

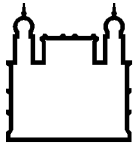
MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Mestrado em Programa de Pós-Graduação Biodiversidade e Saúde

ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS E IDENTIFICAÇÃO DE
HELMINTOS POR MEIO DE ANÁLISES PARASITOLÓGICAS E/OU
MOLECULARES EM FÍGADOS DE PACAS (*Cuniculus paca*)
ORIUNDAS DO ACRE E MATO GROSSO DO SUL, BRASIL

FERNANDA BITTENCOURT DE OLIVEIRA

Rio de Janeiro
Junho de 2016



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde

FERNANDA BITTENCOURT DE OLIVEIRA

Alterações histopatológicas e identificação de helmintos por meio de análises parasitológicas e/ou moleculares em fígados de pacas (*Cuniculus paca*) oriundas do Acre e Mato Grosso do Sul, Brasil

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Saúde.

Orientadora: Dra. Rosângela Rodrigues e Silva

RIO DE JANEIRO

Junho de 2016

ii

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

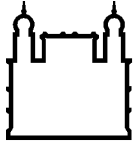
O48 Oliveira, Fernanda Bittencourt de

Alterações histopatológicas e identificação de helmintos por meio de análises parasitológicas e/ou moleculares em fígados de pacas (*Cuniculus paca*) oriundas do Acre e Mato Grosso do Sul, Brasil / Fernanda Bittencourt de Oliveira. – Rio de Janeiro, 2016.
xvii, 101 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde, 2016.
Bibliografia: f. 77-99

1. *Cuniculus paca*. 2. *Echinococcus vogeli*. 3. *Calodium hepaticum*. 4. Histopatologia. 5. Fígado. 6. Brasil I. Título.

CDD 636.0896962



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde

AUTOR: FERNANDA BITTENCOURT DE OLIVEIRA

ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS E IDENTIFICAÇÃO DE HELMINTOS POR
MEIO DE ANÁLISES PARASITOLÓGICAS E/OU MOLECULARES EM FÍGADOS
DE PACAS (*Cuniculus paca*) ORIUNDAS DO ACRE E MATO GROSSO DO SUL,
BRASIL

ORIENTADORA: Dra. Rosângela Rodrigues e Silva

Aprovada em: 23 / 06 / 2016

EXAMINADORES:

Dra. Simone Chinicz Cohen - Presidente (Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz-RJ)

Dra. Cláudia Maria Antunes Uchôa Souto Maior (Instituto Biomédico - UFF)

Dra. Thaís Porto Amadeu (Faculdade de Ciências Médicas - UERJ)

Dr. Luís Cláudio Muniz Pereira (Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz-RJ)

Dra. Renata Heisler Neves (Faculdade de Ciências Médicas - UERJ)

Rio de Janeiro, 23 de junho de 2016.

Dedico este trabalho aos meus avós Juraci e Antônio por me ensinarem sobre amor, coragem e responsabilidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, primeiramente. Não há como ignorar a condução e manutenção dEle em todos os meus desafios pessoais e profissionais. Reconheço a Sua permissão, auxílio e motivação durante minha trajetória na Fundação Oswaldo Cruz-RJ, e, principalmente, nesta feliz conquista acadêmica, a qual considero a realização de um sonho profissional, que certamente continua.

Meus avós Juraci e Antônio são os principais responsáveis pelo meu crescimento, apoio e incentivo nos meus objetivos. A aceitação deles e cuidado para comigo foram essenciais para o meu perfeito estabelecimento social. A eles agradecerei eternamente por todos os meus avanços e conquistas.

Agradeço ao meu pai Luiz Carlos e minha irmã Jaqueline Bittencourt por serem a extensão do meu DNA familiar e permanecerem comigo em todas as etapas da minha vida. A existência e admiração deles me motivam a perseguir meus alvos.

Sou grata a minha orientadora Rosângela Rodrigues e Silva pela oportunidade de crescer pessoal e profissionalmente junto ao Serviço de Referência Nacional em Hidatidose - Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados (SRNH-LHPV/IOC-Fiocruz-RJ) e acumular ricas experiências com as expedições ao estado do Acre para o desenvolvimento dos meus projetos desde a Iniciação Científica.

Agradeço ao meu namorado Leandro Neves, inicialmente, pelo apoio essencial no processo seletivo para o ingresso no mestrado, além do auxílio nas atividades de campo e pelo apoio pessoal nos momentos difíceis do desenvolvimento deste projeto.

Reconheço o apoio e agradeço a contribuição de toda equipe do SRNH-LHPV, especialmente a dedicação da Dra. Fernanda Cunha, que me acompanha e ensina desde 2008, quando ingressei no SRNH. A Simone Mendes, Msc. Jéssica Santos, amiga que me acompanha desde o início da graduação e ao Tuan Pedro pela rica amizade e auxílio nas etapas de confecção desta dissertação. Adicionalmente, agradeço ao Msc. Leandro Neves e Msc. Daniel Daipert pela contribuição prática nas áreas de estudo.

Ao Msc. Paulo Teixeira (IFAC-AC) agradeço pela essencial contribuição referente à execução prática do trabalho tanto no estado do Acre quanto no Mato Grosso do Sul.

A Dra. Alba Alencar (UERJ), agradeço pelo apoio no processamento histológico.

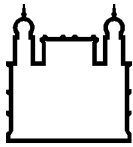
Agradeço à professora Dra. Christiane Leal Corrêa (UERJ) e ao Dr. Rodrigo Menezes (INI-Fiocruz-RJ) pela rica contribuição na análise histopatológica.

Agradeço a Dra. Delir Correia, chefe do LHPV-IOC/Fiocruz-RJ, pelo importante auxílio na confecção deste material.

A Vice-Presidência de Ensino, Informação e Comunicação/Fiocruz-RJ, agradeço pelo financiamento do projeto de pesquisa.

Agradeço a todas as pessoas, amigos e familiares que ajudaram direta ou indiretamente para que este trabalho fosse realizado.

A escolha de fazer o que se ama com alegria, ética e responsabilidade reflete a essência de um coração grato e feliz. Vencer desafios fortalece a coragem para seguir em frente. A propósito, com os pés na Terra e os olhos no céu.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

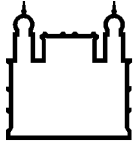
ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS E IDENTIFICAÇÃO DE HELMINTOS POR MEIO DE ANÁLISES PARASITOLÓGICAS E/OU MOLECULARES EM FÍGADOS DE PACAS (*Cuniculus paca*) ORIUNDAS DO ACRE E MATO GROSSO DO SUL, BRASIL

RESUMO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM BIODIVERSIDADE E SAÚDE

Fernanda Bittencourt de Oliveira

A paca (*Cuniculus paca*), roedor nativo da América do Sul, é bastante caçada para subsistência nas regiões de floresta amazônica. É hospedeira de uma série de parasitos, como os helmintos *Echinococcus vogeli* e *Calodium hepaticum*, que podem se estabelecer no fígado. O objetivo desse trabalho foi descrever as alterações histopatológicas em fígados de pacas dos estados do Acre (AC) e Mato Grosso do Sul (MS) e identificar os helmintos encontrados por meio de análises parasitológicas e/ou moleculares. Um total de 35 fígados de pacas foi analisado (AC=34; MS=1), onde 25 fígados não apresentaram lesões aparentes, enquanto 10 fígados evidenciaram lesões, através de análise macroscópica, compatíveis com *C. hepaticum* (Xapuri-AC=6) e *Echinococcus* sp. (Xapuri-AC=3; Corguinho-MS=1). Em todas as amostras que aparentavam infecção por *Echinococcus* sp., a espécie *E. vogeli* foi confirmada como agente etiológico (n=4), mediante análises morfométricas e/ou moleculares. Para a verificação e descrição das lesões microscópicas, todos os fígados do estudo (n=35) foram submetidos à análise histopatológica, onde 27 fígados apresentaram lesões: sete fígados (Sena Madureira-AC=3; Xapuri-AC=3; Corguinho-MS=1) continham cistos hidáticos de *Echinococcus* sp., incluindo àquelas mesmas amostras com *E. vogeli* (n=4), únicas dotadas de lesões macroscópicas. A definição da espécie não foi possível nas outras três amostras restantes (Sena Madureira-AC); cinco (Bujari-AC=3; Sena Madureira-AC=2) continham ovos biopericulados de *C. hepaticum* (identificados por análise morfométrica) provenientes de amostras que não apresentaram lesões macroscópicas, contrapondo a não evidenciação de formas evolutivas de *C. hepaticum* nas amostras inicialmente com lesões macroscópicas características de capilariose (n=6); uma (Sena Madureira-AC) foi encontrada com co-infecção entre *C. hepaticum* e *Echinococcus* sp.; e quinze fígados (Xapuri=9; Bujari=6) apresentaram lesões histopatológicas que foram descritas, porém sem confirmação de associação a agentes infecciosos. O presente trabalho demonstrou um potencial risco de transmissão da equinococose policística e capilariose em municípios do Acre, além de focar a descrição detalhada das lesões histopatológicas causadas pelos helmintos *C. hepaticum* e *E. vogeli* no tecido hepático de pacas. Enfatizamos também um importante achado, pois pela primeira vez foi encontrado *E. vogeli* em paca do Mato Grosso do Sul, evidenciando a presença do ciclo silvestre do helminto na região Centro-Oeste, ampliando o conhecimento de sua distribuição geográfica, antes somente relacionada com a região Norte do Brasil.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

HISTOPATHOLOGICAL CHANGES AND HELMINTH IDENTIFICATION THROUGH
PARASITOLOGICAL AND/OR MOLECULAR ANALYSES IN LIVERS OF PACAS (*Cuniculus paca*)
FROM ACRE AND MATO GROSSO DO SUL, BRAZIL

ABSTRACT

MASTER DISSERTATION IN BIODIVERSITY AND HEALTH

Fernanda Bittencourt de Oliveira

Paca (*Cuniculus paca*), a native rodent of South America, is used for subsistence hunting in the regions of the Amazonic rainforest. It is host for a large number of parasites, such the helminths *Echinococcus vogeli* and *Calodium hepaticum*, which can establish themselves in the liver. The aim of this study was to describe the histopathological changes in the livers of pacas from the States of Acre (AC) and Mato Grosso do Sul (MS), Brazil, and identify the helminths which were found by parasitological and / or molecular analysis. A total of 35 livers of pacas was analysed (AC=34; MS=1), where 25 livers showed no apparent lesions, while 10 livers showed lesions, through macroscopic analysis, compatible with *C. hepaticum* (Xapuri-AC=6) and *Echinococcus* sp. (Xapuri-AC=3; Corguinho-MS=1). In all samples which presented macroscopic characteristics of *Echinococcus* sp. infection, *E. vogeli* species was confirmed as the etiologic agent (n=4) by morphometric and / or molecular analysis. All livers of this study (n=35) were submitted to histopathology analysis for certification and description of microscopic lesions, and it was detected 27 injured livers: seven livers (Sena Madureira-AC=3; Xapuri-AC=3; Corguinho-MS=1) containing *Echinococcus* sp. hydatid cysts, including those same samples with *E. vogeli* (n=4), which presented macroscopic lesions. However, the species definition was not possible in the other three remaining samples (Sena Madureira-AC); five (Bujari-AC=3; Sena Madureira-AC=2) presented *C. hepaticum* bioperculated eggs (identified by morphometric analysis) from samples with no macroscopic lesions, in contrast to evolutionary forms of *C. hepaticum* absence in samples which had macroscopic lesions similar to capillariasis (n=6); one (Sena Madureira-AC) was found with coinfection between *C. hepaticum* and *Echinococcus* sp.; and fifteen livers (Xapuri=9; Bujari=6) showed histopathological lesions which were described, but not reportedly associated with infectious agents. This study showed a potential risk of polycystic echinococcosis and capillariasis transmission in municipalities of the Acre State, besides focusing on the detailed description of the histopathologic lesions caused by helminths *C. hepaticum* and *E. vogeli* in tissues of liver of pacas. We also highlighted the description of the sylvatic cycle of *E. vogeli* found for the first time in paca from Mato Grosso do Sul, Midwest region, expanding the knowledge of their geographical distribution, previously only related to North region of Brazil.

ÍNDICE

RESUMO	VIII
ABSTRACT	IX
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 <i>Cuniculus paca</i>	1
1.1.1 Características morfológicas de <i>Cuniculus paca</i>	1
1.1.2 Distribuição geográfica de <i>Cuniculus paca</i>	3
1.1.3 Habitat de <i>Cuniculus paca</i>	4
1.1.4 Reprodução de <i>Cuniculus paca</i>	5
1.1.5 Alimentação de <i>Cuniculus paca</i>	5
1.1.6 Criação de <i>Cuniculus paca</i>	6
1.1.7 A caça de <i>Cuniculus paca</i> para subsistência.....	8
1.1.8 Características anatômicas do fígado de <i>Cuniculus paca</i>	10
1.1.9 Características histológicas do fígado de <i>Cuniculus paca</i>	12
1.2 Helmintofauna de <i>Cuniculus paca</i>	12
1.2.1 Helmintos encontrados no fígado de <i>Cuniculus paca</i>	15
1.2.1.1 <i>Echinococcus vogeli</i>	15
1.2.1.2 <i>Calodium hepaticum</i>	19
1.2.2 Análise molecular na identificação de helmintos encontrados em fígado de <i>Cuniculus paca</i>	22
1.3 Justificativa	24
2 OBJETIVOS	26
2.1 Objetivo geral	26
2.2 Objetivos específicos	26
3 METODOLOGIA	27
3.1 Aspectos éticos	27
3.2 Áreas de estudo	27
3.3 Obtenção das amostras de fígado de pacas	33
3.4 Análise macroscópica dos fígados obtidos	34
3.5 Processamento das amostras de tecido coletadas	37
3.6 Estudo histopatológico	38
3.7 Análises morfológica e morfométrica	39

3.8 Caracterização molecular de <i>Echinococcus</i> sp.....	41
4 RESULTADOS	43
4.1 Obtenção das amostras e análise macroscópica.....	43
4.2 Análise microscópica.....	46
4.2.1 Diagnóstico parasitológico de <i>Echinococcus</i> sp.....	46
4.2.2 Morfologia e morfometria de ganchos rostelares de <i>Echinococcus</i> sp.....	47
4.2.3 Morfologia e morfometria de ovos de <i>Calodium hepaticum</i>	49
4.2.4 Histopatologia hepática.....	50
4.3 Análise molecular.....	62
5 DISCUSSÃO	66
6 CONCLUSÕES	76
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
8 ANEXO	100
Anexo A - Licença permanente para a coleta e transporte de material zoológico	100

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Imagem da paca (<i>Cuniculus paca</i>).....	2
Figura 2	Mapa da distribuição geográfica de <i>Cuniculus paca</i>	3
Figura 3	Imagem fotográfica da face visceral do fígado da paca (<i>Cuniculus paca</i>).....	11
Figura 4	Imagem fotográfica da face parietal do fígado da paca (<i>Cuniculus paca</i>).....	11
Figura 5	Fotomicrografias de fígado de paca (<i>Cuniculus paca</i>).....	12
Figura 6	Representação esquemática do verme adulto de <i>Echinococcus vogeli</i>	17
Figura 7	Representação esquemática do ovo de <i>Echinococcus</i> sp.....	17
Figura 8	Representação esquemática do ciclo biológico do <i>Echinococcus vogeli</i>	18
Figura 9	Representação esquemática do metacestóide de <i>Echinococcus</i> sp.....	19
Figura 10	Ovos de <i>Calodium hepaticum</i> depositados no parênquima hepático de <i>Cuniculus paca</i>	21
Figura 11	Representação esquemática do ciclo biológico do <i>Calodium hepaticum</i>	22
Figura 12	Mapa do estado do Acre evidenciando os municípios de estudo.....	28
Figura 13	Mapa do estado do Mato Grosso do Sul evidenciando o município de estudo.....	28
Figura 14	Imagens representativas de áreas florestais do município de Corguinho-MS.....	31
Figura 15	Imagens representativas dos municípios de estudo do estado do Acre.....	32
Figura 16	Imagens representativas de pacas e outros animais silvestres abatidos no município de Xapuri – AC.....	33
Figura 17	Imagem representativa das características dos fígados de paca sem lesões macroscópicas observadas.....	34

Figura 18	Imagens representativas das características dos fígados de paca “com alterações”, enfatizando as lesões esféricas compatíveis com infecção por <i>Echinococcus</i> sp.....	35
Figura 19	Imagens representativas das características dos fígados de paca “com alterações”, enfatizando perfil com lesões esbranquiçadas semelhantes a lesões características de infecção por <i>Calodium hepaticum</i>	36
Figura 20	Desenho esquemático do grande gancho rostellar de <i>E. vogeli</i> evidenciando os caracteres utilizados na morfometria (A - comprimento total, B - largura total) e as características morfológicas dos ganchos.....	39
Figura 21	Ovos de <i>Calodium hepaticum</i> em corte longitudinal de tecido hepático de <i>Cuniculus paca</i>	40
Figura 22	Fígados de pacas provenientes de Xapuri-AC com lesões macroscópicas compatíveis com infecção por <i>Calodium hepaticum</i>	44
Figura 23	Fígado de paca proveniente de Xapuri-AC com lesões macroscópicas compatíveis com infecção por <i>Echinococcus</i> sp.....	44
Figura 24	Líquido hidático de metacestóide de <i>Echinococcus</i> sp. proveniente do município de Corguinho-MS.....	46
Figura 25	Ganchos rostelares e protoescólices de <i>Echinococcus vogeli</i> em líquido hidático proveniente de Xapuri-AC.....	48
Figura 26	Ovos de <i>Calodium hepaticum</i> em tecido hepático de <i>Cuniculus paca</i> oriunda de Sena Madureira-AC.....	49
Figura 27	Parênquima hepático livre de alterações estruturais.....	51
Figura 28	Ovos de <i>Calodium hepaticum</i> no parênquima hepático de <i>Cuniculus paca</i> oriundas de Sena Madureira-AC e Bujari-AC..	52
Figura 29	Protoescólices de <i>Echinococcus</i> sp. em tecido hepático de <i>Cuniculus paca</i> oriunda de Sena Madureira-AC.....	53
Figura 30	Alterações histopatológicas hepáticas em <i>Cuniculus paca</i> infectadas com <i>Calodium hepaticum</i> Sena Madureira-AC e Bujari-AC.....	54

Figura 31	Características dos cistos hidáticos de <i>Echinococcus</i> sp. e <i>Echinococcus vogeli</i> no tecido hepático de <i>Cuniculus paca</i> oriundas de Xapuri-AC e Corguinho-MS.....	56
Figura 32	Protoescólices e ganchos rostelares de <i>Echinococcus</i> sp. e <i>E. vogeli</i> no parênquima hepático de <i>Cuniculus paca</i> oriundas de Sena Madureira-AC e Corguinho-MS.....	57
Figura 33	Infiltrado inflamatório não relacionado à presença de formas evolutivas de helmintos no parênquima hepático de <i>Cuniculus paca</i>	59
Figura 34	Alterações sanguíneas no parênquima hepático de <i>Cuniculus paca</i>	60
Figura 35	Áreas de necrose no parênquima hepático de <i>Cuniculus paca</i>	61
Figura 36	Resultados da PCR com as amostras do estudo.....	63
Figura 37	Sequência nucleotídica de parte (425 bp) do gene mitocondrial <i>cox 1</i> de <i>Echinococcus vogeli</i> obtida em fígado de paca oriunda de Xapuri-AC (amostra 07).....	64
Figura 38	Sequência nucleotídica de parte (424 bp) do gene mitocondrial <i>cox 1</i> de <i>Echinococcus vogeli</i> obtida em fígado de paca oriunda de Xapuri-AC (amostra 08).....	65
Figura 39	Sequência nucleotídica de parte (382 bp) do gene mitocondrial <i>cox 1</i> de <i>Echinococcus vogeli</i> obtida em fígado de paca oriunda de Xapuri-AC (amostra 20).....	65
Figura 40	Sequência nucleotídica de parte (424 bp) do gene mitocondrial <i>cox 1</i> de <i>Echinococcus vogeli</i> obtida em fígado de paca oriunda de Corguinho-MS (amostra 01).....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Classificação taxonômica de <i>Cuniculus paca</i>	1
Tabela 2	Helmintos descritos em <i>Cuniculus paca</i>	13
Tabela 3	Localidade, coordenadas geográficas e ano das coletas nos estados do Acre e Mato Grosso do Sul, Brasil.....	27
Tabela 4	Localidade, quantitativo e análise macroscópica dos fígados de pacas provenientes do Acre e do Mato Grosso do Sul, Brasil.....	43
Tabela 5	Localidade e quantitativo das amostras de fígados de <i>Cuniculus paca</i> que apresentaram lesões microscópicas.....	50
Tabela 6	Identificação, localidade e resultados das análises realizadas nas sete amostras de fígados de <i>Cuniculus paca</i> infectadas por <i>Echinococcus vogeli</i>	62
Tabela 7	Percentuais de identidade entre as sequências nucleotídicas de <i>Echinococcus vogeli</i> obtidas nas amostras do estudo e as sequências do gene <i>cox 1</i> de <i>E. vogeli</i> depositadas na base de dados GenBank-NCBI até maio de 2016.....	64

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AC	Acre
AM	Amazonas
BLAST	“ <i>Basic Local Alignment Search Tool</i> ” –
BR	Brasil
COX1	Citocromo c oxidase – subunidade 1
COX1f	Iniciador direto 5’TTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT3’
COX1r	Iniciador reverso 5’TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG3’
D	Diafragma
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
dNTP	Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
FEA	Floresta Estadual do Antimary
G1	Genótipo 1 de <i>Echinococcus granulosus</i> sensu stricto
H&E	Hematoxilina & Eosina
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas
Kg	Quilograma
Km²	Quilômetro quadrado
LF	Ligamento Falciforme
LLD	Lobo Lateral Direito
LLE	Lobo Lateral Esquerdo
LMD	Lobo Medial Direito
LME	Lobo Medial Esquerdo
LQ	Lobo Quadrado
LR	Ligamento Redondo
LT	Ligamento Triangular
µL	Microlitro
µm	Micrômetro
MG	Minas Gerais
MgCl₂	Cloreto de Magnésio
Mm	Milímetro
mM	Milimolar
MMA	Ministério do Meio Ambiente
MS	Mato Grosso do Sul
N	Norte
n	Número amostral

NCBI	National Center of Biotechnology Information
PA	Pará
pb	Pares de Base
PCLC	Processo Caudado do Lobo Caudado
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PPLC	Processo Papilar do Lobo Caudado
RJ	Rio de Janeiro
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
S	Sul
UV	Ultravioleta
V	Vesícula Biliar

1 INTRODUÇÃO

1.1 *Cuniculus paca*

Cuniculus paca, popularmente denominada paca, é o terceiro maior roedor do Brasil. É um típico herbívoro silvestre da região neotropical, sendo originário da América do Sul (Queirolo et al., 2008). A tabela 1 apresenta a classificação taxonômica de *Cuniculus paca*.

Tabela 1 - Classificação taxonômica de *Cuniculus paca*

TÁXON	PACA
Reino	Animalia
Filo	Chordata
Classe	Mammalia
Ordem	Rodentia
Família	Cuniculidae
Gênero	<i>Cuniculus</i>
Espécie	<i>Cuniculus paca</i>
Sinônimo	<i>Agouti paca</i>

Fonte: Queirolo et al., 2008.

1.1.1 Características morfológicas de *Cuniculus paca*

A paca (Figura 1) apresenta porte médio, corpo pesado e robusto, cabeça grande e larga, sendo proporcional ao tamanho do corpo, onde destacam-se suas maçãs do rosto, especialmente nos machos. Seus membros anteriores são curtos, com quatro dedos alongados para frente e os membros posteriores são mais longos com cinco dedos, dos quais o primeiro e o quinto são rudimentares. A paca é um

animal muito rápido e flexível para corrida por possuir membros curtos, dedos alongados providos de garras e cauda reduzida. (Matamoros, 1985; González & Ríos, 2002; Trujillo et al., 2005; Bonvicino et al., 2008). O corpo é coberto por pelos grossos e curtos de cor pardo escuro ou marrom claro, contendo quatro fileiras de manchas esbranquiçadas longitudinais nas costas e peitoral pardo amarronzado com dois pares de seios ou mamilos, um par de cada lado do membro locomotor (Emmons, 1990; Perez, 1992; González & Ríos, 2002; Rinas et al., 2004). Os machos adultos medem entre 60 e 80 centímetros de comprimento do focinho à ponta da cauda, as fêmeas entre 55 a 70 centímetros, e os adultos saudáveis pesam até 13,5 quilogramas (Mondolfi, 1972; Valsecchi et al., 2014). A paca, como qualquer roedor, tem grande extensão dos incisivos do maxilar inferior e superior, com prognatismo permanente (Perez, 1992).



