais ocorrem nos ductos biliares infectados pelo parasito *F. hepatica*. Portanto, é possível a elaboração de um método de diagnóstico diferencial para esta doença baseado nestes achados histopatológicos. No entanto, o diagnóstico em matadouros frigoríficos permanece subjetivo, pois o diagnóstico microscópico é exclusivo do médico veterinário patologista e não há como aplicá-lo na rotina dos estabelecimentos.

Considerando estes dados, percebe-se que os métodos utilizados em matadouros frigoríficos para a condenação de órgãos são questionáveis (MENDES; PILATI, 2007).

Desta forma, para o diagnóstico de fasciolose, deveria ser utilizada a presença do parasito *F. hepatica* no fígado associada ou não à fibrose como critério macroscópico para condenação deste órgão em matadouros frigoríficos. Enquanto que, na ausência do parasito, poderia ser utilizado apenas o termo “fibrose hepática”, sem referência a nenhuma doença em específico. Isto minimizaria a superestimação de algumas doenças como a fasciolose e a subestimação de outras doenças como a intoxicação crônica por braquiária.

Baptista (2008) relatou que é possível que a frequência de *F. hepatica* influencie nos diagnósticos de outros processos patológicos, pois fígados contendo outras alterações concomitantes com fasciolose geralmente são quantificados em relação ao parasitismo e não pela outra alteração, como por exemplo, a telangiectasia.

Portanto, é importante o estabelecimento de novos critérios para a condenação de fígados em matadouros frigoríficos que tragam diagnósticos mais precisos. Desta forma, os dados seriam mais fidedignos.

6. CONCLUSÃO

A fibrose e o infiltrado inflamatório são as alterações mais frequentes em fígados condenados por fasciolose em matadouros frigoríficos. No entanto, a fibrose hepática também está associada à presença de macrófagos espumosos, que pode ser decorrente de outras enfermidades. Assim, a fibrose, isoladamente, não pode ser utilizada como um critério para condenação por fasciolose.

Por outro lado, a metaplasia mucoide está associada ao infiltrado eosinofílico e é uma alteração frequente em animais com fasciolose. Portanto, na histopatologia, poderia ser considerada como um critério de julgamento.

7. REFERÊNCIAS

ADRIEN, M. L.; SCHILD, A. L.; MARCOLONGO-PEREIRA, C.; FISS, L.; RUAS, J.; GRECCO, F.; RAFFI, M. Acute fasciolosis in cattle in Southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, p.705-709, 2013. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100736X2013000600003&script=sci_arttext>
Acesso em: 26 de jun. 2014.

ALBERNAZ, T.T. et al. Fotossensibilização em ovinos associada à ingestão de *Brachiaria brizantha* no estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.9, p.741-748, 2010.

BAPTISTA, A.T. **Quantificações das Condenações em Vísceras de Bovinos em 2007 nos Matadouros-Frigoríficos do Estado do Espírito Santo registrados no serviço de inspeção estadual**. Universidade Castelo Branco, Instituto Brasileiro de Pós-Graduação Qualittas, 2008. Disponível em: <www.qualittas.com.br/artigos/artigo.php?artigo_id=527> Acesso em: 18 mar. 2015.

BASSANI, C.A.; PIANHO, C.R.; NADAL, L.A.; NORO, M. **Condenações de fígados bovinos no frigorífico Cristal Ltda de Campo Mourão-PR entre 2001 e 2006**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIA, 35, 2008, Gramado, RS. Anais... Gramados, RS: 2008. p. 54.

BECK, A. A. H. Fasciolose. **A Hora Veterinária**. n. 75, p. 65-70, 1993.

BERNARDO C.C.; CARNEIRO, M.B.; AVELAR, B.R.; DONATELE, D.M.; MARTINS, I.F.M.; PEREIRA, M.J.S. Prevalence of liver condemnation due to bovine fasciolosis in Southern Espírito Santo: temporal distribution and economic losses. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n.1, p 49-53, 2011.

BERNE, M. E. A. Identificação e purificação de antígenos somáticos de formas adultas de *Fasciola hepatica* através de anticorpos monoclonais: ensaios de imunoproteção e imunodiagnóstico. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas, 168p., 1994.

BLOOD, D. C.; RADOSTITS, O. M. Doenças causadas por protozoários. **Clínica veterinária**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1991.

BOABAID, F. M.; MENDONÇA, F.S.; DÓRIA, R.G.S.; FREITAS, S.H.; EVÊNCIO NETO J. ; GASPARETTO, N.D.; SALES, R.A.C.; FERREIRA, E. V.; ARRUDA, L. P.; COLODEL, E. M. Fibrose Hepática em Bovinos no Cerrado do Estado de Mato Grosso. In: Encontro nacional de Diagnóstico Veterinário - ENDIVET, 2008, Campo Grande. Anais do Encontro nacional de Diagnóstico Veterinário, 2008.