Figura 1 – Imagem da paca (*Cuniculus paca*). Fonte: Serviço de Referência Nacional em Hidatidose (SRNH-IOC/Fiocruz-RJ).

1.1.2 Distribuição geográfica de *Cuniculus paca*

A presença da paca é relatada do Sul do México ao leste do Paraguai, além do nordeste da Argentina (Eisenberg & Redford, 1989) e distribuição marginal no Uruguai (Mones et al., 2003). É nativa na Argentina, Belize, Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador, El Salvador, Guiana Francesa, Guatemala, Guiana, Honduras, México, Nicarágua, Panamá, Paraguai, Peru, Suriname, Trinidad e Tobago, Uruguai e Venezuela. *C. paca* também é encontrada em Cuba, país em que foi introduzida (Queirolo et al., 2008; Varona, 1974) (Figura 2).



Figura 2 – Mapa da distribuição geográfica de *Cuniculus paca*. Fonte: Ilustração de Ricardo Smidth do Serviço de Produção e Tratamento de Imagem – IOC/Fiocruz-RJ.

1.1.3 Habitat de *Cuniculus paca*

Pacas são típicas de florestas tropicais apresentando hábitos noturnos e podem ser encontradas em ambientes modificados ou íntegros. Apesar de viverem em diferentes ambientes, as suas atividades tem mais proximidade com coleções d'água (Michalski et al., 2015), construindo suas tocas em torno de zonas ribeirinhas (Michalski & Norris, 2011; Huanca-Hurachi et al., 2011) onde encontram vias de refúgio contra predadores ou caçadores (Emmons & Feer, 1999).

A paca passa o dia na sua toca. A profundidade destas não costuma ultrapassar 2 metros. Ao anoitecer exploram a área em busca de frutos caídos. As pacas não vocalizam muito, porém quando o fazem utilizam o arco zigomático, uma estrutura como câmara de ressonância, que é ampliado lateral e dorsalmente (Mauro et al., 2004).

Ameaças à espécie são a perda do habitat, a fragmentação florestal, a caça indiscriminada e a introdução de espécies domésticas (Ergueta & Morales 1996, Emmons & Feer 1999). Sua densidade populacional é determinada pela presença e abundância de árvores frutíferas, abundância de frutos no chão, presença de predadores, tipo de floresta e presença de água (Rodriguez-Ruiz et al., 2011). *C. paca* influencia a distribuição e riqueza das comunidades vegetais, visto que se alimenta, principalmente, de frutas caídas no chão, embora possa comer folhas ou tubérculos (Asquith et al., 1999).

Em nível do risco de extinção, *C. paca* é listada como pouco preocupante, tendo em vista sua ampla distribuição, grande população, ocorrência em um número considerável de áreas protegidas, e por isso é improvável que esteja em crescente declínio, sendo estes importantes critérios necessários para qualificar este roedor na categoria de espécies ameaçadas. No entanto, extinções locais têm ocorrido devido à fragmentação de habitat (Chiarello et al., 2008; Queirolo et al., 2008).

1.1.4 Reprodução de *Cuniculus paca*

As pacas podem viver entre 10 e 12 anos e as fêmeas chegam à maturidade sexual entre o 8º e o 12º mês de idade com a gestação compreendendo um período de 115 a 120 dias. Machos alcançam a maturidade sexual no período de um ano e os machos adultos apresentam um pênis de 5 a 7 centímetros de comprimento (Barrera & Gonzalez, 1999; Gonzalez & Rios, 2002).

Para que ocorra o cruzamento entre machos e fêmeas, é necessário que o macho urine próximo à fêmea para que ele identifique o cio e este período, também chamado de ciclo estral, dura 31 dias (Matamoros, 1985). Apesar do baixo potencial reprodutivo das pacas, as fêmeas ovulam espontaneamente, sem a necessidade da presença do macho, enquanto a produção de esperma nos machos é contínua. O período fértil compreende os meses de dezembro a janeiro e os nascimentos ocorrem dentro de tocas escavadas pelas fêmeas (Matamoros & Pashov, 1984; Smythe & Brown de La Guanti, 1995; Mauro et al., 2004; Guzmán, 2008).

Se em vida livre este animal tende a ser sazonal e o nascimento concentrado em épocas de maior disponibilidade alimentar, no Brasil, em cativeiro, reproduzem-se ao longo do ano e isso em termos de produção é um fator favorável, pois garante o aumento do plantel (Guimarães et al., 2008).

Um filhote de paca pesa em torno de 0,7 quilogramas, porém, ocasionalmente, uma paca pode gerar até dois filhotes, uma situação mais rara (Barrera & González, 1999).

1.1.5 Alimentação de *Cuniculus paca*

A paca é considerada generalista quanto à dieta e alimenta-se principalmente de frutos disponíveis no decorrer das estações (Perez, 1992; Beck-King et al., 1999). Uma forma de obter informações sobre a dieta das pacas de vida livre é através da identificação das marcas deixadas nos restos alimentares dispersos no ambiente, por se tratar de um método que não necessita da visualização do roedor, que possui hábitos discretos e noturnos. Porém este método pode ser questionável,

principalmente, quando se nota a presença de outros roedores com marcas de dentes incisivos semelhantes à de pacas juvenis, como cutias (*Dasyprocta* spp). e capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) (Beck-King et al., 1999). Entretanto, é um consenso que marcas acima de quatro milímetros são atribuídas à pacas adultas (Collet, 1981).

É importante ressaltar que pacas são incapazes de abrir frutos com exocarpo (casca) duro e por isso podem consumir aqueles que são previamente abertos por outros animais (Perez, 1992; González & Ríos, 2002). Sendo assim, trabalhos relataram que pacas se alimentam de sapucaia (*Lecythis lanceolata*), sapucainha (*Carpotroche brasiliensis*), cajá (*Spondias mombin*), cacau (*Theobroma cacao*), urtiga-de-mamão (*Cnidocolus pubescens*), laranja (*Citrus sinensis*), limão (*Citrus limon*), tangerina (*Citrus deliciosa*), jaca (*Artocarpus heterophyllus*), banana-da-terra (*Musa paradisíaca*), abacate (*Persea americana*), mamey (*Pouteria sapota*), janitá (*Brosimum alicastrum*) e jataipeva (*Dialium guianense*) (Zuracatto et al., 2010).

1.1.6 Criação de *Cuniculus paca*

O termo “domesticar” tem sido definido de várias formas, porém, é um consenso entre cientistas que um animal domesticado seja diferente de seus semelhantes silvestres, principalmente, no que diz respeito ao manejo (Smythe & Brown de La Guanti, 1995).

Existem projetos em diversos países com o objetivo de explorar a paca de forma comercial ou experimental. A criação de pacas para o consumo de sua carne é uma alternativa de preservação da espécie, pois gera aumento de seu estoque populacional e também diminui a pressão sobre sua caça e, conseqüentemente, tráfico, o que contribui para a conservação das áreas marginais às florestas ou reservas (Smythe, 1987; Beck-King et al., 1999; Laska et al., 2003; Sabatini & Costa, 2006; Lourenço et al., 2008; Ribeiro et al., 2015).

Em cativeiro, é comum pacas serem alimentadas com ração comercial de coelho ao invés de frutas para a obtenção de taxas de crescimento mais rápidas (Matamoros & Pashov, 1982; Nogueira-Filho & Nogueira, 1999). Esse tipo de alimentação se dá pela falta de informações sobre as necessidades nutricionais da

paca e porque ambas as espécies apresentam semelhanças nas características anatômicas e fisiológicas (Carabaño & Piquer, 1998).

Nesse sentido, estudos têm sido desenvolvidos também com o objetivo de conhecer a conduta e ecologia de pacas para melhorar suas condições em cativeiro e assim facilitar o manejo dos animais (Fowler, 1986; Aquino et al., 2009; Ribeiro et al., 2015). Na maioria dos casos um casal de indivíduos é colocado em recintos com características específicas que buscam reproduzir as condições em que os animais vivem no ambiente silvestre (Matamoros & Pashov, 1984).

A conduta social da espécie deve ser considerada, pois em ambiente silvestre: as pacas apresentam comportamentos peculiares como, por exemplo, a convivência como casais permanentes, apesar de Collet (1981) e Moreira & Macdonald (1997) relatarem que pacas vivam solitárias; uma fêmea não receptiva pode ser perigosamente agressiva com um macho que faça avanços indesejados (Moreira & Macdonald, 1997). Quando em presença de seus filhotes, a fêmea não tolera outras pacas em seu território. As pacas que, depois de nascidas, vivem por mais de 40 dias sem contato humano são aparentemente impossíveis de domesticar, pois os animais silvestres crescem com um instinto agressivo e perigoso. Por motivos como esses, é necessário muito cuidado ao manejar pacas que não estão completamente domesticadas. Sendo assim, as pacas que são manejadas apropriadamente durante o período crítico de aprendizagem, tornam-se mansas e fáceis de lidar (Smythe & Brown de La Guanti, 1995).

Nesse sentido, diferentes estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de analisar os períodos de nascimentos de pacas criadas em cativeiro. Pesquisas desenvolvidas na Venezuela e na Costa Rica sugerem que os nascimentos ocorram entre os meses de março a maio (Mondolfi, 1972; Matamoros & Pashov, 1984). No Panamá, pacas criadas em cativeiro apresentam maior número de nascimentos em duas épocas do ano, entre os meses de março e maio e posteriormente entre os meses de agosto e setembro (Smythe & Brown de La Guanti, 1995). Na região sudeste do Brasil, verificou-se que os nascimentos em cativeiro foram mais abundantes nos meses de julho e entre novembro e janeiro, respectivamente, inverno e verão, porém não houve nascimentos nos meses de fevereiro, março e agosto (Nogueira, 1997).

Um exemplo de manejo de pacas em cativeiro é visto no Criatório de Animais Caboclinho da Mata, como é mais conhecido o Programa de Pesquisa e Criação de Animais Silvestres, da Universidade Federal do Acre e da Secretaria de Agropecuária do Governo do Estado do Acre. Neste criatório, os recintos, geralmente, de dimensões até 12 m² possibilitam a acomodação de um macho e três fêmeas. Dispõem de uma área semicoberta com palha e contem uma piscina, um comedouro, tocas e ninhos. As pacas são alimentadas com alimentos naturais, sem ração industrializada e a cada refeição é fornecida uma fonte de carboidrato, proteína, vitamina e sais minerais. A limpeza das baias que possuem piso é feita diariamente com retirada das fezes e lavagem do local, escovação das piscinas e desinfecção com hipoclorito de sódio. As baias de chão batido não são lavadas diariamente, porém as fezes são retiradas. Nestas baias é feito o polvilhamento de cal virgem no chão a cada 15 dias. A cada semestre é realizado exame das fezes com a administração de vermífugo (Oxfendazole ou Fenbendazole na dosagem de 0,6mL/Kg), caso seja detectada infecções por parasitos intestinais (Ribeiro & Zamora, 2008).

Alguns problemas de saúde que acometem pacas em cativeiro são mortalidade infantil (pode estar associada ao estresse, infecção por endoparasitos e infecções respiratórias), bernas, mordidas e feridas, problemas dentais e doenças como aflatoxicoses, coccidiose, desidratação/diarréia, mastite e pneumonia (Smythe & Brown de La Guanti 1995).

1.1.7 A caça de *Cuniculus paca* para subsistência

Na região Neotropical, principalmente na Amazônia, a caça de animais silvestres representa uma importante fonte proteica para as populações indígenas e rurais (Redford, 1997; Cullen et al., 2000; Peres & Lake, 2003; Constantino et al., 2008; Botelho, 2013). Além de ser a principal forma de manutenção das populações que habitam ambientes florestais isolados, a caça, praticada nas florestas tropicais de todo o mundo, também representa fonte de recursos para o comércio dessas carnes silvestres (Robinson & Bodmer, 1997; Bodmer & Pezo, 1999; Fonseca & Lourival, 2001).

Estudos demonstram que a maioria dos animais selecionados para caça é aquela que apresenta porte médio ou que pesa mais de 1 Kg (Robinson et al., 1999). Em confirmação com esses dados, estudos relatam que animais como cutias (*Dasyprocta punctata* Gray, 1842), tatus (*Dasypus novemcintus* Linnaeus, 1758), pacas, porcos-do-mato (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758) e veados-mateiros (*Mazama americana* Erxleben, 1777) são os animais mais caçados nessa região (Valsecchi et al., 2014; Mayor et al., 2015). Porém, ungulados, grandes primatas, assim como cracídeos e quelônios, que são encontrados em ambientes alagados, também são citados como principais espécies capturadas por caçadores amazônicos (Peres, 2000; Valsecchi & Amaral, 2009). Um estudo realizado no Acre revelou que pacas, porcos-do-mato e veados-mateiros são animais que correspondem a, aproximadamente, 60% da biomassa abatida na Reserva Extrativista do Alto Tarauacá e que cada pessoa tinha um consumo médio anual de 51,82 kg de carne de caça (Botelho, 2013).

A paca é citada como a espécie preferida dos moradores que praticam a caça de subsistência, principalmente por causa de sua carne, cotada como a mais apreciada entre todas as de caça (Valsecchi & Amaral, 2009).

Ao que parece, o comportamento humano apresenta um impacto negativo levando a um declínio sobre a população de pacas. Isso foi estudado em paisagens fragmentadas (Espinosa et al., 2016) e tem sido sugerido como resultado da sua caça, como subsistência (Valsecchi et al., 2014) ou para atender a demanda por carnes exóticas em populações urbanas (Silva-Neto et al., 2016). A frequente caça de pacas ocorre em áreas rurais na região amazônica colombiana (D'Alessandro et al., 1981), brasileira (D'Alessandro & Rausch, 2008), venezuelana (Noya-Alarcón et al., 2011), peruana (Mayor et al., 2015) e no México (Santos-Fita et al., 2012).

A paca tem sido estudada nos contextos da helmintofauna (Vizcaychipi et al., 2013; Baquedano Santana, 2014; Ribeiro et al., 2015); aspecto morfológico (Isola et al., 2013; Mayor et al., 2013); nutricional (Nogueira-Filho et al., 2016, Zucaratto et al., 2010); ecológico (Aquino et al., 2009; Gudinho et al., 2011); da caça para subsistência (Peres, 2000; Valsecchi et al., 2014); histopatológico (Almeida et al., 2013; Mayor et al., 2015), porém, muitos estudos estão relacionados a animais de cativeiro e não de vida livre, pela dificuldade na obtenção das amostras e falta de infraestrutura na área estudada (Gonçalves et al., 2006).

Estudos realizados na região amazônica revelaram que caçadores possuem abordagens específicas no momento da caça, que ocorre, preferencialmente, no período noturno, próximo a rios e lagos ou até sob uma canoa. Nesses locais, caçadores ficam à espera de sua presa. A estratégia mais utilizada envolve o método da focagem, onde o caçador utiliza uma lanterna para ofuscar ou confundir o animal por um momento para que possa realizar o abate, utilizando, principalmente, uma espingarda. Quando a caça ocorre durante o dia, frequentemente, cães farejadores são utilizados para auxiliar na identificação das tocas, onde as pacas se encontram. Nesse caso, os caçadores fazem uma busca ativa no local utilizando seu cão para localizar a presa, em vez de esperar seu aparecimento (Valsecchi, 2005; Valsecchi et al., 2014.).

1.1.8 Características anatômicas do fígado de *Cuniculus paca*

O fígado da paca localiza-se na porção cranial do abdome, abaixo do diafragma e anterior ao estômago. Além da relação com o diafragma e o estômago, o fígado também mantém contato com o duodeno. Anatomicamente, o fígado apresenta lobo lateral direito (LLD), lobo medial direito (LMD), lobo quadrado (LQ), lobo medial esquerdo (LME) e lobo lateral esquerdo (LLE), além do lobo caudado formado pelo processo papilar do lobo caudado (PPLC) e pelo processo caudado do lobo caudado (PCLC). A vesícula biliar encontra-se entre os lobos quadrado e medial direito (Figuras 3 e 4) (Carvalho et al., 2012).

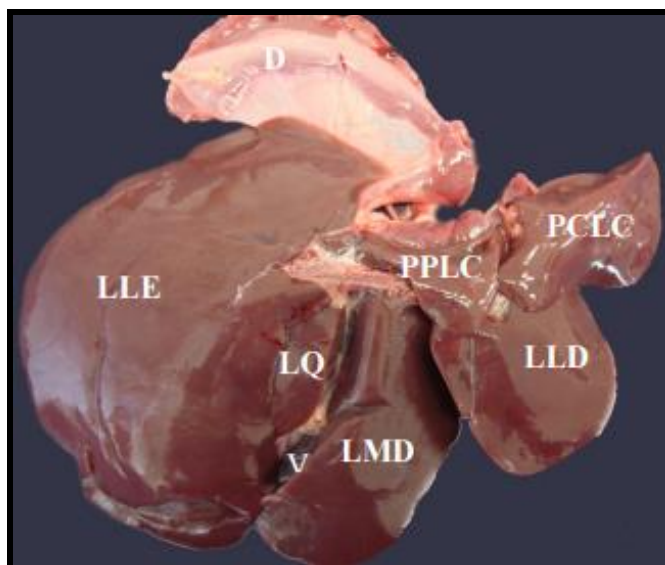


Figura 3 - Imagem fotográfica da face visceral do fígado da paca (*Cuniculus paca*). (LLD) lobo lateral direito; (LMD) lobo medial direito; (LQ) lobo quadrado; (LLE) lobo lateral esquerdo; (PPLC) processo papilar do lobo caudado; (PCLC) processo caudado do lobo caudado; (D) parte do diafragma; (V) vesícula biliar. Fonte: Carvalho et al. (2012).

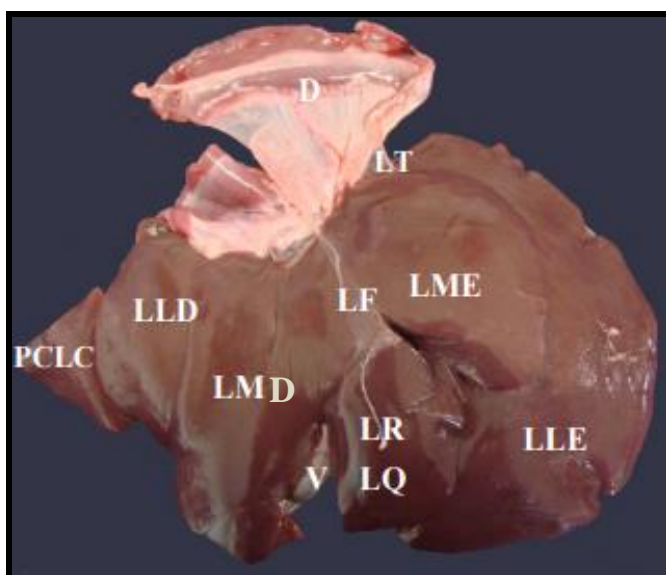


Figura 4 – Imagem fotográfica da face parietal do fígado da paca (*Cuniculus paca*). (LLD) lobo lateral direito; (LMD) lobo medial direito; (LQ) lobo quadrado; (LLE) lobo lateral esquerdo; (LME) lobo medial esquerdo; (PCLC) processo caudado do lobo caudado; (D) parte do diafragma; (V) vesícula biliar; (LT) além do ligamento triangular; (LF) ligamento falciforme; (LR) parte do ligamento redondo. Fonte: Carvalho et al. (2012).

1.1.9 Características histológicas do fígado de *Cuniculus paca*

O fígado da paca apresenta-se revestido por células mesoteliais (epitélio simples pavimentoso), sobrepostas a um escasso tecido conjuntivo que constitui a cápsula do órgão (cápsula de Glisson). É formado por cordões de hepatócitos que se intercalam com sinusóides. Os sinusóides abrem-se livremente na veia central localizada no centro do lóbulo hepático, apresentam células de Kupffer e no espaço porta são encontrados ramos da artéria hepática e da veia porta, além do ducto biliar (Carvalho et al., 2012) (Figura 5).

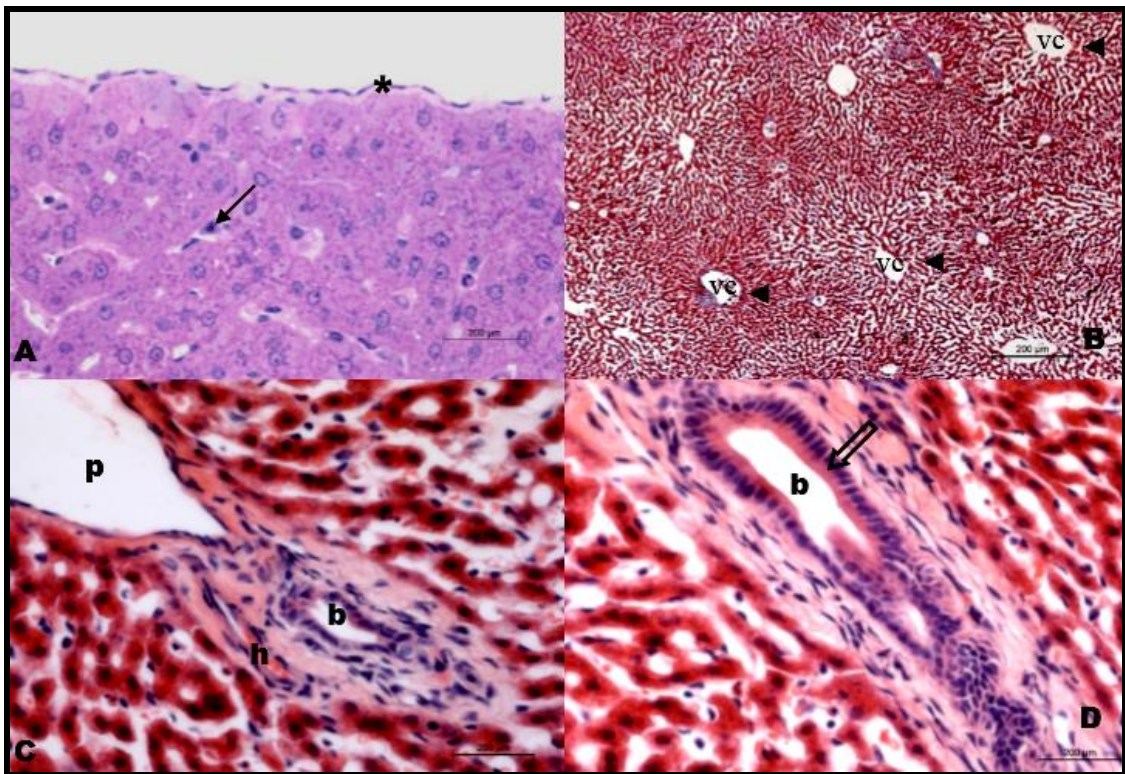


Figura 5 - Fotomicrografias de fígado de paca (*Cuniculus paca*). (A) Cápsula do órgão constituída de células mesoteliais (*) apoiadas em escasso tecido conjuntivo e células de Kupffer (→). Coloração Tricrômico de Masson; (B) Cordões de hepatócitos organizados (▶) confluindo para as veias centrolobulares (vc). Coloração Hematoxilina-floxina; (C) Espaço porta na qual se encontra a ramo da veia porta (p) e da artéria hepática (h), além de dúctulo bilífero (b). Coloração Hematoxilina-floxina; (D) Epitélio colunar simples (⇨) do dúctulo bilífero (b). Coloração Hematoxilina-floxina.

1.2 Helmintofauna de *Cuniculus paca*

Além da paca, animais silvestres, como um todo, apresentam uma diversidade na helmintofauna, o que pode representar risco para a saúde humana (Jenkins et al., 2005). A tabela 2 demonstra os helmintos já relatados em pacas (Tabela 2).

Tabela 2 - Helmintos descritos em *Cuniculus paca*

HELMINTOS	LOCALIZAÇÃO	PAÍS	REFERÊNCIAS
FILO PLATYHELMINTHES			
CLASSE CESTODA			
Família Anoplocephalidae	Intestino delgado	Peru	Baquedano Santana (2014)
<i>Cleberia oligorchis</i>	Intestino delgado	Brasil (PA)	Rego (1967)
Família Taeniidae			
<i>Echinococcus oligarthrus</i>	Baço	Colômbia	D'Alessandro et al. (1981)
<i>Echinococcus vogeli</i>	Fígado, pulmão	Peru	Mayor et al. (2015)
<i>Taenia</i> sp.	*	Costa Rica	Matamoros et al. (1991)
Família Davaineidae			
<i>Raillietina demerariensis</i>	Intestino delgado	Venezuela	Sato et al. (1988)
<i>Raillietina (R.) trinitatae</i>	Intestino delgado	Brasil (AM)	Gonçalves et al. (2006)
Tabela 2: continuação.			
Família Hymenolepidae			
<i>Hymenolepis diminuta</i>	*	Brasil (AC)	Ribeiro et al. (2015)
CLASSE TREMATODA			
Família Cladorchidae			
<i>Stichorchis giganteus</i>	Intestino delgado, Intestino grosso	Peru	Baquedano Santana (2014)

Tabela 2: continuação.

HELMINTOS	LOCALIZAÇÃO	PAÍS	REFERÊNCIAS
FILO NEMATODA			
CLASSE SECERNENTEA			
Ordem Ascaridida			
Superfamília Ascaroidea	*	Costa Rica	Matamoros et al. (1991)
Família Ascarididae			
<i>Ascaridia</i> sp.	*	Peru	Baquedano Santana (2014)
Família Aspidoderidae			
<i>Paraspidodera uncinata</i>	*	Brasil (RJ)	Travassos (1914)
Ordem Rhabditida			
Família Haemonchidae			
<i>Boehmiella wilsoni</i>	Estômago	Peru	Baquedano Santana (2014)
Família Strongylidae			
<i>Strongyloides</i> sp.	*	Costa Rica	Matamoros et al. (1991)
Ordem Strongylida	*	México	Ramirez et al. (2001)
Superfamília Strongyloidea	*	Costa Rica	Matamoros et al. (1991)
Família Ancylostomatidae			
<i>Ancylostoma</i> sp.	*	Peru	Reátegui et al. (2001)
Família Heligmonellidae			
<i>Durettstrongylus ojasii</i>	Intestino delgado	Brasil (AM)	Gonçalves (2003)
<i>Freitaststrongylus angelae</i>	Intestino delgado	Peru	Baquedano Santana (2014)
<i>Heligmostrongylus sedecimradiatus</i>	Intestino delgado	Brasil (AM)	Gonçalves (2003)
Família Heligmosomidae			
<i>Longistriata brevispicula</i>	Intestino delgado	Brasil (MG)	Macedo et al. (2005)

Tabela 2: continuação.

HELMINTOS	LOCALIZAÇÃO	PAÍS	REFERÊNCIAS
Família Strongylidae			
<i>Eucyathostomum copulatum</i>	Intestino delgado, Intestino grosso	Peru	Baquedano Santana (2014)
Família Viannaiidae			
<i>Avellaria avellari</i>	Intestino delgado	Brasil (RJ)	Freitas & Lent (1934)
<i>Oswaldonema cruzi</i>	Intestino delgado	Brasil (AM)	Gonçalves (2003)
<i>Oswaldonema skrjabini</i>	Intestino delgado	Brasil (AM)	Gonçalves (2003)
<i>Vianella</i> sp.	Intestino delgado	Brasil (AM)	Gonçalves (2003)
Ordem Spirurida			
Família Physalopteridae			
<i>Physaloptera</i> sp.	Intestino delgado	Brasil (AM)	Gonçalves (2003)
Família Spirocercidae			
<i>Physocephalus mediospiralis</i>	Estômago	Brasil (AM)	Gonçalves et al. (2006)
CLASSE ADENOPHORA			
Ordem Enoplida			
Família Trichuridae			
<i>Calodium hepaticum</i>	Fígado	Brasil (AC)	Almeida et al. (2013)
<i>Capillaria</i> sp.	*	Costa Rica	Matamoros et al. (1991)
<i>Trichuris gracilis</i>	Intestino grosso	Peru	Baquedano Santana (2014)

Legenda: (*) Fezes de pacas coletadas em cativeiro; (PA) Pará; (AM) Amazonas; (AC) Acre; (RJ) Rio de Janeiro; (MG) Minas Gerais.

1.2.1 Helmintos encontrados no fígado de *Cuniculus paca*

1.2.1.1 *Echinococcus vogeli*

O cestoda *E. vogeli* é exclusivo da região neotropical e no Brasil tem circulação relacionada à região amazônica. A maioria dos estudos evidencia o encontro da forma metacestóide (forma larval) em paca e no homem, hospedeiros intermediários, natural e acidental, do parasito, respectivamente (D'Alessandro et al., 1981; D'Alessandro & Rausch, 2008; Noya-Alarcón et al., 2011; Vizcaychipi et al., 2013; Mayor et al., 2015; Stijnis et al., 2015; Almeida et al., 2015; Debourgogne et al., 2015).

Na paca, *E. vogeli* se desenvolve no fígado como numerosos cistos com diferentes dimensões e aspecto semelhante a bolhas, caracterizando a equinococose policística (Almeida et al., 2013). O verme adulto é encontrado no intestino delgado do cachorro-vinagre (*Speothos venaticus*) e do cão doméstico, sendo estes os hospedeiros definitivos.

A forma adulta de *E. vogeli* (Figura 6) pode chegar a 12 mm, desenvolvendo até 6 proglotes. O helminto possui o maior estróbilo quando comparado com outras espécies do gênero *Echinococcus*, chegando a medir de 3,9 a 5,6 mm. As proglótides grávidas são longas e cilíndricas, representando metade do tamanho do estróbilo e podendo reter cerca de 90 ovos no útero (Rausch et al., 1981; Rausch, 1995; Rausch, 1997; D'Alessandro & Rausch, 2008).

Na região Norte do Brasil, a equinococose policística é considerada endêmica, além de ser a principal doença descrita em pacas (hospedeiros intermediários). Estas se infectam ao ingerirem alimentos contaminados por ovos (Figura 7) de *E. vogeli* eliminados juntamente com fezes de canídeos silvestres (hospedeiros definitivos), seus predadores naturais. As camadas externas dos ovos são digeridas no duodeno dos hospedeiros intermediários, local onde são liberados os embriões ou oncosferas. Estas atravessam a parede intestinal, ganham a circulação porta e finalmente alojam-se no fígado (Moraes & Arnaud, 1997; D'Alessandro & Rausch, 2008). Eventualmente, conseguem atingir a circulação sistêmica alcançando outros órgãos, frequentemente os pulmões (Almeida et al., 1997). O fígado da paca uma vez infectado acaba, juntamente com o restante de suas vísceras, por servir de fonte

de infecção para cães domésticos, quando caçadores os ofertam como alimento. Os cães, por sua vez, são os responsáveis pela contaminação do ambiente peridomicliar ao eliminarem ovos do helminto em suas fezes, criando condições para a infecção humana (D'Alessandro & Rausch, 2008).

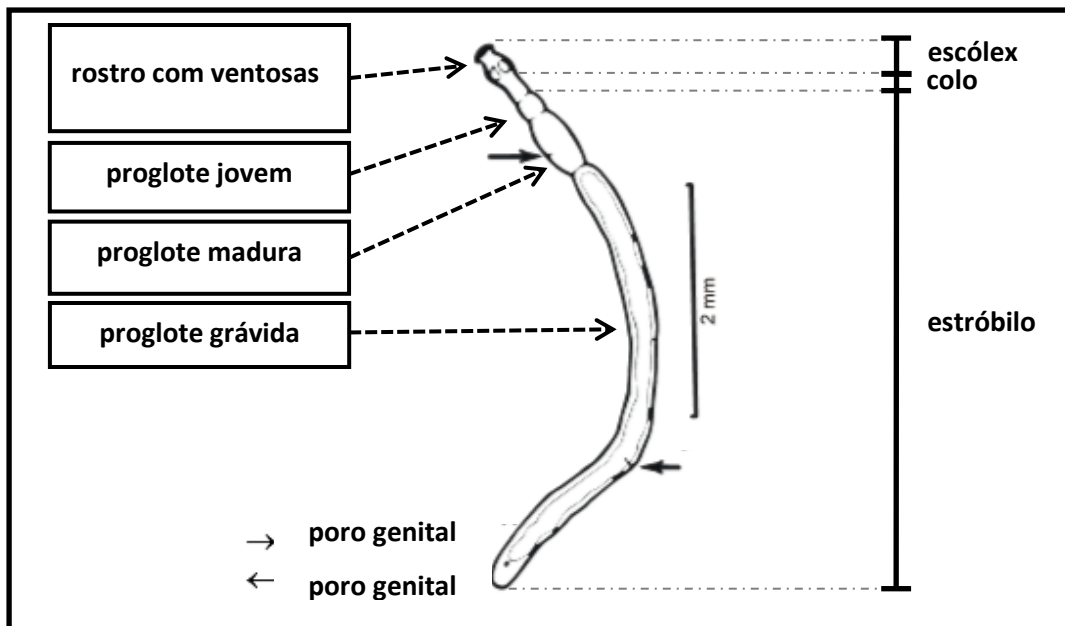


Figura 6 – Representação esquemática do verme adulto de *Echinococcus vogeli*.
Fonte: Serviço de Referência Nacional em Hidatidose (SRNH-IOC/Fiocruz-RJ).

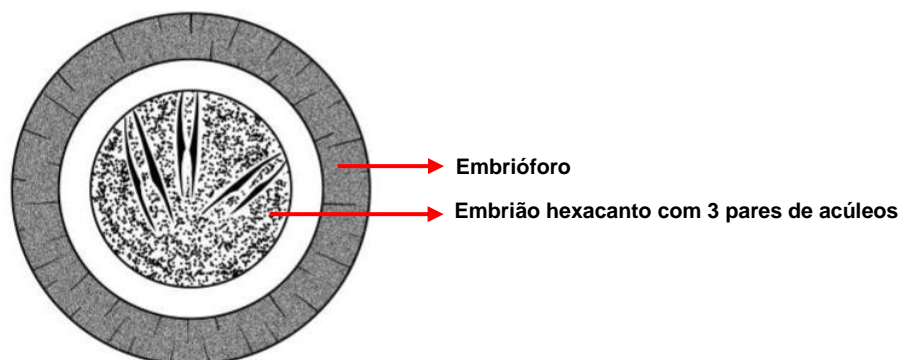


Figura 7 – Representação esquemática do ovo de *Echinococcus* sp. Fonte: Ilustração de Bruno Eschenazi do Serviço de Produção e Tratamento de Imagem – IOC/Fiocruz-RJ.

O ciclo biológico de *E. vogeli* (Figura 8) foi primeiramente relatado por Cabrera et al. (1960). Esses autores observaram que o cachorro-vinagre caçava em bandos sua presa preferida, a paca, perseguindo-a na terra e na água. Embora o cachorro-vinagre e a paca possuam tamanhos semelhantes, um único cachorro pode, às vezes, ser capaz de superar esses roedores. Hoje, este predador é o único hospedeiro definitivo natural conhecido de *E. vogeli*. (D'Alessandro & Rausch, 2008; do Carmo Pereira Soares et al., 2014).

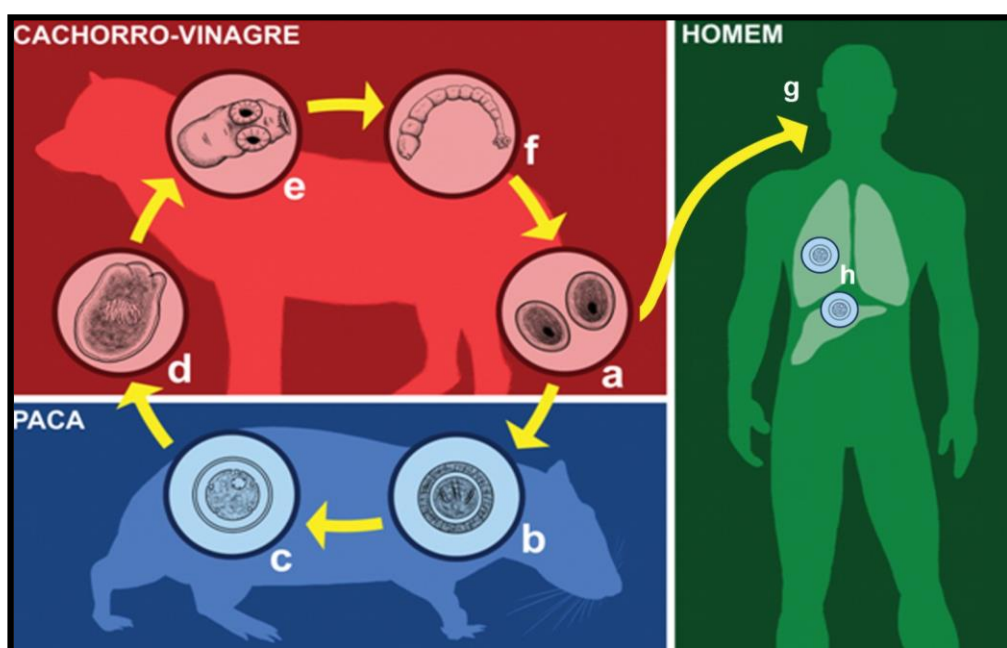


Figura 8 – Representação esquemática do ciclo biológico do *Echinococcus vogeli*. (a) ovo; (b) ovo ingerido pela paca, hospedeiro intermediário; (c) metacéstóide; (d) ingestão de metacéstóide pelo cachorro vinagre, hospedeiro intermediário; (e) escólice desenvaginado; (f) verme adulto; (g) ingestão de ovo pelo homem, hospedeiro acidental; (h) metacéstóides. Fonte: Ilustração de Bruno Eschenazi do Serviço de Produção e Tratamento de Imagem – IOC/Fiocruz-RJ.

Os cistos hidáticos (estágio metacestóide) (Figura 9) de *E. vogeli* são caracterizados como vesículas esféricas contínuas ou esporadicamente isoladas, de aspecto esbranquiçado e, por vezes translúcido, com cada uma sendo capaz de albergar de 10 a 500 protoescólices do helminto. Situam-se no parênquima, sendo que a maioria fica perto da superfície, contrastando com a coloração escura do fígado, quando estabelecidos neste órgão nos hospedeiros intermediários, incluindo o homem (D'Alessandro et al., 1981; D'Alessandro & Rausch, 2008; Almeida, 2012).

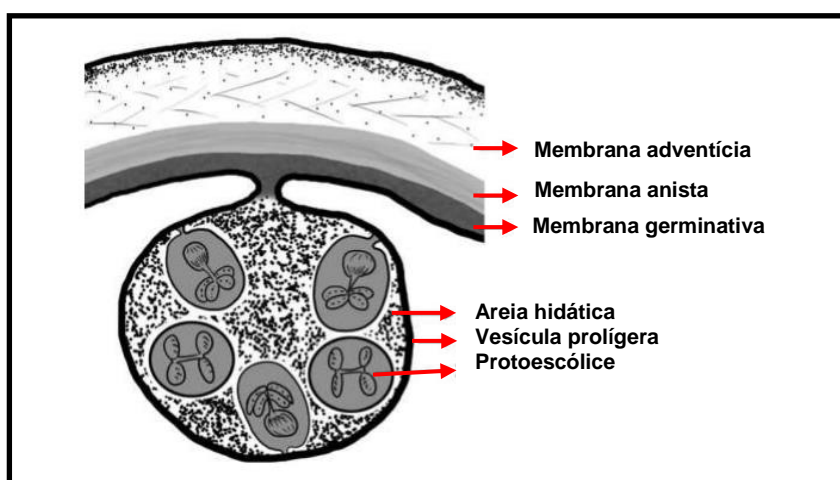


Figura 9 – Representação esquemática do metacestóide de *Echinococcus* sp. Fonte: Serviço de Referência Nacional em Hidatidose (SRNH-IOC/Fiocruz-RJ).

Os protoescólices, presentes no interior do cisto hidático, medem entre 150 e 203 μm , e apresentam seus órgãos (ventosas e ganchos rostelares) invaginados, que, no futuro, após a desinvaginação, constituirão a extremidade anterior do verme adulto no intestino do cão (Bourée, 2001; D'Alessandro & Rausch, 2008). No protoescólice há dois tipos de ganchos: os da fileira superior, que são maiores (grandes ganchos) e possuem uma guarda arredondada e robusta; e os da fileira inferior, que são menores (pequenos ganchos) e possuem uma guarda achatada (Hobbs et al., 1990; Antonious & Tselentis, 1993). As diferenças encontradas na morfologia dos ganchos correspondem às diferentes funções que exercem. Os grandes ganchos possuem movimentos mais livres responsáveis pela locomoção, enquanto os pequenos ganchos são responsáveis pela fixação do helminto

(Antonious & Tselentis, 1993). Os ganchos variam em número, tamanho e forma e normalmente são encontrados livres no interior dos cistos, sendo formados por um cabo, guarda e lâmina, além de uma polpa central amorfa (Almeida et al., 2007).

A identificação parasitológica do *Echinococcus* spp. é realizada através das medidas dos ganchos rosetelates (Tappe et al., 2008) que possuem comprimento de 33 a 41 µm. Outro aspecto de importância refere-se à forma do gancho, pois *E. vogeli* tem a lâmina curva e mais longa que o cabo (2/3 do total) (Rausch et al., 1978; Moraes & Arnaud, 1997). Esse aspecto refere-se à plasticidade fenotípica entre isolados de *Echinococcus* sp., que ocorre quando determinado genótipo tem a capacidade de produzir diferentes fenótipos, em resposta, por exemplo, a modificações no ambiente (Watson & Pike, 1993; Neves et al., 2003).

1.2.1.2 *Calodium hepaticum*

Calodium hepaticum (syn. *Capillaria hepatica*), agente etiológico da capilariose hepática, foi descrito pela primeira vez em 1850 no fígado de rato (Cross, 1998). Esse helminto é um nematódeo recorrente em fígados de roedores silvestres como *Cuniculus paca*, *Aestuans Sciuris*, *Cavia* spp., *Rattus norvegicus*, *Mus musculus*, *Rattus rattus*, *Sciurus aestuans*, *Apodemus sylvaticus* e *Cricetomys gambianus* (Ilha & Barros, 2000; Almeida et al., 2013; Davoust et al., 2014; Fuehrer, 2014a; Millán et al., 2014; Rothenburger et al., 2014).

Os helmintos adultos de *C. hepaticum* são finos e longos com estreitamento da parte anterior do corpo e a parte posterior sendo gradualmente mais espessa. Apresenta dimorfismo sexual onde as fêmeas medem entre 27 e 100 mm e machos entre 15 e 50 mm. Possuem um longo esôfago que ocupa metade do corpo nas fêmeas e um terço do corpo nos machos (Hamir & Rupprecht, 2000).

Os ovos do parasito (Figura 10) assemelham-se aos ovos de *Trichuris* sp. em formato de barril com opérculos bipolares, porém, diferem-se no tamanho pois variam entre 40 e 67 mm de comprimento e 27 e 35 mm de largura (Fuehrer, 2014b). A casca dos ovos consiste de quatro camadas, sendo uma mais externa muito fina que recobre o ovo inteiro, apresentando inúmeros pequenos poros; uma segunda muito espessa, não cobrindo apenas os dois opérculos; a terceira em tom

acastanhado, formando os opérculos nos polos; e a quarta, transparente que cobre a parte germinativa do ovo (Pereira, 2009).

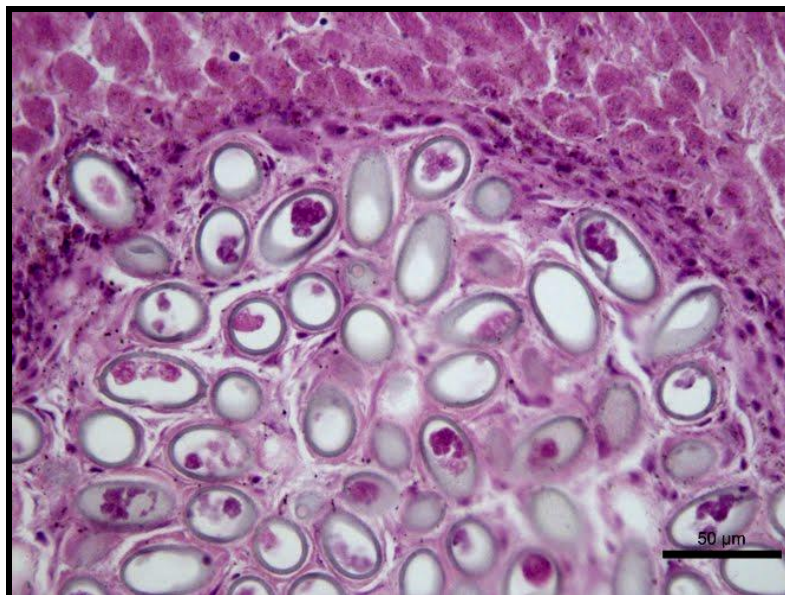


Figura 10 – Ovos de *Calodium hepaticum* depositados no parênquima hepático de *Cuniculus paca*. Fonte: Serviço de Referência Nacional em Hidatidose (SRNH-IOC/Fiocruz-RJ).

C. hepaticum têm distribuição mundial com baixa especificidade de hospedeiro apresentando elevada afinidade pelo fígado de muitas espécies de mamíferos, especialmente roedores das subfamílias Murinae e Arvicolinae. Além disso, o helminto foi documentado em pelo menos 69 espécies de 25 famílias de mamíferos não roedores incluindo Insectivora, Chiroptera, Lagomorpha, Artiodactyla, Perissodáctilos, Hyracoidea, Marsupialia, Carnívoro, e Primatas, considerando, raramente, o homem (Choe et al., 1993; Kohatsu et al., 1995; Fuehrer, 2014 a, b).

Os ovos embrionados de *C. hepaticum* ao passarem pelo ceco do hospedeiro, eclodem, liberando as larvas, que migram para o fígado onde permanecem até a fase adulta. No parênquima hepático, as fêmeas adultas depositam seus ovos não embrionados que permanecem encapsulados. Após a deposição dos ovos no fígado, os vermes adultos morrem e são desintegrados pelo sistema imune do hospedeiro, enquanto os ovos imaturos conservam-se no tecido hepático. Os ovos

embrionados são posteriormente dispersos no ambiente após morte do hospedeiro, desintegração da carcaça ou através da predação/canibalismo quando um predador ingerir o fígado infectado e eliminar os ovos nas fezes. Uma vez no ambiente, em condições adequadas (temperatura e umidade) os ovos se tornam infectantes para outros hospedeiros e nesse estágio, o homem também podem se infectar ingerindo ovos do helminto presentes na água, solo ou plantações contaminadas (Galvão, 1981; Fuehrer et al., 2011) (Figura 11).

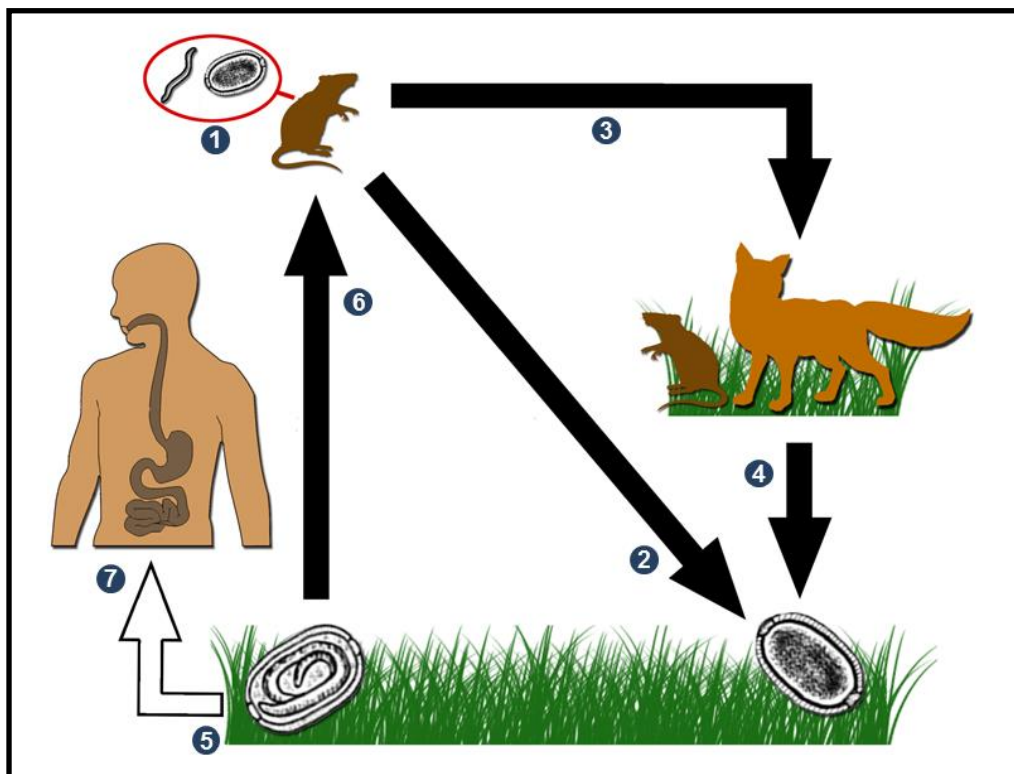


Figura 11 - Representação esquemática do ciclo biológico do *Calodium hepaticum*. (1) ovos e vermes adultos no fígado; (2) ovos não embrionados no ambiente após morte e decomposição do hospedeiro; (3) hospedeiro morre por canibalismo ou predação; (4) ovos embrionados liberados nas fezes após canibalismo ou predação; (5) ovos embrionados no ambiente; (6) ovos embrionados ingeridos pelo hospedeiro definitivo; (7) ovos embrionados ingeridos pelo homem. Fonte: Ilustração de Ricardo Schmidt do Serviço de Produção e Tratamento de Imagem – IOC/Fiocruz-RJ.