BONESI, G.L.; SCALONE, B.C.V.; OKANO, W.; ROSA, A. Lesões hepáticas em bovinos abatidos em matadouro-frigorífico. **Higiene alimentar**, Itapetininga, SP, v. 17, n. 106, p. 78-83, 2003.

BOSTELMANN, S.C.W.; LUZ, E.; SOCCOL, V.T.; CIRIO, S.M. Histopatologia comparativa em fígados de bovinos, bubalinos e ovinos infectados por *Fasciola hepatica*. **Archives of Veterinary Science**, v.5, p.95-100, 2000.

BOSTELMANN, M.; WENDUM, D.; SCHIFFER, E.; DUMONT, S.; REY, C.; LIENHART, A.; HOUSSET, C. Prominent contribution of portal mesenchymal cells to liver fibrosis in ischemic and obstructive cholestatic injuries. **Laboratory Investigation**, v.87, n.3, p.292-303, 2007.

BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo Patologia**. 7ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, 1472p.

BROWN, C.C.; BAKER, D.C.; Barker, I.K. 2007. Alimentary system, p.1-296. In: **Maxie M.G. (Ed.), Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals**. Vol.2. 4th ed. Academic Press, San Diego.

BROWN, D.G. 2009. Georgis'Parasitology for Veterinarians. 9th ed. Saunders Elsevier, St Louis.451p.

BRUM, K. B.; HARAGUCHI, M.; LEMOS, R. A. A.; RIET-CORREA, F.; FIORAVANTI, M. C. Crystal associated cholangiopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens* containing the saponin protodioscin. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.27, n.1, p. 39-42, 2007.

BRUM, K. B.; HARAGUCHI, M.; GARUTTI, M. B.; NÓBREGA, F. N.; ROSA, B.; FIORAVANTI, M. C. S. Steroidal saponins concentrations in *Brachiaria decumbens* and *B. brizantha* at diferente developmental stages. **Ciência Rural**, 39 (1): 279-281, 2009.

CARLTON, W. W; McGAVIN, M. D. **Patologia veterinária especial de Thomson**, 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 1998.

COELHO, E. H. **Patologia veterinária**. Manole: São Paulo, 2002. 235 p.

CRUZ, C.; DRIEMEIER, D.; PIRES, V. S.; COLODEL, E. M.; TAKETA, A. T. C.; SCHENKEL, E. P. Isolation of steroidal saponins implicated in experimentally induced cholangiopathy of sheep grazing *Brachiaria decumbens* in Brazil. **Veterinary and Human Toxicology**. V.42, n.3, p. 142-145, 2000.

CRUZ, C.E.F. Contribuição ao estudo da etiopatogenia das lesões hepáticas em ovinos associadas ao consumo de *Brachiaria decumbens*. **Arquivos da Faculdade de Veterinária**, UFRGS. 2001.

CULLEN, J. M. Liver, biliary system, and exocrine pancreas. In: M. D. McGavin; J. F.

Zachary. **Pathologic basis of veterinary disease**. 4 th. St. Louis: Mosby Elsevier, 2007. p. 393-461

DRIEMEIER, D. et al. Relação entre macrófagos espumosos (“foam cells”) no fígado de bovinos e a ingestão de *Brachiaria* spp no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.19, n.2, p.79-83, 1999.

ESPINOZA, J. R.; TERASHIMA, A.; HERRERA-VELIT, P.; MARCOS, L. Fasciolosis humana animal en el Perú: impacto en la economía de las zonas endemias. **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica**, v.27, n.4, p.604-12, 2010.

FIORAVANTI, M. C. S.; TRINDADE, B. R.; BRUM, K. B.; CARNEIRO, R. B.; MENEZES, L. B.; FRANÇA, A. F. S.; ORSINI, G. F.; SILVA, L. A. F. 2003. Estudo histopatológico do fígado, linfonodos mesentérico e aorta de bovinos alimentados com *Brachiaria brizantha*. **XI Encontro Nacional de Patologia Veterinária (Enapave)**. 21-25 jul., Botucatu, SP.

FRAGA, J. C. L. Incidência de fasciolose hepática bovina no Sul do Espírito Santo. Monografia (Pós-graduação em Defesa e Vigilância Sanitária Animal). Universidade Castelo Branco. Instituto Brasileiro de Pós-graduação Qualittas, 29p., 2008.

FREITAS, M.R. **Caracterização anatomopatológica de bursites cervicais de bovinos abatidos sob Inspeção Federal no estado de Goiás**. 1999. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

FRUET, A. P. B.; FABRÍCIO, E. D. A.; KIRINUS, J. K.; SCORTEGAGNA, A.; DÖRR, A. C.; NÖRNBERG, J. L. Perdas econômicas oriundas das condenações de vísceras bovinas em matadouros de Santa Maria, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**. v.20, n.2, p.99-103, abr./jun. 2013.