Com relação à capilariose hepática, considera-se que a ingestão de poucos ovos embrionados de *C. hepaticum* não altere funcionalmente o fígado e, portanto, a infecção tende a transcorrer de forma subclínica ou como uma síndrome inespecífica. A fisiopatologia se desenvolve a partir da invasão de helmintos adultos e ovos no fígado, sendo estes últimos os responsáveis pelo surgimento dos granulomas hepáticos. A doença se torna grave, com risco de morte, quando há presença maciça de formas evolutivas do helminto no fígado (Hernández et al., 2001).

1.2.2 Análise molecular na identificação de helmintos encontrados em fígado de *Cuniculus paca*

A identificação específica do agente etiológico de uma parasitose é importante em estudos epidemiológicos, para diferenciação entre parasitos de animais e humanos, além de ser fundamental nas estratégias de controle (Falavigna et al. 2005; Yong et al. 2007). O DNA parasitário utilizado nas análises moleculares é geralmente extraído de vermes adultos, larvas ou de formas evolutivas presentes em fezes, que, quando provenientes de animais silvestres, a obtenção desse material pode ser muito difícil ou demorada (Bundy et al. 1985). Nesse contexto, a diferenciação e detecção de parasitos e o diagnóstico de infecções parasitárias tem sido realizados por vários meios, que vão desde técnicas morfológicas e biológicas, a ensaios moleculares. Esses últimos, em muitos casos, melhoraram a sensibilidade e especificidade do processo de detecção e reduziram a possível subjetividade inerente a interpretação dos dados morfológicos e biológicos. O uso da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), a partir do desenvolvimento de primers espécie-específicos, teve importante impacto na interpretação do estabelecimento e desenvolvimento de helmintoses e este avanço é devido à integridade do DNA do parasito, que se mostra essencialmente invariável ao longo de seus vários estágios do ciclo de vida e não sofrem, em curto prazo, alterações por fatores de estresse ambiental, que poderiam alterar sua composição genética. Sendo assim, a importância desta análise está relacionada também à análise do DNA

independentemente do estágio de desenvolvimento do parasito (Zarlenga & Higgins, 2001).

Estudos envolvendo a aplicação de técnicas moleculares na identificação de helmintos de paca são escassos na literatura, sobretudo relacionados com parasitos isolados do fígado desse roedor. A recente utilização dessas metodologias vem permitindo que novos conhecimentos sejam adquiridos, porém, não se observam na literatura estudos que utilizaram a biologia molecular para detecção e identificação de *C. hepaticum* oriundos de fígados de pacas. Com relação ao gênero *Echinococcus*, por mais que estudos moleculares estejam ganhando importância na taxonomia, ecologia da transmissão de espécies com ciclo silvestre, diagnóstico e controle (McManus & Bowles, 1996; Grosso et al., 2012; McManus, 2013; Zhang et al., 2014; Al-Jawabreh et al., 2015; Liu et al., 2015; Romig et al., 2015), estes ainda não foram utilizados com o objetivo de detecção de helmintos como *E. vogeli* em hospedeiros intermediários, incluindo *C. paca*. Santos et al. (2012) até utilizaram metodologias moleculares envolvendo metacestóides de *E. vogeli* e *Echinococcus oligarthrus* isolados de pacas, cutias, tatus e humanos da região Amazônica do Brasil, porém objetivaram a verificação de variabilidade genética entre eles. Os dados moleculares fornecidos pelo estudo vieram a corroborar com as informações obtidas por meio de análises parasitológicas utilizadas previamente na identificação dos próprios isolados utilizados.

Por sua vez, o diagnóstico de *C. hepaticum* é limitado a biópsias hepáticas e necropsias e assim a verdadeira prevalência deste helminto em roedores e outros mamíferos permanece obscura. Em infecções espúrias, cuidados devem ser tomados para não haver confusões com outros helmintos da família Trichuridae e Capillaridae, pois a morfologia dos ovos dos helmintos dessas famílias são semelhantes (Bork-Mimm & Rinder, 2011, Di Cesare et al., 2011, Stuart et al., 2013; Traversa et al., 2011). Por esse motivo, se faz necessária a utilização de ferramentas moleculares para adequada classificação das espécies.

1.3 Justificativa

Sabe-se que a paca é hospedeira de uma diversidade de parasitos, como os helmintos *Echinococcus vogeli* e *Calodium hepaticum*. Com relação ao papel desse animal para a equinococose policística humana, doença grave para o homem, estudos prévios em áreas endêmicas da doença, assinalaram a infecção do metacestóide de *E. vogeli* em pacas da região amazônica colombiana, brasileira, venezuelana, do norte da Argentina e peruana.

No Brasil, devido à grande importância alimentar da paca na região Amazônica, sendo um dos principais animais abatidos para a subsistência de humanos e de animais domésticos, e pela possibilidade de o roedor albergar formas evolutivas de diferentes helmintos, o estudo do fígado de paca poderá: evidenciar a presença de helmintos com potencial zoonótico, alertando para a dinâmica biológica dos parasitos e, conseqüentemente, para o risco de infecções humanas; propiciar análises histopatológicas; e possibilitar estudos morfológicos, morfométricos e de caracterização molecular dos parasitos que se estabeleçam nesse órgão.

Sob o ponto de vista da possibilidade de infecções helmínticas em *Cuniculus paca*, este trabalho busca a realização de análises histopatológicas hepáticas em pacas provenientes de ambientes silvestres do estado do Acre, cujas localidades das expedições foram baseadas nos relatos de casos humanos de equinococose policística previamente registrados nas regiões de estudo; e pela primeira vez, em paca oriunda do estado do Mato Grosso do Sul, região relacionada ao bioma Cerrado. Adicionalmente, a utilização de metodologias parasitológicas e/ou moleculares (complementares ao estudo histopatológico) torna-se necessária na identificação dos helmintos associados com lesões teciduais, uma vez que as infecções hepáticas podem diferir de acordo com as espécies envolvidas nas doenças, bem como, nas fases de desenvolvimento das doenças e suas manifestações clínicas, o que dificultaria a determinação da espécie envolvida na infecção.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Descrever as alterações histopatológicas hepáticas em pacas (*Cuniculus paca*) oriundas dos municípios de Bujari, Sena Madureira e Xapuri, no estado do Acre e do município de Corguinho, no estado do Mato Grosso do Sul e identificar os helmintos encontrados por meio de análises parasitológicas e/ou moleculares.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar os helmintos encontrados por análises parasitológicas, descrevendo a sua morfologia e morfometria;

- Descrever as lesões histopatológicas ocasionadas pelas formas evolutivas dos helmintos presentes nos tecidos hepáticos;

- Descrever as lesões histopatológicas encontradas nos tecidos hepáticos que não apresentaram formas evolutivas que identifiquem o agente causador;

- Reproduzir protocolo de PCR para um fragmento do gene mitocondrial da subunidade 1 do citocromo c oxidase (*cox 1*) em material genético extraído de metacestóides de *Echinococcus* sp. presentes nas amostras;

- Realizar o sequenciamento automático dos *amplicons* obtidos para a confirmação das espécies na comparação com sequências de *Echinococcus* sp. depositadas na base de dados do NCBI (GeneBank).

3 METODOLOGIA

3.1 Aspectos éticos

Esse trabalho foi realizado após aprovação do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) do Ministério do Meio Ambiente (MMA) de acordo com a Instrução Normativa Ibama 154/07, sob a numeração 13373-1 da licença permanente (Anexo A) emitida em 19/11/2007 para a coleta e transporte de material zoológico dos táxon(s) Rodentia e Didelphimorphia.

3.2 Áreas de estudo

As amostras de fígado de pacas provenientes do estado do Acre (AC) (n=34) foram coletadas por meio de expedições realizadas em áreas florestais dos municípios de Bujari (n=9), Sena Madureira (n=10) e Xapuri (n=15) entre os anos de 2011 e 2015 (Tabela 3). Adicionalmente, também foi analisada uma amostra de fígado de paca proveniente do município de Corguinho do estado do Mato Grosso do Sul (MS) enviada em novembro de 2015 para o Serviço de Referência Nacional em Hidatidose do Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz (SRNH-IOC/Fiocruz). Os municípios de estudo estão representados nos mapas das figuras 12 e 13.

Tabela 3 - Localidade, coordenadas geográficas e ano das coletas nos estados do Acre e Mato Grosso do Sul, Brasil.

Localidade	Coordenadas geográficas	Ano de coleta
Bujari-AC	-67°57'08"W / -9°49'50"S	2011
Sena Madureira-AC	-68°39'28"W / -09°04'02"S	2012
Sena Madureira-AC	-68°39'28"W / -09°04'02"S	2013
Bujari-AC	-67°57'08"W / -9°49'50"S	2014
Xapuri-AC	-68°30'16"W / -10°39'06"S	2015
Corguinho-MS	-54°49'45"W / -19°49'57"S	2015

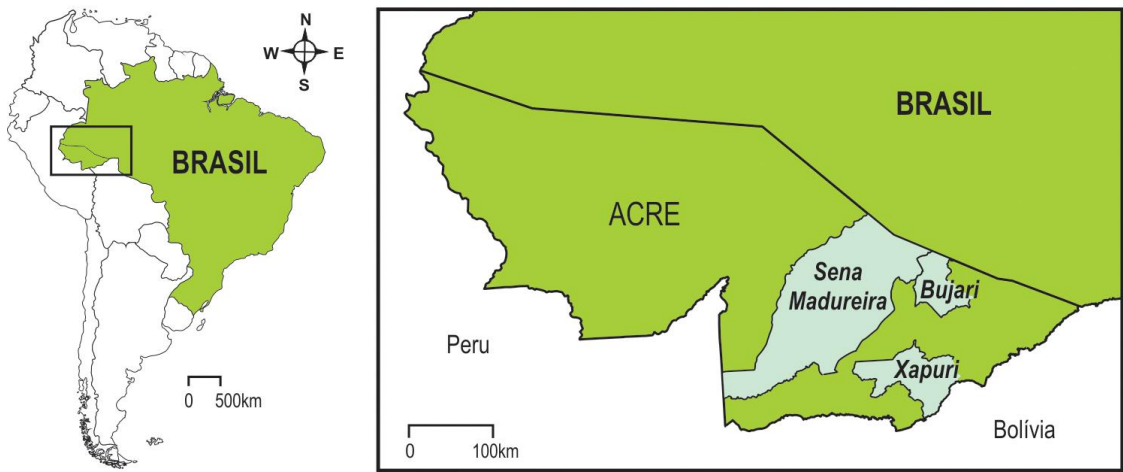


Figura 12 – Mapa do estado do Acre evidenciando os municípios de estudo. Fonte: Ilustração de Heloisa Diniz do Serviço de Produção e Tratamento de Imagem – IOC/Fiocruz-RJ.



Figura 13 - Mapa do estado do Mato Grosso do Sul evidenciando o município de estudo. Fonte: Ilustração de Heloisa Diniz do Serviço de Produção e Tratamento de Imagem – IOC/Fiocruz-RJ.

De acordo com dados do Portal do Governo do Acre, o estado do Acre foi incorporado ao Brasil em 1903 e possui 88% de cobertura florestal. Ele é o 15º em extensão territorial, com uma superfície de 164.221,36 km², correspondente a 4,26% da Região Norte e a 1,92% do território nacional. O Estado está situado num planalto com altitude média de 200 metros, localizado no sudoeste da Região Norte, entre as latitudes de -7°06'56"N e longitude de -73°48'05"N, latitude de -11°08'41"S e longitude -68°42'59"S. Os limites do Estado são formados por fronteiras internacionais com Peru e Bolívia e por divisas estaduais com os estados do Amazonas e Rondônia. As cidades mais populosas são: Rio Branco, Cruzeiro do Sul, Feijó, Tarauacá e Sena Madureira (Portal do Governo do Acre. O Estado, 2016).

O município de Bujari situa-se às margens da BR 364, rodovia de 4.324,6 km que liga o Acre a São Paulo, e sua origem está relacionada ao comércio e ao extrativismo vegetal. A urbanização ocorreu paralelamente à construção do trecho da BR 364 entre Rio Branco e Sena Madureira. A sede municipal de Bujari fica a 21 km da capital Rio Branco. Sua área é cortada por dois rios: o Antimari e o Andirá, que são de suma importância para a vida da população que vive nas suas margens. Bujari possui hoje a décima nona (19ª) população do Estado e ocupa o décimo sexto (16º) lugar em tamanho de área. A economia local baseia-se no comércio, no extrativismo vegetal, na pecuária e na agricultura de subsistência, com destaque para a piscicultura e a produção de hortaliças. Apresentando 6.543 habitantes, o município abrange uma área de 3.037 km². Bujari limita-se ao norte, com o estado do Amazonas; ao sul, com o município de Rio Branco; a leste, com o município de Porto Acre e a oeste, com o município de Sena Madureira (Portal do Governo do Acre. Bujari, 2016).

Sena Madureira, atualmente, é o terceiro município mais populoso do estado do Acre e o segundo em extensão territorial. Ele representa o pólo econômico da regional Alto Purus e possui uma conexão muito intensa com Rio Branco, situada a uma distância de 136 km. Apresentando 34.230 habitantes, o município abrange uma área de 23.732 km². Sena Madureira limita-se ao norte com o estado do Amazonas; ao sul, com o município de Assis Brasil; a leste, com os municípios de Bujari, Rio Branco, Xapuri e Brasiléia; a oeste com o município de Manoel Urbano e a sudoeste, com a República do Peru (Cenamo et al., 2011). Uma parte da Floresta Estadual do Antimary (FEA) está localizada no município de Sena Madureira, abrigando cerca de 80 famílias nesta região. A FEA foi criada em 1988, para

promoção da conservação e do uso sustentável dos recursos florestais, como parte de uma política de uso do solo que pudesse ser utilizada como modelo para outras regiões da Amazônia. Com exceção das primeiras atividades de exploração realizadas em 2003 e 2004, a FEA não sofreu nenhuma forma de exploração madeireira, seja sobre planos de manejo ou de forma convencional. Entretanto, há muitos anos que a população local vem utilizando recursos florestais não madeireiros como forma de subsistência (Aquino et al., 2011).

Xapuri localiza-se ao sul do estado do Acre a 106 km da capital Rio Branco. Fundada oficialmente em março de 1904 teve seu surgimento diretamente relacionado à expansão do extrativismo da borracha no final do século XIX, que resultou na fundação dos seringais amazônicos. O município ocupa o nono (9º) lugar em população no Estado e a décima segunda posição em área. É o município mais visitado do estado por conta, principalmente, dos monumentos históricos da época da Revolução Acreana e da casa onde residia Chico Mendes. Xapuri limita-se ao norte com Rio Branco; ao sul, com o município de Epitaciolândia; a leste, com o município de Capixaba; a oeste, com o município de Sena Madureira e a sudoeste, com o município de Brasiléia. Apresentando 14.314 habitantes, o município abrange uma área de 5.347 km² (Portal do Governo do Acre. Xapuri, 2016).

O Estado do Mato Grosso do Sul possui, aproximadamente, 2,62 milhões de habitantes. É constituído por uma área territorial que atinge uma extensão de 357.145,4 km² que se estende até as fronteiras internacionais com as Repúblicas do Paraguai e da Bolívia na sua parte sul e sudoeste do Estado, onde é banhado pela bacia do Rio Paraguai. Na fronteira leste e norte/nordeste é banhado pela bacia do Rio Paraná e seus afluentes, fazendo divisa com cinco estados brasileiros: Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso (Governo do Estado de Mato Grosso do Sul, 2015; IBGE, 2016).

O município de Corguinho está situado na região norte de Mato Grosso do Sul. A área do município compreende 2.632,2 km² e população de 3.689 habitantes. Com pouca prática de caça, a economia de subsistência baseia-se no cultivo de arroz, milho, feijão, mandioca e a pecuária, destacando-se a bovinocultura. É grande a devastação de suas reservas, que foram substituídas por pastagens artificiais. O município compreende o distrito de Baianópolis, o patrimônio de Taboco, o povoado de Fala Verdade e pequenos aglomerados, dentre estes o de Boa Sorte (IBGE, 2016).

A figura 14 demonstra imagens representativas de áreas florestais do município de Corguinho-MS. As figuras 15 e 16 apresentam imagens das áreas das expedições realizadas ao Acre bem como a manipulação de paca abatida e ossadas de outros animais silvestres do município de Xapuri-AC.



Figura 14 - Imagens representativas de áreas florestais do município de Corguinho-MS. Fonte: Serviço de Referência Nacional em Hidatidose – IOC/Fiocruz – RJ.



Figura 15 - Imagens representativas dos municípios de estudo do estado do Acre. (A) (B) Bujari – AC; (C) (D) Sena Madureira – AC; (E) (F) Xapuri – AC. Fonte: Serviço de Referência Nacional em Hidatidose – IOC/Fiocruz – RJ.



Figura 16 - Imagens representativas de pacas e outros animais silvestres abatidos no município de Xapuri – AC. (A) retirada das vísceras de paca pela proprietária rural; (B) ossos de animais abatidos. Fonte: Serviço de Referência Nacional em Hidatidose – IOC/Fiocruz – RJ.

3.3 Obtenção das amostras de fígado de pacas

Após explicar o objetivo e a importância do trabalho para os agroextrativistas de cada moradia visitada, foi solicitado que, quando ocorresse o abate das pacas para consumo próprio da sua carne, o fígado não fosse descartado como de costume. Após informação sobre a existência de fígados de pacas disponíveis, houve deslocamento de nossa equipe até o local para o recolhimento do material.

Como os abates aconteciam no período da noite ou madrugada, essas coletas foram realizadas tão logo o contato dos caçadores.

3.4 Análise macroscópica dos fígados obtidos

Primeiramente, os fígados foram lavados com solução fisiológica (0,9%) e em seguida, foram analisados macroscopicamente a fim de identificar áreas aparentemente modificadas ou diferentes, seja em termos de coloração ou pela presença de cistos ou massas consistentes ou não. Os órgãos foram fotografados em diferentes ângulos, sobretudo as áreas com lesões. Foram realizadas medições do comprimento e largura de cada fígado e suas lesões, quando presentes.

Para facilitar o estudo, todos os que não apresentaram lesões macroscópicas foram classificados como “fígados sem alterações” (Figura 17). Os fígados que apresentaram lesões macroscópicas foram classificados como “fígados com alterações” (Figuras 18 e 19).

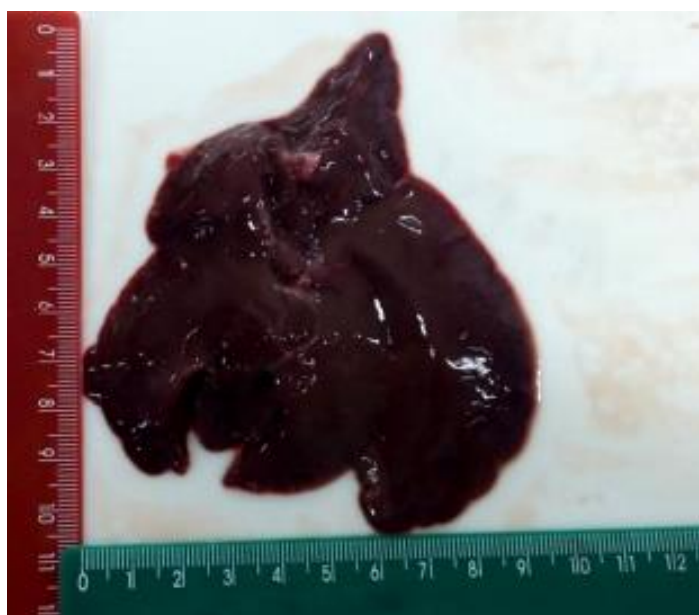


Figura 17 - Imagem representativa das características dos fígados de paca sem lesões macroscópicas observadas; Fonte: Serviço de Referência Nacional em Hidatidose – IOC/Fiocruz – RJ.



Figura 18 - Imagens representativas das características dos fígados de paca “com alterações”, enfatizando as lesões esféricas compatíveis com infecção por *Echinococcus* sp.; Fonte: Serviço de Referência Nacional em Hidatidose – IOC/Fiocruz – RJ.



Figura 19 - Imagens representativas das características dos fígados de paca “com alterações”, enfatizando perfil com lesões esbranquiçadas semelhantes a lesões características de infecção por *Calodium hepaticum*. Fonte: Serviço de Referência Nacional em Hidatidose – IOC/Fiocruz – RJ.

3.5 Processamento das amostras de tecido coletadas

As áreas de tecido que apresentaram lesões foram selecionadas após análise macroscópica dos “fígados com alterações”, sendo clivadas em fragmentos de até 1/2 cm e armazenadas em tubos de 50 mL contendo formalina a 10%. Desses mesmos órgãos, também foram coletadas aleatoriamente duas regiões de tecido sem lesões macroscópicas aparentes.

Para os órgãos que não apresentaram lesões macroscópicas, quatro amostras de tecido, escolhidas aleatoriamente, também foram coletadas, clivadas e armazenadas da mesma forma.

Os “fígados com alterações” que, na análise macroscópica, apresentaram lesões esféricas compatíveis com infecção causada por *Echinococcus* sp., foram submetidos ainda à extração do conteúdo interno das lesões com auxílio de uma seringa de 1mL para a possível visualização de ganchos rostelares e protoescólices do parasito. Uma parte desse conteúdo foi colocada entre lâmina e lamínula e visualizado em microscópio de campo claro. O número de lesões esféricas presentes nos órgãos, assim como a medida dessas lesões (com auxílio de régua), também foram, respectivamente, contabilizados e anotados.

Todas as áreas dos órgãos selecionadas referentes às amostras obtidas em 2015 tiveram fragmentos de tecidos também conservados em etanol a 70% objetivando a realização de abordagem molecular, com a aplicação do método Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) associada ao sequenciamento automático na necessidade da caracterização dos isolados de *Echinococcus* sp.

3.6 Estudo histopatológico

As amostras foram retiradas da formalina a 10%, colocadas em cassetes e lavadas em água destilada. Em seguida, os tecidos foram desidratados com quatro banhos de etanol absoluto, clarificados em três banhos de xilol e submetidos ainda a dois banhos de parafina à temperatura de 60°C. Cada uma dessas etapas teve duração de quarenta minutos. Os tecidos foram submetidos ao processo de inclusão com parafina também à temperatura de 60°C e esses blocos foram colocados em freezer à temperatura de -20°C por, aproximadamente, 15 minutos, para que solidificassem. A partir de então foram realizados os cortes histológicos com auxílio de micrótomo (Leica, China) e a montagem de lâminas para a coloração do material. Foram confeccionadas lâminas de cada fragmento processado para a realização das colorações Hematoxilina e Eosina (H&E) (Junqueira & Carneiro, 2004), Lennert's Giemsa (Lennert, 1978), Picrosirius (Junqueira et al., 1979) e Tricômico de Masson (Junqueira & Carneiro, 2004). Este protocolo foi adaptado às necessidades das amostras, devido às dificuldades encontradas no processamento histológico de rotina descrito por Caputo et al. (2010).

A análise histológica do material foi realizada em microscópio de campo claro (Nikon – modelo Eclipse E200, China) e os registros fotográficos das formas evolutivas dos helmintos encontrados e das alterações histopatológicas hepáticas foram obtidos por meio de câmera digital (Nikon – modelo DS-Fi1, China) com as imagens sendo processadas em um analisador digital de imagens equipado com o software Nis Elements AR (Nikon, USA).

3.7 Análises morfológica e morfométrica

Quando houve quantidade suficiente de líquido hidático no interior dos cistos hepáticos, e quando ganchos rostelares de *Echinococcus* sp. estavam dispersos nesse líquido, o material também foi analisado à fresco entre lâmina e lamínula, em microscópio de campo claro (Nikon – modelo Eclipse E200, China), quanto à morfologia e morfometria dos grandes e pequenos ganchos. As imagens foram obtidas em câmera digital (Nikon – modelo DS-Fi1, China) e processadas em um analisador digital de imagens equipado com o software Nis Elements AR (Nikon - USA). Para a análise morfométrica em aumento de 400x foram utilizados os seguintes caracteres: comprimento e largura totais (Adaptado de Rausch et al. (1978) (Figura 20).

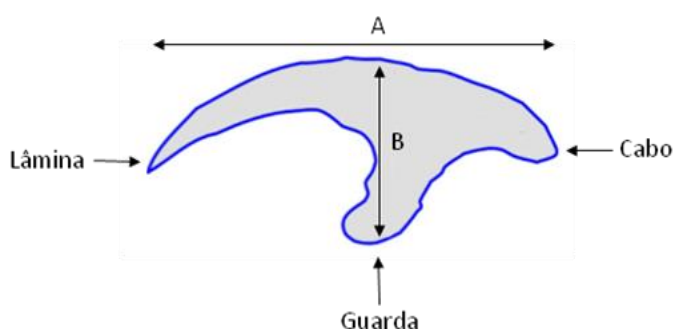


Figura 20 - Desenho esquemático do grande gancho rostelar de *E. vogeli* evidenciando os caracteres utilizados na morfometria (A - comprimento total, B - largura total) e as características morfológicas dos ganchos. Fonte: adaptado de Rausch et al. (1978).

Todos os ovos de *C. hepaticum* encontrados após análise histopatológica também foram submetidos à análise morfométrica com a aferição dos mesmos caracteres (comprimento e largura totais) (Figura 21). Esta análise foi realizada a partir de cortes longitudinais dos ovos depositados no tecido hepático. Apenas os ovos que apresentaram opérculos nitidamente visíveis foram medidos.

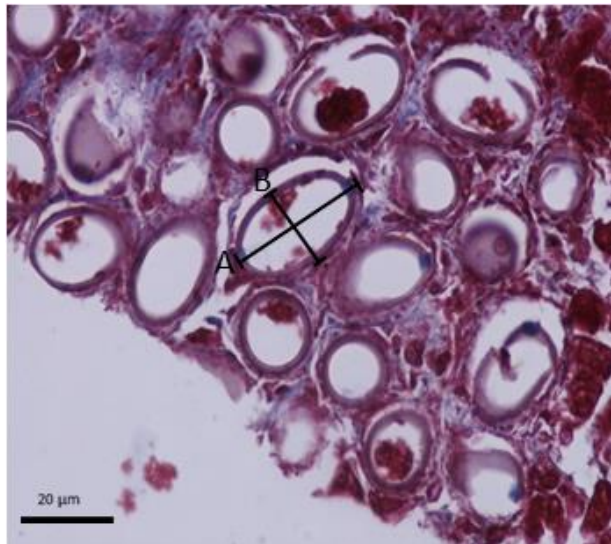


Figura 21 – Ovos de *Calodium hepaticum* em corte longitudinal de tecido hepático de *Cuniculus paca*. Coloração Tricrômico de Masson. (A) comprimento; (B) largura; Fonte: Serviço de Referência Nacional em Hidatidose – IOC/Fiocruz – RJ.

3.8 Caracterização molecular de *Echinococcus* sp.

Os cistos hidáticos de *Echinococcus* sp. encontrados nas amostras com lesões macroscópicas e armazenados em etanol a 70%, tiveram parte (25 mg) de sua membrana externa submetidas à extração do DNA total.

O DNA total foi extraído com a utilização do kit QIAmp DNA Mini Kit (QIAGEN, Alemanha), seguindo as instruções do fabricante. Os conteúdos extraídos foram armazenados a -20°C até serem utilizados na PCR. Uma região parcial de 450 pb do gene mitocondrial codificador da subunidade 1 do citocromo c oxidase (*cox 1*) foi amplificada utilizando os iniciadores direto 5'-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT-3' (CO1f) e reverso 5'-TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG-3' (CO1r) (Bowles et al., 1992). As reações foram realizadas com um volume final de 50 µL contendo aproximadamente 25-50 ng de DNA extraído na presença de tampão apropriado com a adição de 200 µM de cada dNTP, 2,5 mM de MgCl₂, 1 pmol de cada iniciador e 1,5 unidades de Taq DNA polimerase (Invitrogen, Brasil). Os controles positivos utilizados foram os DNAs de *Echinococcus granulosus* sensu stricto (G1) e *Echinococcus ortleppi* e o controle negativo foi uma reação isenta de aplicação de DNA de qualquer origem. As amplificações foram feitas em termociclador (Thermo Electron Corporation, PCR SPRINT SPRT001, USA) com uma etapa inicial de desnaturação a 94°C por 90 segundos, seguida por 35 ciclos de 60 segundos a 94°C, 60 segundos a 55°C e 60 segundos a 72°C, com uma extensão final de 72°C que perdurou por 5 minutos (Sanchez et al., 2010; Santos et al., 2012). Os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1% por coloração com GelRed (Biotium, EUA). Uma imagem do gel foi registrada sob luz UV utilizando um sistema de documentação de gel (BioRad, EUA).

Os produtos resultantes da PCR (*amplicons*) foram purificados utilizando o kit illustra™ GFX™ PCR DNA and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare, Reino Unido), seguindo as instruções do fabricante. Ambas as fitas de DNA foram sequenciadas utilizando os mesmos iniciadores da PCR e o kit comercial ABI Prim™ Big Die Terminator Cycle Sequencing (Applied Biosystems, EUA), de acordo com o estabelecido pelo fabricante. A análise da sequência obtida foi realizada no sequenciador automático Analisador de DNA ABI 3730 (Applied Biosystems, EUA), da subunidade RPT01A de Sequenciamento Automático – IOC/RJ da Rede de Plataformas Tecnológicas Fiocruz. As duas sequências nucleotídicas obtidas (senso

e antisense) foram analisadas, alinhadas e editadas com o auxílio da versão 4.9 do programa Sequencher™ (Gene Codes Corporation, EUA) e, posteriormente, comparadas com as sequências de *Echinococcus* sp. depositadas na base de dados GenBank-NCBI (National Center for Biotechnology Information dos EUA), com o auxílio da ferramenta BLAST-NCBI.

Amostras anteriores a 2015 (armazenadas exclusivamente em formalina a 10%), nas quais o estudo histopatológico veio a confirmar a presença de cistos hidáticos também tiveram 25 mg do tecido hepático (recolhidos aleatoriamente) submetidos à extração de DNA, na tentativa de determinação da espécie envolvida.

4 RESULTADOS

4.1 Obtenção das amostras e análise macroscópica

Foram obtidos 35 (trinta e cinco) fígados de pacas para análise. A quantidade de fígados obtidos apresentando lesões ou não, e suas respectivas regiões de coleta estão descritas na Tabela 4.

Tabela 4 - Localidade, quantitativo e análise macroscópica dos fígados de pacas provenientes do Acre e do Mato Grosso do Sul, Brasil.

Localidade	Fígados sem alterações (n=25)	Fígados com alterações (n=10)	Total (n=35)
Bujari-AC	9	0	9
Sena Madureira-AC	10	0	10
Xapuri-AC	6	9	15
Corguinho-MS	0	1	1

Legenda: AC – Acre; MS – Mato Grosso do Sul

Das 10 amostras que apresentaram lesões macroscópicas (fígados com alterações), 6 fígados provenientes de Xapuri-AC apresentaram um mesmo perfil de lesões contendo inúmeras regiões esbranquiçadas em alto relevo caracterizadas por pontos isolados de aproximadamente 0,2 cm espalhados em diferentes áreas dos órgãos, sendo semelhantes a lesões compatíveis com infecção por *Calodium hepaticum* (Figura 22). As outras 4 amostras (3 de Xapuri-AC e 1 de Corguinho-MS), apresentaram lesões esféricas, semelhantes a bolhas translúcidas, medindo até 2,0 cm compatíveis com infecção por *Echinococcus* sp. (Figura 23). As demais 25 amostras não apresentaram alterações macroscópicas (6 de Xapuri-AC, 9 de Bujari-AC e 10 de Sena Madureira-AC).



Figura 22 - Fígados de pacas provenientes de Xapuri-AC com lesões macroscópicas compatíveis com infecção por *Calodium hepaticum* (setas).

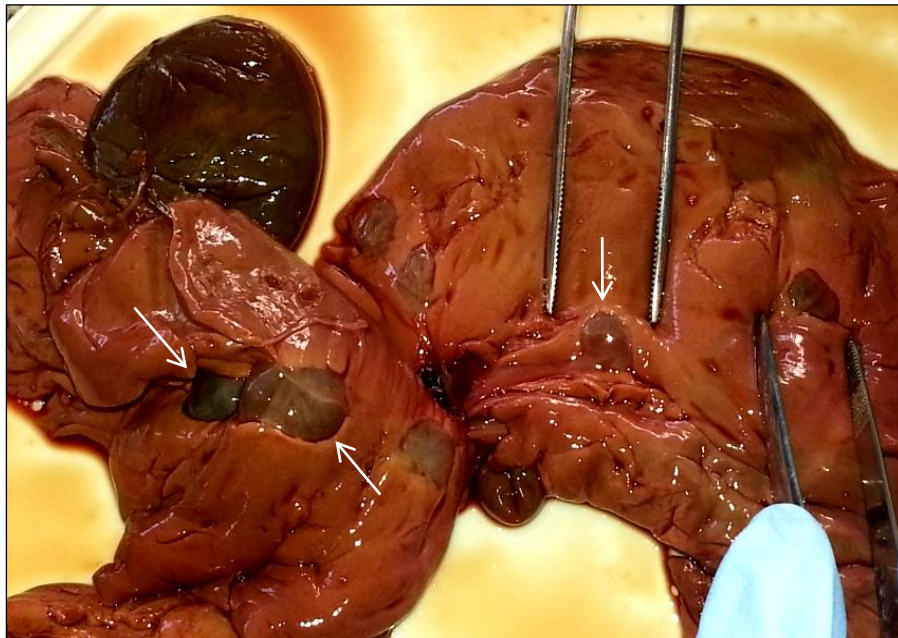


Figura 23 - Fígado de paca proveniente de Xapuri-AC com lesões macroscópicas compatíveis com infecção por *Echinococcus* sp. (setas).

As medidas dos órgãos que apresentaram lesões com perfil compatível com infecção por *C. hepaticum* (n=6) variaram entre 17,0 e 18,8 centímetros para o comprimento e entre 14,2 e 16,5 centímetros, para a largura. As médias das medidas de comprimento e largura desses órgãos foram $17,9 \pm 0,6$ e $15,4 \pm 0,7$ centímetros, respectivamente. As medidas das lesões presentes nessas amostras não foram realizadas, pois elas se apresentaram sobrepostas e a impossibilidade de individualização das lesões não permitiu que a medição fosse concretizada.

Com relação às amostras com lesões compatíveis com *Echinococcus* sp. (n=4), o comprimento dos fígados variou entre 17,7 e 18,8 centímetros e a largura, entre 15,3 e 16,7 centímetros. As médias do comprimento e largura desses fígados foram $18,3 \pm 0,4$ e $16 \pm 0,5$ centímetros, respectivamente. Estes órgãos apresentaram de 12 a 15 lesões esféricas dispersas em sua superfície e o tamanho dessas lesões variou entre 0,1 e 2,0 centímetros.

O comprimento dos fígados sem alterações (n=25) variou entre 16,5 e 18,8 centímetros e a largura variou entre 14,7 e 17,5 centímetros. Já as médias dos valores de comprimento e largura foram $18,0 \pm 0,6$ e $15,9 \pm 0,8$ centímetros, respectivamente.

4.2 Análise microscópica

4.2.1 Diagnóstico parasitológico de *Echinococcus* sp.

A presença de *Echinococcus* sp. foi confirmada inicialmente em três (2 de Xapuri-AC e 1 de Corguinho-MS) das quatro amostras que apresentaram lesões compatíveis com infecção por *Echinococcus* sp. a partir da visualização microscópica de protoescólices e ganchos rostelares presentes nos líquidos extraídos das lesões (Figura 24). Em uma amostra de Xapuri-AC com o mesmo perfil de lesões não foram encontrados protoescólices e ganchos rostelares no diagnóstico parasitológico.

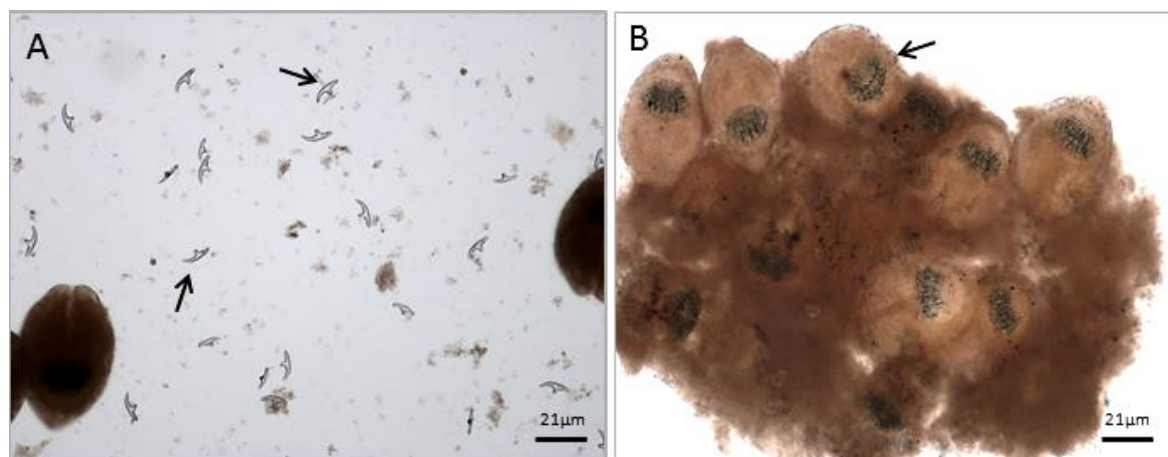


Figura 24 – Líquido hidático de metacestóide de *Echinococcus* sp. proveniente do município de Corguinho-MS. (A) Ganchos rostelares (→); (B) Protoescólices (→).

4.2.2 Morfologia e morfometria de ganchos rostelares de *Echinococcus* sp.

A análise morfológica e morfométrica não pôde ser realizada em uma das três amostras confirmadas com infecção por *Echinococcus* sp. devido ao conteúdo insuficiente de líquido hidático extraído das lesões.

A análise morfológica realizada nas duas amostras (uma de Xapuri-AC e uma de Corguinho-MS) que apresentaram protoescólices e ganchos rostelares de *Echinococcus* sp. demonstrou a presença de coroas de ganchos compostas por grandes e pequenos ganchos dispostos no arranjo 1:1. Ambos os ganchos apresentaram pequenas variações morfológicas, apesar de todos possuírem uma lâmina, um cabo e uma guarda, além da polpa central amorfa. Nos pequenos ganchos, a guarda se apresentou mais robusta e nos grandes ganchos a lâmina se apresentou curvada e mais longa do que o cabo (2/3 do comprimento total) (Figura 25).

Para análise morfométrica foram medidos 50 ganchos rostelares de *Echinococcus* sp. de cada uma das duas amostras analisadas. O comprimento total dos grandes ganchos rostelares variou entre 42,5 e 47,5 μm e a largura total entre 12,5 e 15,0 μm , com médias de $43,8 \pm 1,4 \mu\text{m}$ e $14,1 \pm 1,2 \mu\text{m}$, respectivamente. Com relação aos pequenos ganchos, o comprimento total variou entre 30,0 e 37,5 μm e a largura total entre 10,0 e 12,5 μm , com médias de $34,2 \pm 1,8 \mu\text{m}$ e $11,3 \pm 1,2 \mu\text{m}$, respectivamente. Essas medidas estão de acordo com a espécie *Echinococcus vogeli*.

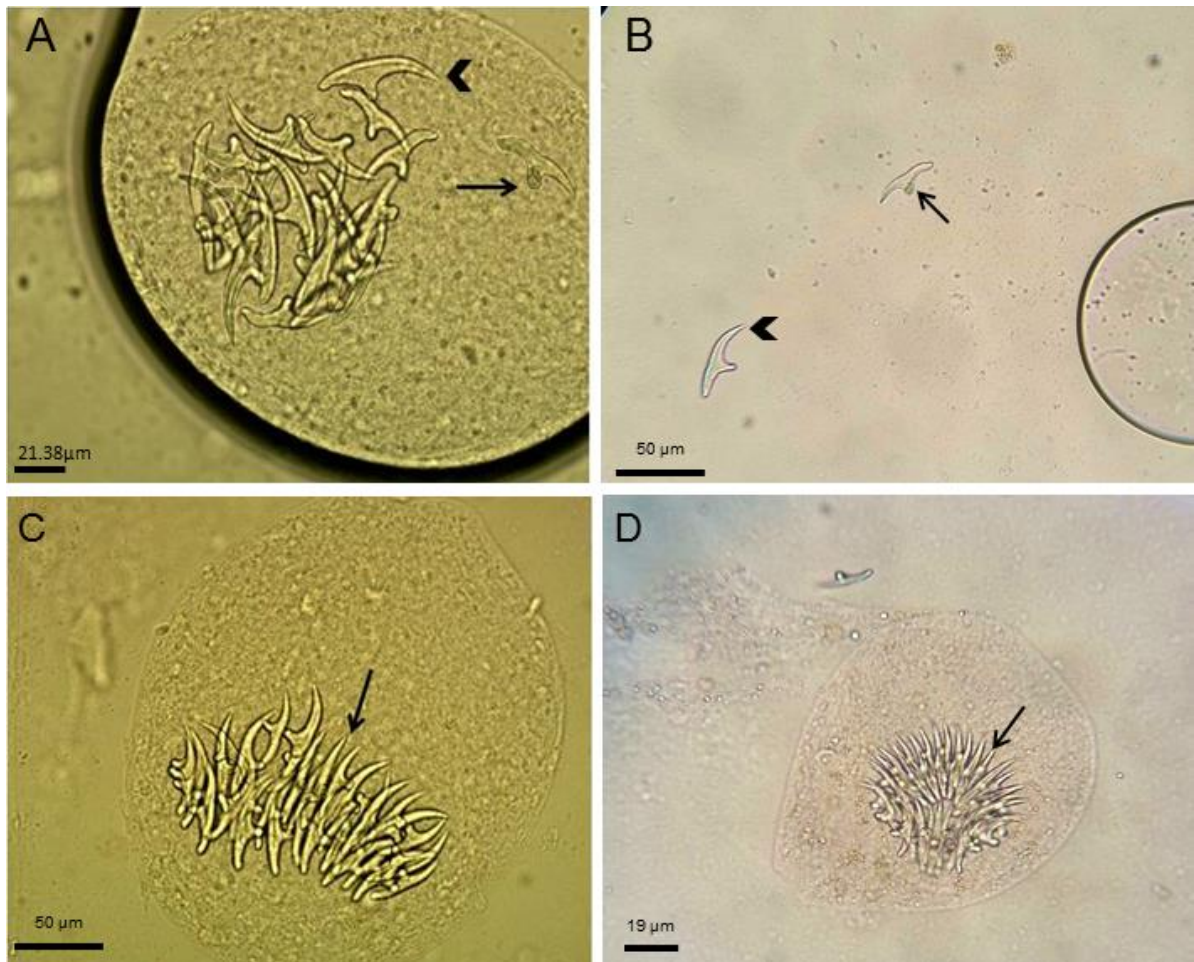


Figura 25 - Ganchos rosetelares e protoescolíces de *Echinococcus vogeli* em líquido hidático proveniente de Xapuri-AC. (A) (B) Lâmina do grande gancho curvada e mais longa do que o cabo (➤); guardas dos pequenos ganchos mais robustas (➔). (C) (D) Protoescolíces com presença de duas fileiras de ganchos, evidenciando o arranjo 1:1 na coroa (➔).

4.2.3 Morfologia e morfometria de ovos de *Calodium hepaticum*

A análise morfológica dos ovos de *C. hepaticum* evidenciou a forma de barril com opérculos bipolares não protusos e cápsula estriada (Figura 26). A morfometria dos ovos que apresentaram extremidades visíveis (n=26) produziu medidas de comprimento que variaram entre 45,0 e 52,5 μm , com média de $49,4 \pm 1,7$ micrômetros. Já para a largura, as mediadas variaram entre 17,5 e 27,5 μm , com média de $24,9 \pm 2,3$ micrômetros.

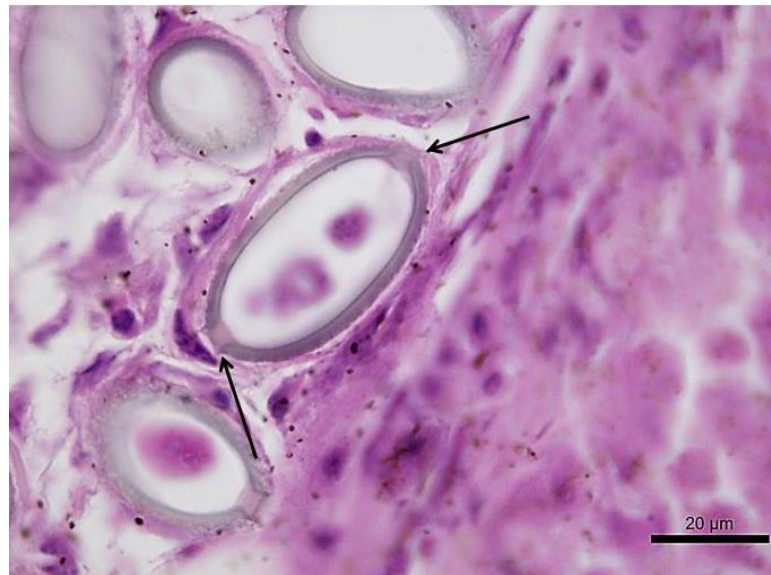


Figura 26 - Ovos de *Calodium hepaticum* em tecido hepático de *Cuniculus paca* oriunda de Sena Madureira-AC. Ovos elípticos não embrionados com opérculos bipolares (\rightarrow). Coloração H&E.

4.2.4 Histopatologia hepática

Considerando as 35 amostras do estudo, a análise histopatológica demonstrou alterações hepáticas em 27 amostras (77,1%). Dentre estas amostras, alterações hepáticas associadas à presença de formas evolutivas de helmintos foram identificadas em 12 (34,3%), incluindo mais três amostras de Sena Madureira-AC cuja análise histopatológica demonstrou a presença de cistos hidáticos. Essas amostras, porém, não apresentaram lesões macroscópicas e uma delas também apresentou ovos de *C. hepaticum*, evidenciando uma co-infecção (Tabela 5). Em 8 amostras (22,9%) não foram encontradas lesões histopatológicas.

Tabela 5 - Localidade e quantitativo das amostras de fígados de *Cuniculus paca* que apresentaram lesões microscópicas.

Características das amostras do estudo	Total por localidade				
	Bujari (n=9)	Sena Madureira (n=5)	Xapuri (n=12)	Corguinho (n=1)	Total (n=27 / 77,1%)
Amostras com lesões associadas a <i>Echinococcus vogeli</i>	-	-	1*	1*	2 (5,7%)
Amostras com lesões associadas a <i>Echinococcus</i> sp.	-	2	2*	-	4 (11,4%)
Amostra com co-infecção por <i>Echinococcus</i> sp. e <i>Calodium hepaticum</i>	-	1	-	-	1 (2,8%)
Amostras com lesões associadas a <i>Calodium hepaticum</i>	3	2	-	-	5 (14,3%)
Amostras com lesões sem a determinação do agente causador	6	-	9*	-	15 (42,9%)

* Amostras que também apresentaram lesões macroscópicas.

Nos fígados de pacas sem lesões histopatológicas foram observados hepatócitos organizados em cordões e dispostos entre eles estavam os sinusóides, o sistema porta hepático (composto por uma vênula, arteríola e ducto biliar) e a veia centro lobular, todos isentos de alterações estruturais (Figura 27).