GOMAR, M.S. **Características das células espumosas no fígado, linfonodos mesentéricos e intestino de bovinos associados ao consumo de *Brachiaria* spp**. 2002. 63f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

GRAYDON, R. J.; HAMID, H.; GARDINER, C. Photosensitization and crystal-associated cholangiohepatopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens*. 1991. In: BRUM, K.B. et al. Crystal-associated cholangiopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens* containing the saponin protodioscin. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.27, n.1, p.39-42, 2007.

HERENDA, D.; CHAMBERS, P. G.; ETTRIQUI, A.; SENEVIRATNA, P.; DA SILVA, T. J. P. **Manual on meat inspection for developing countries**. Roma, Itália: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1994. 357p.

LAJIS, N. H.; SALAM-ABDULLAH, H.; SALIM, S. J.; BREMMER, J. B.; KHAN, M. N. Epi-sarsapogenin and epi-smilagenin: two sapogenins isolated from the rumen content of sheep intoxicated by *Brachiaria decumbens*. **Steroids**, v.58, p.387-389, 1993.

LEMO, R. A. A.; NAKAZATO, L.; HERRERO JUNIOR, G. O.; SILVEIRA A. C.; PORFIRIO, L. C. 1998. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em caprinos mantidos sob pastagens de *Brachiaria decumbens* no Mato Grosso do Sul. **Ciência Rural**, v.28, n.3, p.507-510.

LOCATELLI, J.; DOS REIS, I.D.; VIAN, V.S.; SCHNS, S.V.; Estudo retrospectivo de condenações de fígados em frigorífico com S. I. E, no município de Jarú-RO no período de 2004 a 2006. **Revista ULBRAJP**, Ji-Paraná, RO, v. 2, 2008.

LUNA, L.G. **Manual of the histologic staining methods of the armed forces institute of pathology**. 3 ed. New York : McGraw Hill, 1968. 258p.

MARCOS, L. A.; MACHICADO, A.; ANDRADE, R.; SAMALVIDES, F.; SANCHEZ, J.; TERASHIMA, A. Hepatic fibrosis and Fasciola hepatica infection in cattle. **Journal of Helminthology**, v.8, n.4, p.381-386, 2007.

MACLACHLAN, N. J.; CULLEN, J. M. Fígado, sistema biliar e pâncreas exócrino. In: CARLTON, W. W.; MCGAVIN, M. D. **Patologia especial de Thomson**. 2. ed. Porto Alegre: ART MED, 1998. cap. 2, p. 95-131.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, **MAPA**. 2015. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/bovinos-e-bubalinos>. Acesso em: 10 de junho de 2015.

MARCATO, P.S.; BETTINI, G.; SALDA, D.; GALEOTTI, M. Pretelangiectasis and telangiectasis of the bovine liver: a morphological, immunohistochemical and ultrastructural study. **Journal of Comparative Pathology**, v. 119, p. 95-110, 1998.

MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. Elsevier. Brasil, 1344p., 2012.

MENDES, R.E.; PILATI, C. Estudo morfológico de fígado de bovinos abatidos em frigoríficos industriais sob inspeção estadual no Oeste e no Planalto de Santa Catarina, Brasil. **Ciência Rural**, v.37, n.6, p.1728-1734, 2007.

MIGUEL, P. G. O. D. **O Veterinário inspetor no matadouro: estudo de fígados rejeitados de bovino**. Lisboa. 2009. 83 p.

MILES, C. O.; WILKINS, A. L.; MUNDAY, S. C.; FLÅØYEN, A.; HOLLAND, P. T.; SMITH, B. L. Identification of insoluble salts of the B-D-glucuronides of episarsasapogenin and epismilagenin in the bile of lambs with alveld and examination of *Nartheccium ossifragum*, *Tribulus terrestris*, and *Panicum miliaceum* for sapogenins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.41, p.914-917, 1993.

MOREIRA, C. N.; MORAIS, M.; GARCIA, E. C.; NETO, S. C.; DE ARAÚJO, E. G.; FIORAVANTI, M. C. S. Bovinos alimentados com *Brachiaria* spp. e *Andropogon gayanus*: alterações histológicas de fígado e linfonodos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10. n. 1, p. 206-218, jan./mar. 2009.

MUSTAFA, V.S. **Caracterização da intoxicação natural por *Brachiaria* spp. Em ovinos no Brasil Central**. 2009. 80f. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) – Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal, Universidade de Brasília, Brasília.

NUNES, L. P. Fotossensibilização: o problema pode estar no capim. **Ruralidade**, Goiânia, 19:64-65, 1976.