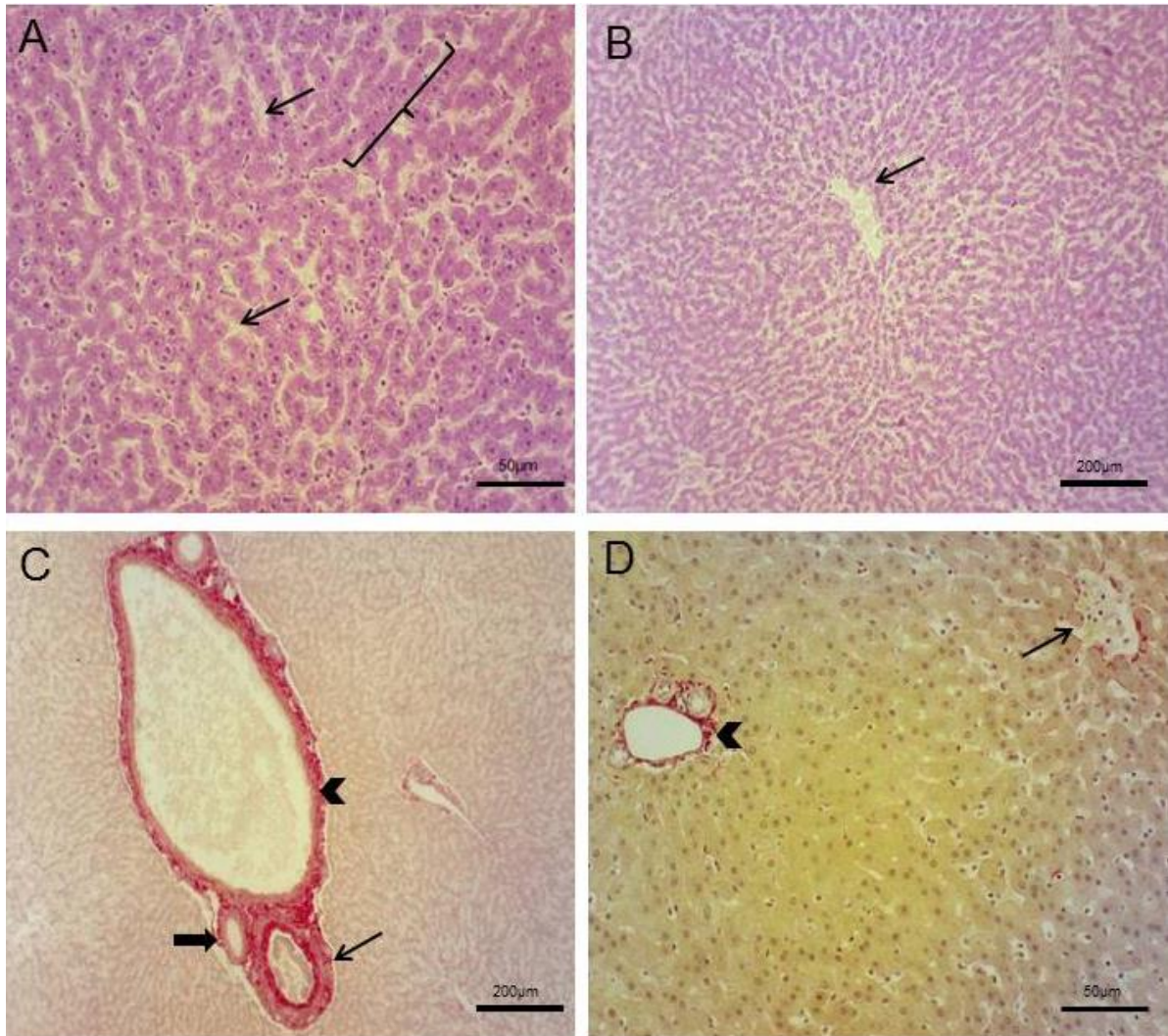


Figura 27 - Parênquima hepático livre de alterações estruturais. (A) Sinusóides (→), cordões de hepatócitos ({). Coloração H&E; (B) Veia centro lobular (→). Coloração H&E; (C) Sistema porta hepático: Ramo da veia hepática (➤), ducto biliar (→), arteríola (➡). Coloração Picrosirius; (D) Sistema porta hepático (➤), veia centro lobular (→).

Dentre as doze amostras que apresentaram formas evolutivas de helmintos no tecido hepático, em cinco (três de Bujari-AC e duas de Sena Madureira-AC) foi demonstrada a presença de ovos bioperculados, característicos do helminto *Calodium hepaticum* (Figura 28); em seis (três de Xapuri-AC, duas de Sena Madureira-AC e uma de Corguinho-MS) foram encontrados cistos, protoescólices e/ou ganchos rostelares de *Echinococcus* sp., incluindo as amostras de *E. vogeli* confirmadas pela análise morfométrica (Figura 29); e em uma amostra (de Sena Madureira-AC) foi demonstrada co-infecção com a presença de ovos de *C. hepaticum* e protoescólices de *Echinococcus* sp.. Nenhum helminto adulto de *C. hepaticum* foi encontrado nas amostras do estudo.

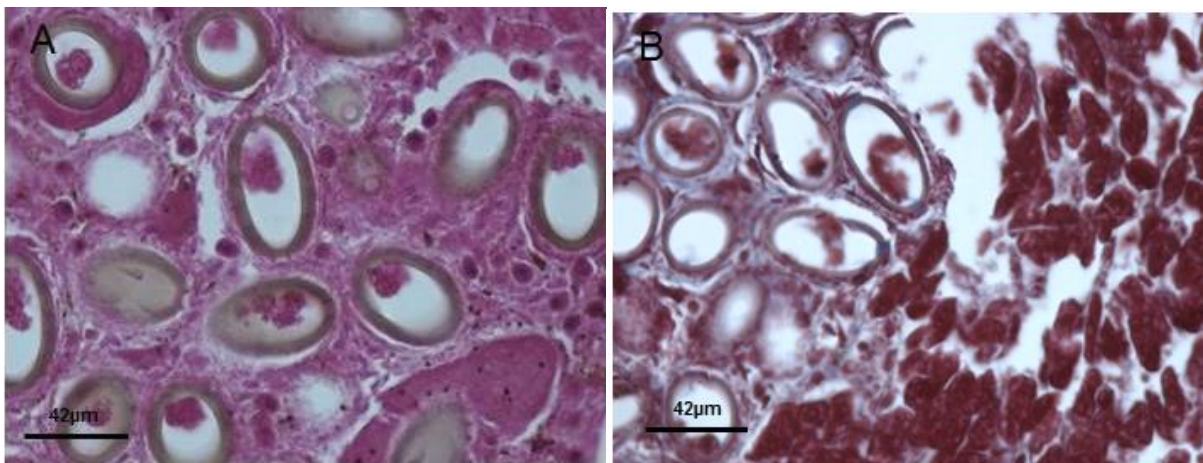


Figura 28 – Ovos de *Calodium hepaticum* no parênquima hepático de *Cuniculus paca* oriundas de Sena Madureira-AC e Bujari-AC. (A) Coloração H&E; (B) Coloração Tricrômico de Masson.

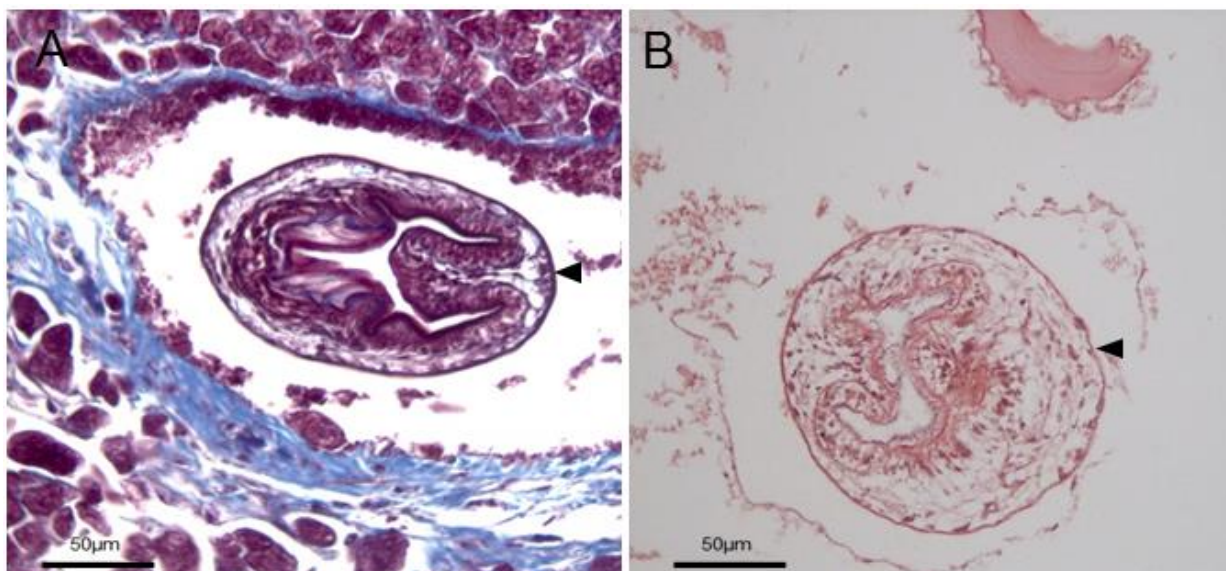


Figura 29 – Protoescólices de *Echinococcus* sp. (►) em tecido hepático de *Cuniculus paca* oriunda de Sena Madureira–AC. (A) Coloração Tricrômico de Masson. (B) Coloração Picrosirius.

Em todas as amostras com *C. hepaticum* foram encontrados aglomerados de ovos cercados por reação granulomatosa e fibrosa em diferentes regiões do parênquima hepático, principalmente em regiões perivasculares. Também foram encontrados infiltrados inflamatórios compostos, principalmente por polimorfonucleares, com a predominância de eosinófilos. Depósitos de fibras de colágeno em diferentes concentrações também foram observados envolvendo aglomerados de ovos sobrepostos (Figura 30).

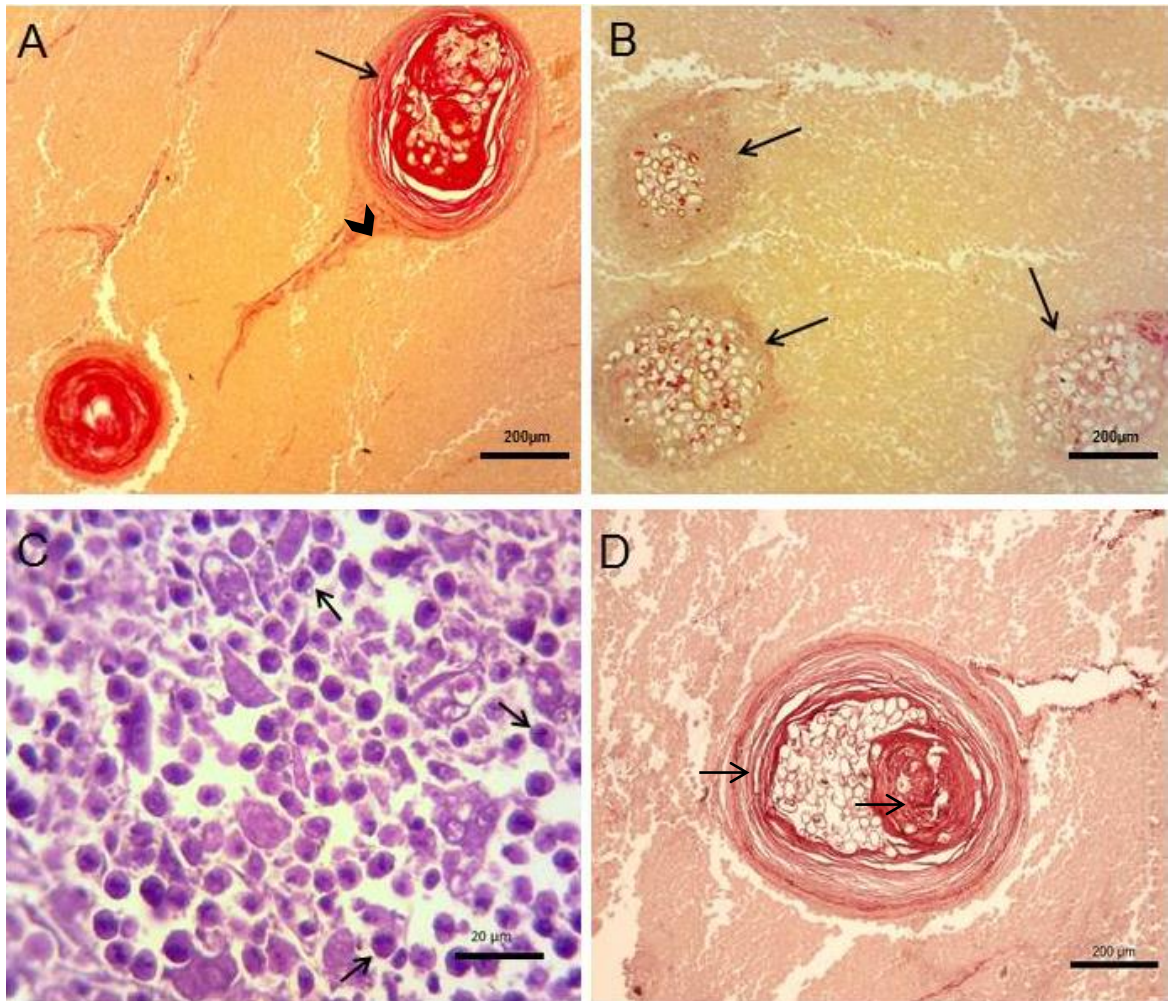


Figura 30 – Alterações histopatológicas hepáticas em *Cuniculus paca* infectadas com *Calodium hepaticum* provenientes de Sena Madureira-AC e Bujari-AC. (A) Reação fibrosa (→) ao redor do aglomerado de ovos de *C. hepaticum* depositado próximo a vaso sanguíneo (➤). Coloração Picosirius; (B) Três aglomerados de ovos de *C. hepaticum* com depósito de fibras de colágeno (→). Coloração Picosirius; (C) Infiltrado inflamatório com predominância de eosinófilos (→). Coloração H&E; (D) Reação fibrosa com diferentes concentrações de colágeno (→) envolvendo aglomerados de ovos sobrepostos. Coloração Picosirius.

Nas amostras com *Echinococcus* sp. (incluindo aquelas com *E. vogeli* identificados por análise morfométrica), exceto a amostra com co-infecção por *C. hepaticum* (que apresentou apenas protoescólices com ausência de cistos), foram encontrados cistos hidáticos apresentando membranas anista e adventícia, porém pouco se observou a presença de cistos com característica trilaminar, que inclui a membrana germinativa. Em nenhuma amostra foi identificada a presença de cápsulas prolíferas em brotamento. A membrana anista sempre se apresentou espessa e, por vezes, com a presença de infiltrado inflamatório. Sua organização foi caracterizada pela formação de policistos e foram observados diferentes gradientes de concentração de colágeno, com maior depósito na face voltada para o interior do cisto e uma menor concentração na região de interface com a membrana adventícia. Já a membrana adventícia se apresentou vascularizada com moderado depósito de fibras de colágeno, caracterizando a região fibrosada do cisto, além de infiltrado inflamatório composto principalmente por eosinófilos, plasmócitos, células de Kupffer e células gigantes multinucleadas (Figura 31).

Protoescólices em diferentes estágios de desenvolvimento dotados de coroa de ganchos foram visualizados repletos de corpúsculos calcários presentes em sua periferia que, por sua vez, também estavam dispostos como aglomerados no interior do cisto. Também foi constatada a presença de ganchos rostelares depositados no interior dos cistos (Figura 32).

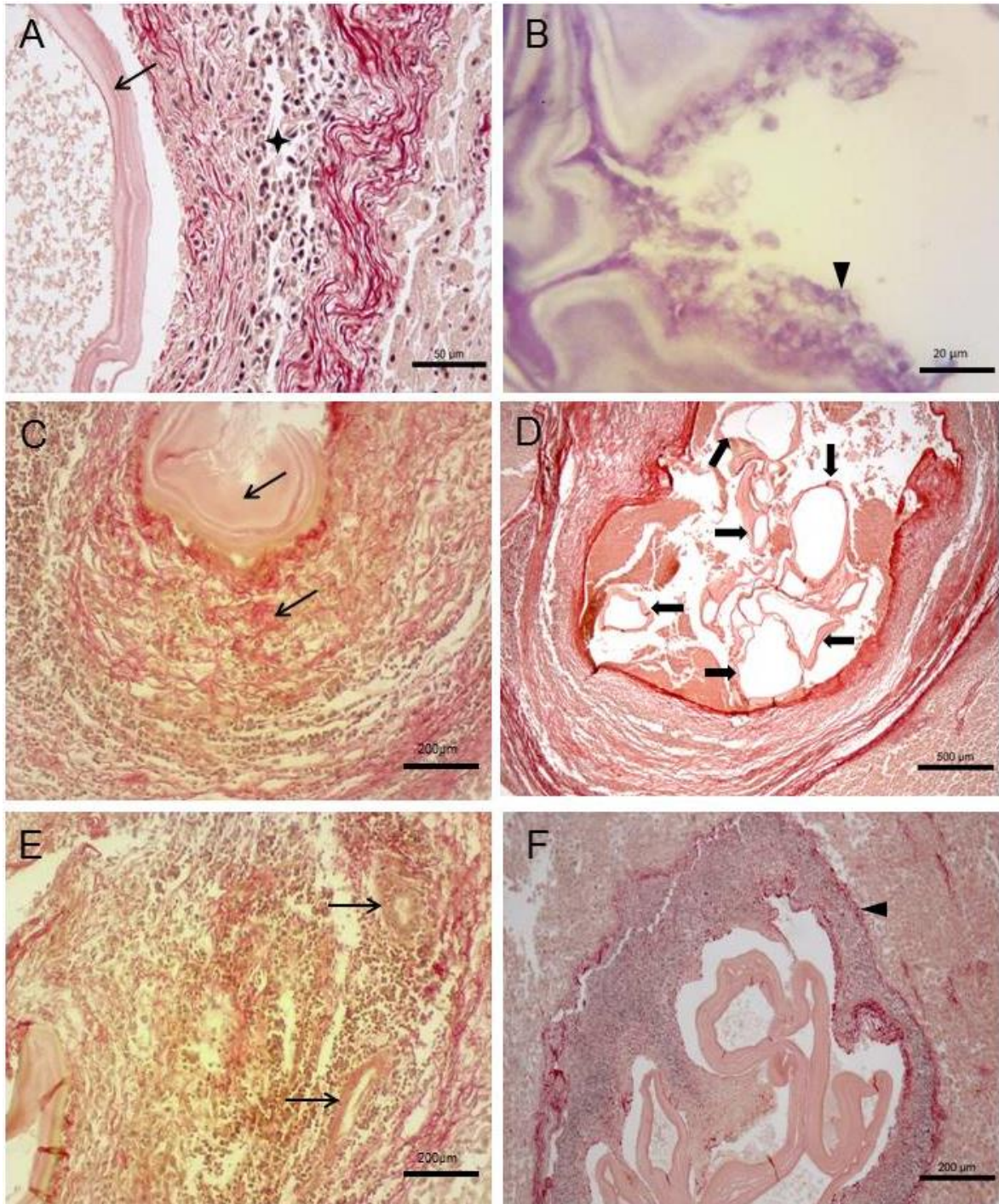


Figura 31 – Características dos cistos hidáticos de *Echinococcus* sp. e *Echinococcus vogeli* no tecido hepático de *Cuniculus paca* oriundas de Xapuri-AC e Corguinho-MS. (A) Membrana anista (→), membrana adventícia (↖). Coloração Picrosirius; (B) Membrana germinativa (↘). Coloração H&E; (C) Membrana anista com diferentes concentrações de depósito de colágeno (→). Coloração Picrosirius; (D) Formação de policistos (↔). Coloração Picrosirius; (E) Presença de vascularização na membrana adventícia. Coloração Picrosirius; (F) Membrana adventícia com intenso infiltrado inflamatório (↘). Coloração Picrosirius.

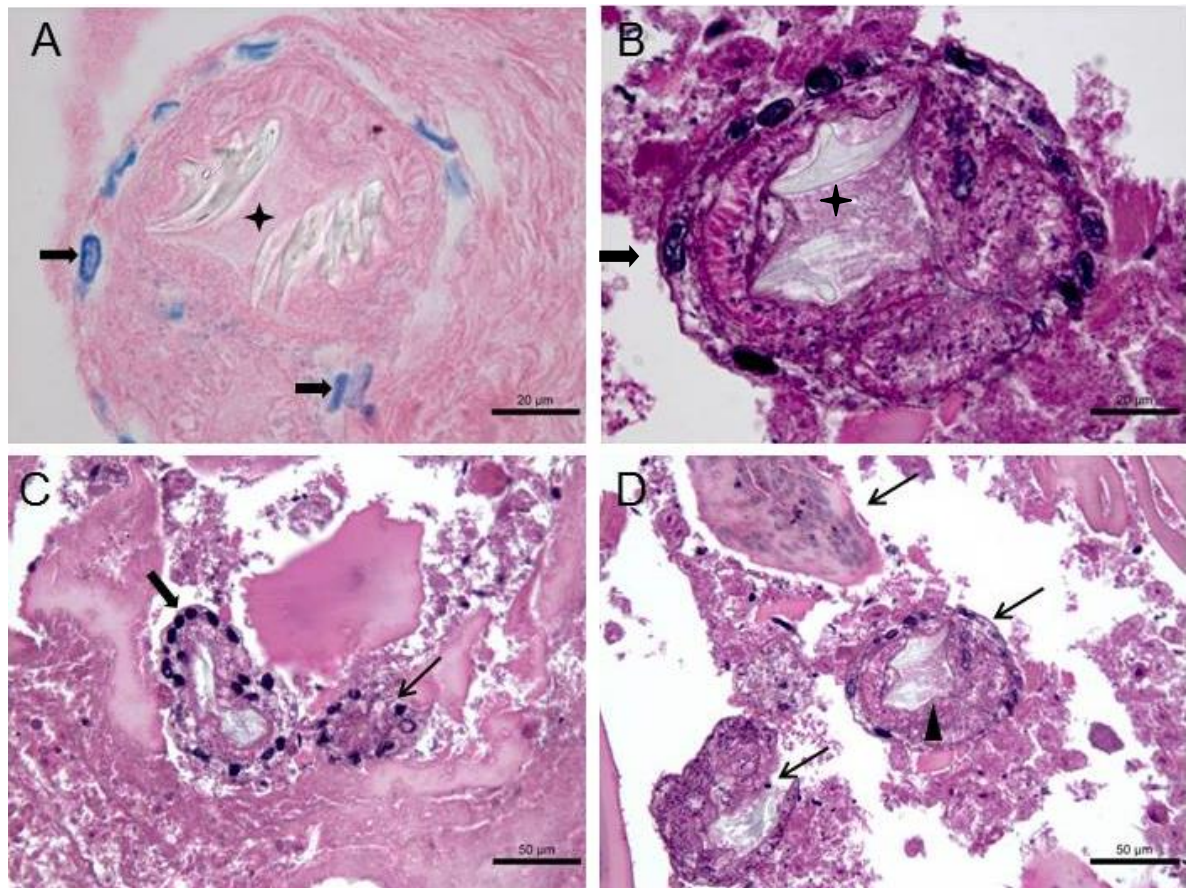


Figura 32 – Protoescólicas e ganchos rostellares de *Echinococcus* sp. e *E. vogeli* no parênquima hepático de *Cuniculus paca* oriundas de Sena Madureira-AC e Corguinho-MS. (A) (B) (C) Protoescólicas com coroa de ganchos (✦) e corpúsculos calcários na periferia (➡). (A) Coloração Giemsa. (B) (C) Coloração H&E; (C) Aglomerado de corpúsculos calcários em início de formação de protoescólicas (➡). (D) Protoescólicas em diferentes estágios de desenvolvimento (➡). Coloração H&E.

A análise histopatológica dos seis fígados com lesões macroscópicas semelhantes à infecção com *C. hepaticum* não evidenciou a presença de formas evolutivas do helminto que confirmasse a suspeita. Em decorrência disso, as alterações macroscópicas identificadas nessas amostras não puderam ser elucidadas pela análise histopatológica.

Sendo assim, alterações histopatológicas sem a determinação das causas ou dos agentes etiológicos envolvidos foram encontradas no parênquima hepático de 15 amostras do estudo, incluindo as seis com alterações semelhantes à infecção por *C. hepaticum*. Por vezes, foram constatadas regiões com infiltrado inflamatório com predominância de eosinófilos, plasmócitos, células de Kupffer, células gigantes multinucleadas e consequente depósito de fibras de colágeno. Além disso, foram identificadas regiões do parênquima hepático apresentando infiltrado inflamatório caracterizando o processo de diapedese a partir do espaço porta (Figura 33).

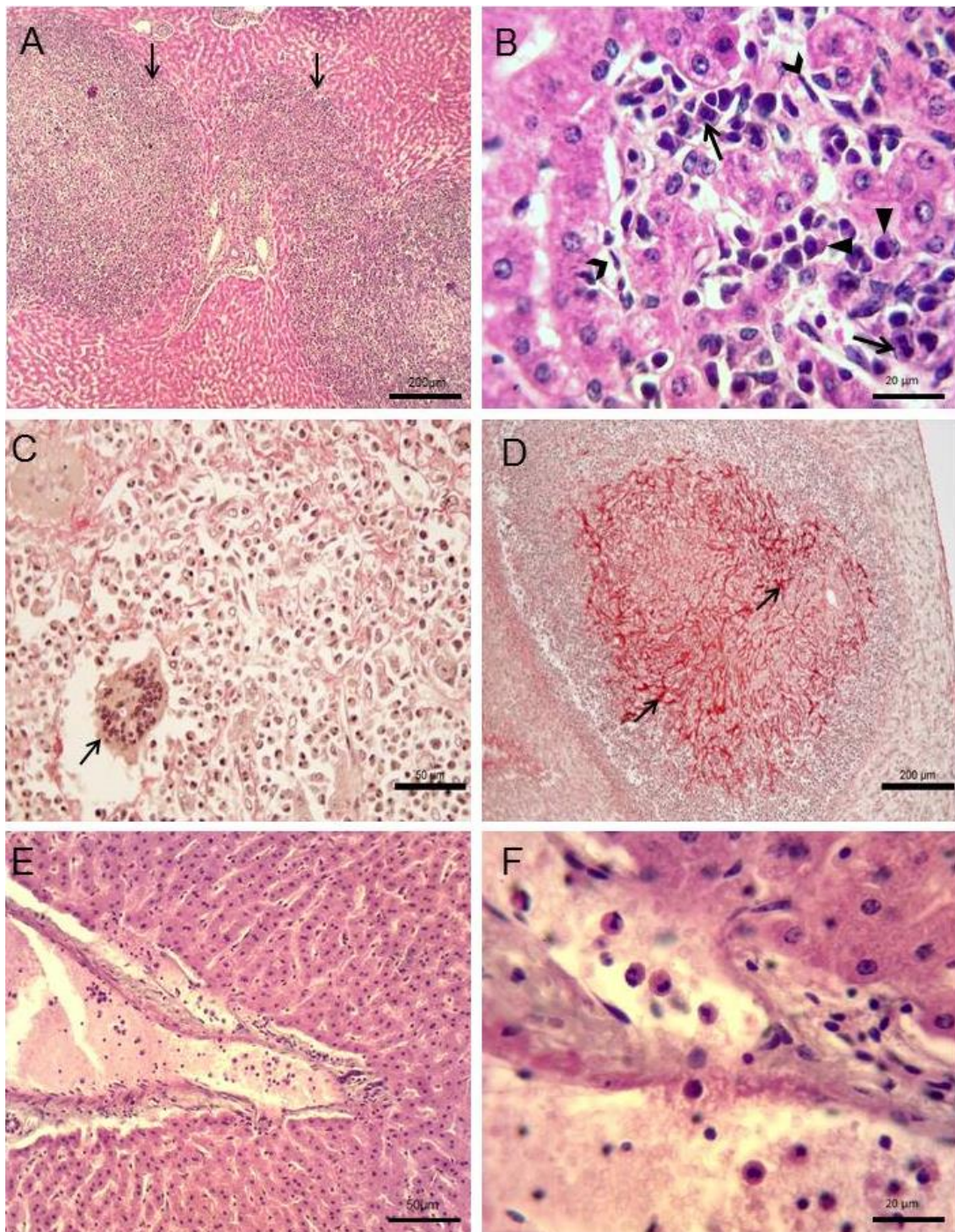


Figura 33 – Infiltrado inflamatório não relacionado à presença de formas evolutivas de helmintos no parênquima hepático de *Cuniculus paca*. (A) Dois polos de infiltrado inflamatório (→). Coloração H&E; (B) Células inflamatórias: eosinófilos (→), plasmócitos (▶), células de Kupffer (▶). Coloração H&E; (C) Células gigantes multinucleadas (→). Coloração Picrosirius; (D) Depósito de fibras de colágeno (→). Coloração Picrosirius; (E) (F) Migração de células inflamatórias (processo de diapedese). Coloração H&E.

Algumas amostras apresentaram regiões com hiperemia, microesteatose hepática e hemácias hipocrômicas no interior de vasos sanguíneos (Figura 34).

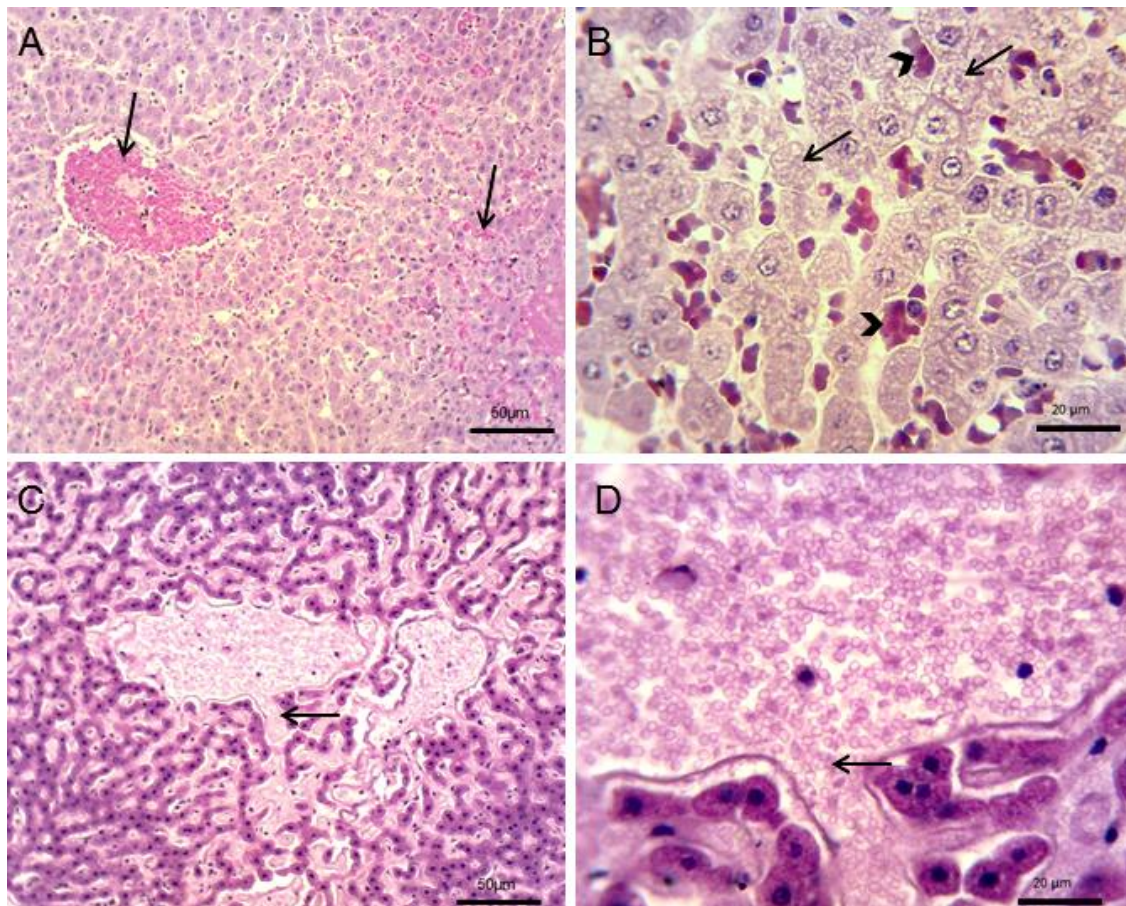


Figura 34 - Alterações sanguíneas no parênquima hepático de *Cuniculus paca*. (A) Sangue acumulado nos sinusóides (→). Coloração H&E; (B) Hemácias nos sinusóides (➤) e microesteatose hepática (→). Coloração H&E; (C) (D) Hemácias hipocrômicas nos sinusóides (→). (A-D) Coloração H&E.

Em todas as amostras que apresentaram lesões histopatológicas, sejam aquelas com presença de cistos hidáticos, ovos de *C. hepaticum*, ou alterações sem determinação do agente agressor, foram observadas áreas do parênquima hepático com processo de necrose (cariopícnose (núcleo picnótico), cariorrexe (núcleo fragmentado) e cariólise (lise nuclear)), bem como regiões de regeneração com hepatócitos binucleados (Figura 35).

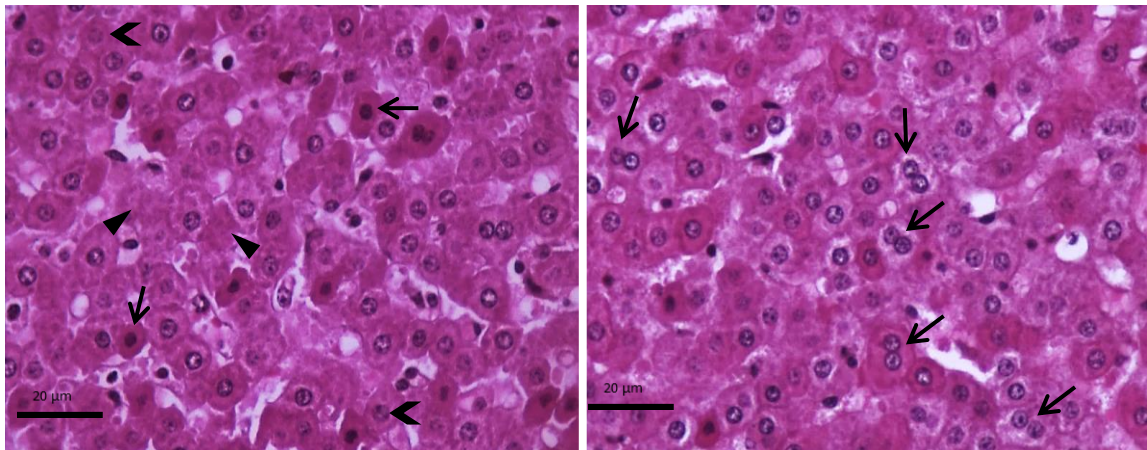


Figura 35 – Áreas de necrose no parênquima hepático de *Cuniculus paca*. (A) Cariopícnose (→), cariorrexe (➤), cariólise (▶). Coloração H&E; (B) Áreas de regeneração com hepatócitos binucleados (→). Coloração H&E.

4.3 Análise molecular

Quatro (três de Xapuri-AC e uma de Corguinho-MS) das sete amostras do estudo cuja presença do metacestóide de *Echinococcus* sp. e *E. vogeli* foi demonstrada em pelo menos uma das análises (diagnóstico parasitológico, morfometria e/ou histopatologia), foram positivas na PCR (Tabela 6).

Tabela 6 – Identificação, localidade e resultados das análises realizadas nas sete amostras de fígados de *Cuniculus paca* infectadas por *Echinococcus* sp. e *Echinococcus vogeli*.

ID (n=7)	Localidade	Lesões macroscópicas	Análises microscópicas			Análise molecular PCR e sequenciamento
			DP	M	H	
02	Sena Madureira	-	N.A.	N.A.	+	-
08	Sena Madureira	-	N.A.	N.A.	+	-
09	Sena Madureira	-	N.A.	N.A.	+	-
07	Xapuri	+	+	++	+	++
08	Xapuri	+	+	N.R.*	+	++
20	Xapuri	+	-	-	+	++
01	Corguinho	+	+	++	+	++

(ID) identificação da amostra; (DP) diagnóstico parasitológico; (M) morfometria; (H) histopatologia; (N.A.) não se aplica; (+) amostra positiva para *Echinococcus* sp.; (-) amostra negativa; (N.R.*) análise não realizada devido a quantidade de líquido hidático insuficiente; (++) confirmação da espécie *Echinococcus vogeli*.

A Figura 36 demonstra a imagem da foto-documentação de um gel de agarose a 1% com os resultados obtidos na PCR. Os sinais de amplificação nas amostras positivas foram os esperados de acordo com a visualização dos *amplicons* obtidos na região entre 400 e 500 pb (450 pb).

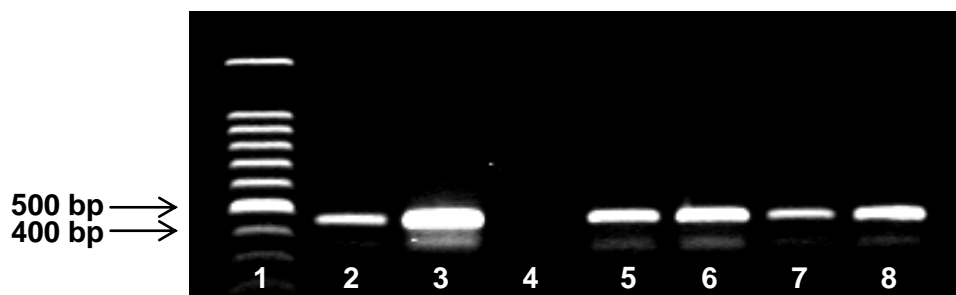


Figura 36 – Resultados da PCR com as amostras do estudo. *Amplicons* da PCR corados com GelRed em gel de agarose a 1%. Legenda: (1) Marcador de peso molecular: 100 bp DNA *Ladder*; (2) Controle positivo: DNA de *E. granulosus* sensu stricto (G1); (3) Controle positivo: DNA de *E. ortleppi*; (4) Controle negativo: reação com ausência de DNA; (5) Amostra 07 (Xapuri-AC); (6) Amostra 08 (Xapuri-AC); (7) Amostra 20 (Xapuri-AC); (8) Amostra 01 de Corguinho-MS.

O sequenciamento automático dos *amplicons* purificados confirmou a espécie *Echinococcus vogeli* nas quatro amostras positivas na PCR. A Tabela 7 reúne as informações da análise realizada na ferramenta BLAST com relação ao percentual de identidade entre as sequências nucleotídicas obtidas com as sequências de *E. vogeli* de referência depositadas na base de dados NCBI (GenBank) até maio de 2016.

Tabela 7 – Percentuais de identidade entre as sequências nucleotídicas de *Echinococcus vogeli* obtidas nas amostras do estudo e as sequências do gene *cox 1* de *E. vogeli* depositadas na base de dados GenBank-NCBI até maio de 2016.

Referências no GenBank* (n=4)	Amostra 07 de Xapuri-AC	Amostra 08 de Xapuri-AC	Amostra 20 de Xapuri-Ac	Amostra de Corguinho-MS
<u>KM588266.1</u>	100%	100%	99%	99%
<u>AB208546.1</u>	99%	99%	99%	99%
<u>JX315616.1</u>	99%	99%	99%	99%
<u>M84670.1</u>	99%	99%	99%	99%

* Número de acesso no GenBank-NCBI das sequências nucleotídicas do gene *cox 1* de *Echinococcus vogeli* utilizadas como referência no presente estudo.

As Figuras 37, 38, 39 e 40 demonstram as sequências de nucleotídeos de *E. vogeli* obtidas nas amostras do estudo.

1	ATCCTGAGGT	TTATGTGTTA	ATTTTGCCTG	GGTTTGGTAT	AATTAGTCAT	50
51	ATATGTTTGA	GGGTTAGTGC	TAATTTGGAT	GTGTTTGGTT	TTTATGGGTT	100
101	ATTGTTTGCT	ATGTTTTCTA	TAGTATGTTT	AGGAAGTAGG	GTTTGAGGGC	150
151	ATCATATGTT	TACTGTTGGG	TTGGATGTGA	AGACGGCTGT	TTTTTTTAGT	200
201	TCTGTACTA	TGATTATAGG	GGTTCCTACT	GGTATAAAGG	TGTTTACTTG	250
251	GTTGTATATG	TTGTTGAATT	CGAGTGTGAA	TAAGGGTGAT	CCGGTTTTAT	300
301	GGTGAGTGGT	TTCTTTTATA	GTGTTGTTTA	CGTTTGGTGG	TGTTACTGGT	350
351	ATAGTTTTGT	CTGCTTGTGT	ATTGGATAAT	GTTTTGCATG	ATACTTGGTT	400
401	TGTGGTAGCT	CATTTTCATT	ATGTT			

Figura 37 - Sequência nucleotídica de parte (425 bp) do gene mitocondrial *cox 1* de *Echinococcus vogeli* obtida em fígado de paca oriunda de Xapuri-AC (amostra 07).

1	ATCCTGAGGT	TTATGTGTTA	ATTTTGCCTG	GGTTTGGTAT	AATTAGTCAT	50
51	ATATGTTTGA	GGGTTAGTGC	TAATTTGGAT	GTGTTTGGTT	TTTATGGGTT	100
101	ATTGTTTGCT	ATGTTTTCTA	TAGTATGTTT	AGGAAGTAGG	GTTTGAGGGC	150
151	ATCATATGTT	TACTGTTGGG	TTGGATGTGA	AGACGGCTGT	TTTTTTTAGT	200
201	TCTGTTACTA	TGATTATAGG	GGTTCCTACT	GGTATAAAGG	TGTTTACTTG	250
251	GTTGTATATG	TTGTTGAATT	CGAGTGTGAA	TAAGGGTGAT	CCGGTTTTAT	300
301	GGTGAGTGGT	TTCTTTTATA	GTGTTGTTTA	CGTTTGGTGG	TGTTACTGGT	350
351	ATAGTTTTGT	CTGCTTGTGT	ATTGGATAAT	GTTTTGCATG	ATACTTGGTT	400
401	TGTGGTAGCT	CATTTTCATT	ATGT			

Figura 38 - Sequência nucleotídica de parte (424 bp) do gene mitocondrial *cox 1* de *Echinococcus vogeli* obtida em fígado de paca oriunda de Xapuri-AC (amostra 08).

1	ATCCTGAGGT	TTATGTGTTA	ATTTTGCCTG	GGTTTGGTAT	AATTAGTCAT	50
51	ATATGTTTGA	GGGTTAGTGC	TAATTTGGAT	GTGTTTGGTT	TTTATGGGTT	100
101	ATTGTTTGCT	ATGTTTTCTA	TAGTATGTTT	AGGAAGTAGG	GTTTGAGGGC	150
151	ATCATATGTT	TACTGTTGGG	TTGGATGTGA	AGACGGCTGT	TTTTTTTAGT	200
201	TCTGTTACTA	TGGTTATAGG	GGTTCCTACT	GGTATAAAGG	TGTTTACTTG	250
251	GTTGTATATG	TTGTTGAATT	CGAGTGTGAA	TAAGGGTGAT	CCGGTTTTAT	300
301	GGTGAGTGGT	TTCTTTTATA	GTGTTGTTTA	CGTTTGGTGG	TGTTACTGGT	350
351	ATAGTTTTGT	CTGCTTGTGT	ATTGGATAAT	GT		

Figura 39 - Sequência nucleotídica de parte (382 bp) do gene mitocondrial *cox 1* de *Echinococcus vogeli* obtida em fígado de paca oriunda de Xapuri-AC (amostra 20).

1	CATCCTGAGG	TTTATGTGTT	AATTTTGCCT	GGGTTTGGTA	TAATTAGTCA	50
51	TATATGTTTG	AGGGTTAGTG	CTAATTTGGA	TGTGTTTGGG	TTTTATGGGT	100
101	TATTGTTTGC	TATGTTTTCT	ATAGTATGTT	TAGGAAGTAG	GGTTTGAGGG	150
151	CATCATATGT	TACTGTTGGG	GTTGGATGTG	AAGACGGCTG	TTTTTTTTAG	200
201	TTCTGTTACT	ATGATTATAG	GGGTTCTACT	TGGTATAAAG	GTGTTTACTT	250
251	GATTGTATAT	GTTGTTGAAT	TCGAGTGTGA	ATAAGGGTGA	TCCGGTTTTA	300
301	TGGTGAGTGG	TTTCTTTTAT	AGTGTGTTT	ACGTTTGGTG	GTGTTACTGG	350
351	TATAGTTTTG	TCTGCTTGTG	TATTGGATAA	TGTTTTGCAT	GATACTTGGT	400
401	TTGTGGTAGC	TCATTTTCAT	TATG			

Figura 40 - Sequência nucleotídica de parte (424 bp) do gene mitocondrial *cox 1* de *Echinococcus vogeli* obtida em fígado de paca oriunda de Corguinho-MS (amostra 01).

5 DISCUSSÃO

Estudos envolvendo pacas da região Amazônica do Brasil são escassos diante da importância alimentar que este roedor possui nesta região, sobretudo os que analisam o tecido hepático, já que o fígado de *C. paca* é o órgão de maior ocorrência de helmintos como *Echinococcus vogeli*, capaz de causar grave doença no homem (Meneghelli et al., 1990; Almeida et al., 2013; Espinosa et al., 2016; Nogueira-Filho et al., 2016; Silva-Neto et al., 2016).

Considerando todas as amostras de fígados do presente estudo (n=35), foram evidenciadas alterações hepáticas em vinte e sete (77,1%), sendo que os oito fígados (22,9%) onde não foram encontradas lesões macro e microscópicas, apresentaram as características esperadas compatíveis com as relatadas por Carvalho et al. (2012) quando descreveram os aspectos macro e microscópicos do fígado de paca.

Com relação aos perfis de lesões macroscópicas encontradas nas amostras do estudo (n=10), em quatro (três de Xapuri-AC e uma de Corguinho-MS) foram observadas lesões esféricas compatíveis com *Echinococcus* sp. e as características dessas lesões estavam de acordo com as descrições encontradas na literatura (Almeida et al., 2013; Vizcaychipi et al., 2013; Mayor et al., 2015). Adicionalmente, em seis amostras de Xapuri-AC foram encontradas lesões esbranquiçadas características de infecção por *C. hepaticum* e embora a análise histopatológica tenha demonstrado alterações teciduais sem a evidenciação de formas evolutivas de *Calodium hepaticum*, estudos recentes relacionaram esse perfil de lesões macroscópicas comumente atreladas a presença de ovos e helmintos adultos de *C. hepaticum* nos tecidos analisados (Kataranovski et al., 2010; Simões et al., 2014; Sinniah et al., 2014).

No caso das quatro amostras com lesões macroscópicas compatíveis com *Echinococcus* sp., o diagnóstico parasitológico revelou a presença de protoescolices e ganchos rostelares do helminto em apenas três (duas de Xapuri-AC e uma de Corguinho-MS). Adicionalmente, a quantidade insuficiente de líquido hidático presente nos cistos em uma das três amostras de Xapuri-AC impossibilitou a realização da análise morfométrica, embora tenha permitido a visualização do parasito. Em outra amostra, a análise morfométrica não pôde ser realizada devido à

ausência de ganchos rostelares no líquido hidático. Resumidamente, a identificação da espécie envolvida por meio da morfometria, importante método de caráter taxonômico, ficou impossibilitada em duas (Xapuri-AC) das quatro amostras do estudo com lesões compatíveis com *Echinococcus* sp. D'Alessandro (2010) relatou a mesma dificuldade para definir o agente etiológico de um metacestóide que não apresentou ganchos e protoescólices no conteúdo do líquido interno das lesões, considerando-o uma forma atípica de *E. granulosus* na ocasião do diagnóstico, uma vez que *E. vogeli* ainda não havia sido descrito. Apesar da ausência de ganchos rostelares de *Echinococcus* sp. em duas amostras, a análise morfológica e morfométrica realizada nas outras duas (uma de Xapuri-AC e outra de Corguinho-MS) evidenciou caracteres taxonômicos compatíveis com os descritos na literatura para a espécie *Echinococcus vogeli* (Somocurcio et al., 2004; Knapp et al., 2009; Almeida et al., 2013; Vizcaychipi et al., 2013; Almeida et al., 2015; Mayor et al., 2015).

E. vogeli, principal cestóide envolvido na etiologia da equinococose policística, apresenta a paca como hospedeiro intermediário principal (D'Alessandro et al., 1996; D'Alessandro, 1997). Considerando todas as análises do presente estudo e o total de fígados de pacas analisados (n=35) na busca de lesões macro e microscópicas, os nossos resultados assinalaram infecção por *Echinococcus* spp. em sete (20%) amostras, estando quatro delas associadas a fígados com lesões macroscópicas bem características como já discutido e as outras três relacionadas com amostras onde não foram observadas lesões macroscópicas. A espécie *E. vogeli*, por sua vez, foi confirmada em quatro amostras (11%). Em duas dessas, essa evidência se deu por análise morfométrica e nas outras duas amostras, a presença da espécie foi demonstrada por análise molecular. Sendo assim, nossos resultados corroboram com estudos que também assinalaram a infecção do metacestóide de *E. vogeli* em pacas da região Amazônica colombiana (D'Alessandro et al., 1981), brasileira (D'Alessandro & Rausch, 2008), venezuelana (Noya-Alarcón et al., 2011), do norte da Argentina (Vizcaychipi et al., 2013) e peruana (Mayor et al., 2015). Nas outras três amostras, a confirmação da infecção por *Echinococcus* sp. foi determinada apenas pela análise histopatológica.

A impossibilidade da realização da análise morfométrica em algumas das amostras com *Echinococcus* sp., abriu caminho para a realização de metodologias moleculares que viessem suprir a necessidade de identificar a espécie envolvida.