NAGARAJA, T. G.; LECHTENBERG, K. F. Liver abscesses in feedlot cattle, **Veterinary Clinics Food Animal Practise**, v. 23, p. 351-369, 2007.

OLIVEIRA, L.; SOUZA, M. M. ; ANDRADE, Z. A. Capillaria hepatica-induced hepatic fibrosis in rats. (Paradoxical effect of repeated infections). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.37, p.123-127, 2004.

PAULA, F. M. A. B.; SOUSA, D. R.; ARCHANJO, A. B.; CARVALHO, J. R. Caracterização histológica de fígados bovinos com fasciolose crônica. **Archives of Veterinary Science**. v.19, n.4, p.57-64, 2014.

PIRES, M. A.; TRAVASSOS, F. S.; GÄRTNER, F. **Atlas de patologia veterinária**. Lisboa: Lidel, 2004.

REIS, D. O.; COELHO, H. E.; MANZAN, R. M. Caracterização morfológica de cistos hepáticos, em bovinos abatidos em matadouro frigorífico de Uberlândia-MG / Nature of hepatic cysts in bovine. **Higiene alimentar**, v. 14, n. 76, p. 58-61, 2000.

RIBEIRO, D. B. **Estudo anatomo e histopatológico de fígados bovinos e bubalinos criados na ilha de Marajó, estado do Pará, condenados pelo serviço de inspeção estadual**. Niterói, 2011.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. D. C.; LEMOS, R. A. A. **Doenças de Ruminantes e Equinos**, v. 2. São Paulo: Varela. 2001.

RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M.C. Intoxicações por plantas e micotoxinas. In: RIET-CORREA, F. et al. **Doenças de Ruminantes e Equídeos**, 3 ed. Pallotti: Santa Maria, v.2, p.99-219, 2007.

RINGLER, D. J. Inflamação e reparo. In: JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. 6 ed. São Paulo: Manole, 2000. p.119-165.

RUSSOMANO, O. M. R., PORTUGAL, M. A. S. C., COUTINHO, L. N., CALIL, E. M. B., FIGUEIREDO, M. B. *Leptosphaerulina chartarum* (= *Pithomyces chartarum*) e seu envolvimento no eczema facial. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.70, n.3, p.385-390, jul./set., 2003.

SALAM-ABDULLAH, A.; LAJIS, N. H.; BREMER, J. B.; DAVIES, N. W.; MUSTAPHA, W.; RAJION, M. A. Hepatotoxic constituents in the rumen of *Brachiaria decumbens* intoxicated sheep. **Veterinary and Human Toxicology**, v.34, p.154-155, 1992.

SANTOS, J.A. **Patologia especial dos animais domésticos (mamíferos e aves)**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1986. 576p.

SILVA, I. C. et al. Fasciolose. I. incidência e importância na bovino e ovinocultura do RS. **Lavoura Arrozeira**, Porto Alegre, v. 33, n. 323, p. 34-42, 1980.

SILVA, R. A. G. **Morfologia das alterações hepáticas em bubalinos (*Bubalus bubalis lin*) abatidos para consumo em Belém-Pará, com ênfase à periepatite**. 37 f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 1996.

STALKER, M. J.; HAYES, M. A. Liver and biliary system. In: MAXIE, M. G. (Ed.). **Pathology of domestic animals**. 5 th. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007. v. 2. p. 297-388.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. 2007. **Veterinary Parasitology**. 3rd ed. Blacwell, Oxford. 874p.

TESSELE, B.; BRUM, J. S.; BARROS, C. S. L.; Lesões parasitárias encontradas em bovinos abatidos para consumo humano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.7, p.873-889, 2013.

TOKARNIA, C.H. et al. **Plantas tóxicas do Brasil para animais de produção**. Editora Helianthus: Rio de Janeiro, 2012.

TRIVILIN, L.O. **Avaliação histopatológica e imunoistoquímica de fígados de bovinos cronicamente infectados por *Fasciola hepatica***. 2010. Alegre, 100f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Espírito Santo.

TRIVILIN, L.O; SOUSA, D.R.; NUNES, L.C; MARTINS, I.V.F. Imunofenotipagem da resposta inflamatória em fígados de bovinos cronicamente e naturalmente infectados por *Fasciola hepática*. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.35, n.1, p.41-47, 2013.

VECHIATO, T. A. F. **Estudo retrospectivo e prospectivo da presença de**

abscessos hepáticos em bovinos abatidos em um frigorífico paulista. 102f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo, 2009.

VIEIRA, N.P. et al. Condenação de fígados bovinos na região sul do estado do Espírito Santo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.6, p.1605-1608, 2011.

WERNER, P. R. **Patologia veterinária aplicada.** São Paulo: Roca, 2010. 525 p.

WILSON, A. **Inspeccion practica de la carne.** Zaragoza, Espanha: Acribia, 1970. 203p.