Mesmo que a identificação da espécie tenha sido possível em quatro amostras (três de Xapuri-AC e uma de Corguinho-MS), não tivemos o mesmo sucesso com as três amostras com *Echinococcus* sp. oriundas de Sena Madureira-AC, mesmo com a aplicação de abordagens moleculares. No caso dessas amostras que não foram conservadas em etanol a 70% (coletadas antes de 2015), esse insucesso se deu, muito provavelmente, pelo trabalho desenvolvido com material biológico fixado apenas em formalina, a qual é prejudicial para a estrutura dos materiais genéticos e/ou é capaz de inibir as reações da PCR.

Sequências curtas de DNA mitocondrial podem ser úteis para distinguir indivíduos de espécies diferentes, incluindo helmintos (Hajibabaei et al., 2007). O gene mitocondrial codificador da subunidade 1 do citocromo c oxidase (*cox 1*), por exemplo, é bastante utilizado em análises moleculares por PCR com o intuito de detectar e identificar as variantes genéticas existentes nas espécies do gênero *Echinococcus*, porém, o sequenciamento automático sempre complementa esses protocolos (Bowles et al., 1992; Santos et al., 2012; Cucher et al., 2016). Nossos resultados permitiram a confirmação da espécie *E. vogeli* por meio da PCR associada ao sequenciamento automático e estão de acordo com Santos et al. (2012), único estudo brasileiro que realizou a caracterização molecular do material genético de metacestóides de *E. vogeli* e *Echinococcus oligarthrus*, trabalhando com 42 amostras obtidas de hospedeiros intermediários da região Amazônica do Brasil, entre pacas, cutias, tatus e isolados humanos. A abordagem também envolveu a detecção por PCR e análise por sequenciamento utilizando o marcador mitocondrial *cox 1*.

O presente estudo evidenciou um caso de co-infecção (2,8%) por *E. vogeli* e *C. hepaticum* em um amostra de fígado de paca oriunda de Sena Madureira-AC. Este resultado está de acordo com Almeida et al. (2013) que, associando as informações obtidas por meio de análises macroscópica e microscópica dos tecidos hepáticos, juntamente com o diagnóstico parasitológico fornecido pela análise do conteúdo extraído das lesões e pela morfologia e morfometria das formas evolutivas encontradas, descreveram o primeiro caso de infecção mista causada por *E. vogeli* e *C. hepaticum* em paca oriunda de área florestal da mesma região no Acre.

Com relação à análise histopatológica das amostras com *Echinococcus* sp. (n=7), incluindo aquelas com a espécie *E. vogeli*, foram visualizados cistos hidáticos em todas elas. Entretanto, as características das membranas desses cistos se

apresentaram em contraste com as de estudos anteriores, que demonstraram cistos constituídos de três membranas (germinativa, anista e adventícia) (Meneghelli et al., 1990; Mayor et al., 2015). Nossos resultados, porém, descreveram a membrana germinativa em apenas uma amostra (Xapuri-AC), apresentando-se como um fragmento muito delgado. Trabalhos anteriores relatam que cistos com membrana germinativa muito fina são, geralmente estéreis e não possuem ganchos ou protoescólices (Bortoletti & Ferretti, 1978; da Silva, 2011). Porém, esta informação não se aplica por completo em nossos resultados, já que das quatro amostras que apresentaram líquido hidático, em apenas uma delas foi visualizado um resquício de membrana germinativa. Adicionalmente, nas amostras em que encontramos ganchos e protoescólices, a membrana germinativa do cisto também não foi visualizada. Apesar dessas evidências, não pode ser descartada a possibilidade de rompimento desta membrana em decorrência do processamento histológico.

Os nossos resultados descreveram a espessa membrana anista presente nos cistos, com diferentes concentrações de depósito de colágeno e com a presença de infiltrados inflamatórios compostos principalmente por eosinófilos e plasmócitos. Entretanto, a existência de infiltrado inflamatório nesse tipo de membrana é pouco relatada na literatura (D'Alessandro & Rausch, 2008; Mayor et al., 2015; Mihăilă et al., 2016), sendo associado principalmente à membrana adventícia. Por sua vez, a membrana adventícia visualizada com suas características fibrosa, vascular e com infiltrado inflamatório e fibras de colágeno, tiveram a descrição no nosso estudo corroborando com os da literatura (D'Alessandro & Rausch, 2008; Mihăilă et al., 2016). Já a presença de protoescólices em diferentes estágios de desenvolvimento, bem como o depósito de ganchos rostelares no interior dos cistos, infere a atividade produtiva do cisto e a presença de vesículas prolíferas, ainda que estas não estivessem visíveis na organização da membrana germinativa (D'Alessandro & Rausch, 2008, da Silva, 2011).

A literatura a respeito da equinococose policística não contempla o estabelecimento e desenvolvimento inicial do cisto hidático de *E. vogeli* desde a entrada da oncosfera no fígado. Porém, é relatado que, macroscopicamente, o metacestóide do helminto se desenvolve como numerosos cistos no fígado de *C. paca* (Almeida et al., 2013; Vizcaychipi et al., 2013; Mayor et al., 2015). As descrições dos estágios de desenvolvimento dos cistos hidáticos são realizadas a partir do acompanhamento da evolução de metacestóides presentes no homem,

porém, não são voltadas para os estágios iniciais, uma vez que os pacientes, geralmente, recorrem ao atendimento médico na ocasião da doença sintomática, por sua vez, caracterizada por significativo acometimento do fígado, com a presença de cistos internos e externos bem estabelecidos (D'Alessandro & Rausch, 2008). Nossos resultados evidenciaram três amostras de fígados de pacas de Sena Madureira-AC contendo cistos internos e/ou microscópicos não vistos na análise macroscópica, pela ausência de lesões aparentes. Em contrapartida, trabalhos anteriores que analisaram fígados de pacas não descreveram os procedimentos adotados para a investigação dos fígados que não apresentaram lesões macroscópicas (D'Alessandro & Rausch, 2008; Mayor et al., 2015). O presente trabalho optou por analisar histologicamente todos os fígados obtidos a despeito da ausência de alterações macroscópicas. Sendo assim, estudos que não procederam dessa maneira podem ter deixado de evidenciar a presença de cistos internos, supostamente em estágios iniciais, quando optaram por realizar análises histopatológicas de fígados exclusivamente com lesões macroscópicas.

A presença de ovos biopericulados imaturos de *C. hepaticum* encontrados no parênquima hepático de *C. paca* e outros roedores é recorrente na literatura (Matamoros et al., 1991; Almeida et al., 2013, Simões et al., 2014; Rocha et al., 2015). Além de encontrar ovos de *C. hepaticum* em seis (17%) amostras do estudo (três de Sena Madureira-AC e três de Bujari-AC), foram evidenciadas medidas de comprimento e largura dos ovos semelhantes as anteriormente descritas (Matamoros et al., 1991; Almeida et al., 2013, Simões et al., 2014; Rocha et al., 2015). Embora nas amostras com lesões macroscópicas não tenham sido encontradas formas evolutivas de *C. hepaticum*, nossos resultados demonstraram a presença de ovos do helminto em amostras que não apresentaram lesões macroscópicas como já relatado em estudos prévios (Nascimento & Sadigursky, 1986). Do Carmo Pereira Soares et al., (2011) também evidenciaram a presença de ovos de *C. hepaticum* após processamento e análise histológica do material proveniente de animais silvestres do noroeste do Mato Grosso. Os fígados obtidos de *Tayassu pecari* (queixada) e de *Ateles paniscus* (macaco-aranha) que possuíam os ovos do parasito também não apresentavam lesões aparentes na análise macroscópica.

Ainda com relação à presença de ovos de *C. hepaticum* no parênquima hepático de *C. paca*, o presente estudo identificou aglomerados de ovos cercados por reação

granulomatosa e fibrosa como relatado por Simões et al. (2014) ao analisar fígado de *Rattus norvegicus* de área urbana. A presença desses aglomerados de ovos foi encontrada principalmente em regiões perivasculares, sugerindo uma estratégia do helminto adulto em promover condições nutricionais mais favoráveis para seu desenvolvimento. Todas as alterações hepáticas encontradas em decorrência da presença de ovos de *C. hepaticum* caracterizadas como infecções agudas (quando em presença de pouco depósito de colágeno e células polimorfonucleares) e crônicas (quando em presença de intenso depósito de fibras de colágeno e células mononucleares) foram compatíveis com descrições relatadas para infecções agudas e crônicas causadas por *C. hepaticum* em outros roedores e mamíferos (Simões et al., 2014, Sinniah et al., 2014; Rocha et al., 2015).

Nenhum verme adulto de *C. hepaticum* foi encontrado nos fígados analisados, sugerindo que na ocasião do abate das pacas, os vermes adultos do helminto já haviam sido mortos e desintegrados pelo sistema imunológico do animal, como relatado para o próprio ciclo natural do helminto (Sawamura et al., 1999; Fuehrer et al., 2011; Quadros et al., 2016). Apesar dos vermes adultos não terem sido identificados nem mesmo em decomposição no parênquima hepático, a presença de alguns focos inflamatórios discretos compostos por fibrose, macrófagos, eosinófilos e plasmócitos fazem referência à degeneração de vermes adultos de *C. hepaticum*, como relatado por Rocha (2014). Nessas amostras, a presença de regiões do parênquima hepático apresentando necrose, condizem com as observadas por Sawamura et al. (1999), que relataram a necrose hepática causada pela desintegração dos parasitos e liberação dos ovos no fígado. As regiões de necrose relatadas no presente estudo também concordam Palma et al. (2009), quando observaram numerosos ovos biopericulados de *C. hepaticum* em tecido hepático de cães e associados a eles, áreas de necrose multifocal.

Alterações hepáticas sem a determinação da(s) possível(is) causa(s), até mesmo pela ausência de formas evolutivas de parasitos nos locais lesionados foram relatadas em quinze (42,8%) amostras do estudo, incluindo seis que também apresentaram lesões macroscópicas. Nossos resultados inferiram algumas informações a respeito da dinâmica hepática nas pacas que apresentaram amostras com essas lesões não explicadas de forma determinada. Infiltrados inflamatórios, predominantemente compostos por eosinófilos, plasmócitos, células de Kupffer e células gigantes multinucleadas, com consequente depósito de fibras de colágeno,

foram observadas em muitas regiões do parênquima hepático e pareciam migrar para o local de maior concentração a partir do espaço porta, evidenciando o processo de diapedese. A partir destas observações pode-se sugerir a ocorrência de infecção ativa e talvez recorrente devido à presença de células mononucleares e polimorfonucleares, características de infecções crônicas e agudas, respectivamente (Almeida, 2012).

Regiões do parênquima hepático com marcadores de necrose (Resendes et al., 2009) também foram observadas sem determinação específica de causa, e podem estar relacionadas com infecções parasitárias, assim como sugerido por Rocha et al., 2015. Além dessas alterações estruturais nos hepatócitos, nossos resultados evidenciaram a presença de hepatócitos binucleados (Almeida, 2012), sugerindo uma regeneração do parênquima hepático.

Hemácias hipocrômicas também foram identificadas no interior dos vasos sanguíneos dessas amostras e embora as relações entre hemácias hipocrômicas e infecções por *E. vogeli* ou *C. hepaticum* não estejam relatadas na literatura, a presença de hemácias hipocrômicas pode sugerir que o animal esteja respondendo as consequências de infecções pelo fato de apresentar um padrão desordenado na produção e proliferação de hemácias. Nesse caso, as hemácias são produzidas e liberadas rapidamente sem que as hemoglobinas estejam adequadamente formadas, caracterizando um descompasso entre a síntese de hemoglobina e a proliferação das hemácias. Isso pode fazer com que o animal apresente deficiências de oxigênio e ferro (Hotez et al., 2010; Bethony et al., 2011; Dracz et al., 2014). Hemácias hipocrômicas também foram encontradas a partir de análises hematológicas realizadas em cães infectados com *Angiostrongylus vasorum*, *Ancylostoma caninum* e com ambos os helmintos. A presença dessas hemácias foi relatada na infecção exclusiva com *A. caninum*, sugerindo que uma das causas para a presença de hemácias hipocrômicas possa ser infecção por helmintos (Dracz et al., 2014). Esses autores sugeriram ainda que a presença de eosinofilia, sem a presença de agente agressor pode estar relacionada com a resposta inflamatória gerada durante as fases migratórias que ocorrem antes que o helminto atinja a maturidade sexual.

O presente trabalho também identificou regiões do parênquima hepático com microesteatose e congestão em uma amostra (sem a determinação do agente causador) proveniente de Xapuri-AC. A presença de microesteatose hepática em

pacas não é relatada na literatura, porém a partir desses achados histopatológicos pode-se inferir que estes processos ocorram em decorrência da deficiência na oxigenação hepática (hipóxia), podendo ser comprovada pela má circulação sanguínea no órgão (congestão). Enjoji et al. (2012) relataram que a esteatose hepática se relaciona com estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e inflamação, o que acaba por causar danos ao fígado. Nesse processo há acúmulo de triacilgliceróis e ácidos graxos livres no fígado devido a mudanças no fluxo, síntese, oxidação e transporte de ácidos graxos. Em decorrência disso, é desencadeada uma disfunção mitocondrial resultando num desequilíbrio oxidativo e diminuição da produção de ATP que acaba por afetar o processo natural de metabolização de ácidos graxos livres no fígado (Rolo et al., 2012; Than & Newsome, 2015). A mitocôndria por ser responsável pelo metabolismo de lipídeos é amplamente reconhecida como importante mediador na doença e na progressão da esteatose (Begrache et al., 2006; Serviddio et al., 2008; Galloway et al., 2014). Entretanto, os parâmetros que caracterizam uma disfunção mitocondrial, incluindo as alterações no consumo de oxigênio, atividade do complexo respiratório e a oxidação dos ácidos graxos, diferem amplamente na literatura.

O papel zoonótico que pacas desempenham como fonte de infecção na capilariose hepática e equinococose policística foi também relatado por Almeida (2012) ao estudar cinco fígados de pacas de vida livre provenientes do município de Bujari-AC, onde se verificou a alta prevalência de infecção por *E. vogeli* em três fígados (60%) e um desses em co-infecção com *C. hepaticum* (20%). Da mesma forma, nossos resultados também demonstram a infecção por *C. hepaticum* em três fígados de pacas do mesmo município, assim como co-infecção com *Echinococcus* sp. e *C. hepaticum* em uma amostra de Sena Madureira-AC. Nesse sentido, observa-se que o contato de seres humanos com roedores e cães, devido ao caráter zoonótico de helmintos parasitos, pode ser considerado um risco à saúde coletiva, especialmente em crianças (Ilha & Barros, 2000).

Casos humanos de capilariose hepática são raros e pouco relatados, sobretudo na região Amazônica do Brasil, onde é comum a ocorrência da caça de roedores silvestres e a partilha das vísceras desses animais com cães domésticos, sendo este um hábito que favorece o desenvolvimento da doença no ambiente domiciliar (Gonçalves et al., 2012). No presente estudo, o relato de amostras de fígados infectados com ovos de *C. hepaticum* de pacas caçadas por moradores de áreas

florestais do estado do Acre, aponta para um risco potencial da transmissão da capilariose humana no município de Sena Madureira. Estudo semelhante foi desenvolvido por Gonçalves et al. (2012) que relataram uma taxa de 6,7% (nove casos) de infecção espúria em uma comunidade rural da Amazônia com 135 indivíduos, um dos mais altos registros da literatura. Essa taxa foi semelhante ao estimado para os povos indígenas da região Amazônica, como os do noroeste do estado de Mato Grosso (8,6%) (do Carmo Pereira Soares et al., 2011) e da etnia Suruí em Rondônia (5,2%) (Palhano-Silva et al., 2009), indicando que a região Amazônica tem uma das maiores incidências de infecção espúria em todo o mundo. Este trabalho ainda enfatiza o hábito da ingestão de fígados de animais silvestres caçados, inclusive de *C. paca* (85%), animal também considerado como o mais caçado na região. Esta informação demonstra o alto risco de humanos ingerirem fígados contaminados com ovos imaturos de *C. hepaticum*. Dessa forma o homem passa a contribuir para a contaminação do peridomicílio eliminando ovos imaturos livres no ambiente que estarão propensos à maturação e continuação do ciclo natural do helminto, visto que essas regiões são carentes de saneamento básico e condições adequadas de higiene.

Embora regiões da Floresta Amazônica do Brasil sejam consideradas endêmicas para a equinococose policística, poucos são os estudos realizados envolvendo o helminto *E. vogeli* em seus hospedeiros, definitivos e intermediários, naturais (Meneghelli et al., 1990; Santos et al., 2012; Almeida et al., 2013; do Carmo Pereira Soares et al., 2014; Neves, 2016). No estado do Acre, por exemplo, estão presentes os fatores epidemiológicos que caracterizam a endemicidade da doença, tais como: cachorro vinagre (D'Alessandro & Rausch, 2008; do Carmo Pereira Soares et al., 2014), cães domésticos (Neves, 2016) e pacas infectados (Meneghelli et al., 1990; Almeida et al., 2013), além de pacientes com histórico de caça para subsistência e o hábito da alimentação de cães domésticos com vísceras cruas de pacas (Meneghelli et al., 1986; Siqueira et al., 2007; Siqueira et al., 2013; Neves, 2016). Fígados de pacas infectados com *E. vogeli* analisados no nosso estudo foram provenientes dos municípios de Sena Madureira-AC e Xapuri-AC, locais que a literatura apontou previamente para a ocorrência de casos clínicos humanos confirmados de equinococose policística e/ou indivíduos com sorologia positiva residentes em áreas urbanas e rurais (Pastore et al., 2003a,b; Pereira, 2014), além de pacas (Almeida et al., 2013) e cão doméstico (Neves, 2016) infectados.

No Brasil, os registros de pacas infectadas por *E. vogeli* são referentes a animais oriundos da região Norte (Meneghelli et al., 1990; Almeida et al., 2013). No presente estudo, um fígado de paca proveniente do estado do Mato Grosso do Sul, região Centro Oeste do país, apresentou alterações macroscópicas sugestivas de equinococose policística. Porém, ainda que o estado do Mato Grosso do Sul reúna as condições ecológicas necessárias para a circulação e transmissão do helminto, como a ocorrência de cachorro vinagre, cães domésticos e paca (Alho et al., 2011), ainda não havia sido registrada a infecção por *E. vogeli* em pacas no estado. Apesar disso, a literatura aponta para a ocorrência da equinococose cística em bovinos no estado do Mato Grosso do Sul, porém, a prevalência encontrada (0,46%) para a hidatidose foi bastante inferior à média brasileira (3,44%) (Schenk & Schenk, 1982). Consideramos esse achado um resultado muito notável, pois pela primeira vez, o encontro da infecção natural de *E. vogeli* em pacas no Mato Grosso do Sul demonstra o ciclo silvestre do helminto em uma relação trófica ecológica predatória no município de Corguinho (D'Alessandro & Rausch, 2008; Raoul et al., 2015); amplia a sua distribuição geográfica atualmente conhecida, não estando restrita à região norte do Brasil; e sinaliza para o potencial desenvolvimento do ciclo doméstico do *E. vogeli* colocando em risco a população humana da região.

6 CONCLUSÕES

Diante da importância alimentar de *Cuniculus paca* para o homem e seus animais domésticos, sobretudo em regiões de floresta, pesquisas que visem analisar as condições fisiológicas deste roedor ganham importância uma vez que podem ampliar o conhecimento sobre a dinâmica biológica entre os parasitos que a utilizam como hospedeira. Nesse sentido, analisando o fígado de pacas, o presente trabalho:

- identifica a presença de helmintos com potencial zoonótico como o *Echinococcus vogeli* e o *Calodium hepaticum* (por meio de análises morfológica e morfométrica e/ou molecular) parasitando pacas de áreas florestais do Acre;
- descreve a interação de helmintos a nível tecidual, sobretudo de *E. vogeli*, somando-se aos poucos estudos que enfatizaram esse aspecto;
- alerta para uma presente interação desses parasitos com as pacas mesmo nos casos de ausência de lesões macroscópicas no órgão;
- evidencia que o descarte inadequado das vísceras das pacas abatidas nestas regiões pode propagar o ciclo biológico desses parasitos, promovendo infecções, que mesmo consideradas acidentais, podem ser graves para o homem;
- amplia o conhecimento sobre a distribuição geográfica de parasitos, como a primeira descrição do helminto *E. vogeli* em pacas oriundas na região Centro-Oeste e portanto, fora da região Norte do Brasil, como sempre fora relatado.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Al-Jawabreh A, Dumaidi K, Ereqat S, Nasereddin A, Al-Jawabreh H, Azmi K, Al-Laham N, Abdeen Z. Incidence of *Echinococcus granulosus* in domestic dogs in Palestine as revealed by copro-PCR. PLoS Negl Trop Dis. 2015;9(7):e0003934.

Alho CJ, Camargo G, Fischer E. Terrestrial and aquatic mammals of the Pantanal. Braz J Biol. 2011;71(1 Suppl):297-310.

Almeida F, Rodrigues-Silva R, Neves RH, Romani EL, Machado-Silva JR. Intraspecific variation of *Echinococcus granulosus* in livestock from Peru. Vet Parasitol. 2007;143(1):50-8.

Almeida F. Hidatidose policística no norte do Brasil: abordagem parasitológica e histopatológica de pacas e casos humanos. Rio de Janeiro. Tese [Doutorado em Microbiologia] - Universidade do Estado do Rio de Janeiro; 2012.

Almeida F, Caldas R, Corrêa C, Rodrigues-Silva R, Siqueira N, Machado-Silva JR. Co-infections of the cestode *Echinococcus vogeli* and the nematode *Calodium hepaticum* in the hystricomorphic rodent Agouti paca from a forest reserve in Acre, Brazil. J Helminthol. 2013;87(4):489-93.

Almeira F, Oliveira F, Neves R, Siqueira N, Rodrigues-Silva R, Daipert-Garcia D, Machado-Silva JR. Morphometric characteristics of the metacestode *Echinococcus vogeli* Rausch & Bernstein, 1972 in human infections from the northern region of Brazil. J Helminthol. 2015;89(4):480–6.

Almeida SCX, Martins RLM, Moraes MAP, Viegas CA, Grilo M. Hidatidose pulmonar policística mimetizando lesões metastáticas: relato de caso. J Pneumol. 1997;23(5):261-3.

Antoniou M, Tselentis Y. Studies on *Echinococcus granulosus* using the scanning electron microscope. I. Preparations of the parasite for infection of the final host. Parasitol Res. 1993;79(7):537-42.

Aquino MLRS, de Lima VER, Gama e Silva ZAGP. Manejo madeireiro na floresta estadual do Antimary, estado do Acre, Brasil. Rev NERA. 2011;14(19):104-35.

Aquino R, Gil D, Pezo E. Ecological aspects and hunting sustainability of paca (*Cuniculus paca*) in the Itaya river basin, Peruvian Amazonia. Rev Peru Biol. 2009;16(1):067-72.

Asquith NM, Terborgh J, Arnold AE, Riveros CM. The fruits the agouti ate: *Hymenaea courbaril* seed fate when its disperser is absent. J Trop Eco. 1999;15:229-35.

Baquedano Santana LE. Presencia y lesiones gastrointestinales por helmintos del majaz *Agouti paca* de vida libre de la cuenca del Río Yavarí-Mirí (Loreto-Perú). Tese. National University of San Marcos; 2014.

Barrera I, González A. La cría y domesticación del conejo pintado *Agouti paca*. 1st ed. San José: UICN; 1999.

Beck–King H, Helversen OV, Beck–King R. Home Range, Population Density and Food Resources of *Agouti paca* (Rodentia: Agoutidae) in Costa Rica: A Study Using Alternative Methods. Biotropica. 1999;31(4):675-85.

Begrache K, Igoudjil A, Pessayre D, Fromenty B. Mitochondrial dysfunction in NASH: causes, consequences and possible means to prevent it. Mitochondrion. 2006;6(1):1-28.

Bethony JM, Cole RN, Guo X, Kamhawi S, Lightowers MW, Loukas A, Petri W, Reed S, Valenzuela JG, Hotez PJ. Vaccines to combat the neglected tropical diseases. *Immunol Rev.* 2011;239(1):237-70.

Bodmer RE, Pezo E. Análisis económico del uso de fauna silvestre em la Amazonía Peruana. In: Fang TG, Montenegro OL, Bodmer RE. Manejo y Conservación de Fauna Silvestre en América Latina. Bolivia: Editorial Instituto de Ecología; 1999. p. 171-82.

Bork-Mimm S, Rinder H. High prevalence of *Capillaria plica* infections in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Southern Germany. *Parasitol Res.* 2011;108(4):1063-7.

Bortoletti G, Ferretti G. Ultrastructural aspects of fertile and sterile cysts of *Echinococcus granulosus* developed in hosts of different species. *Int J Parasitol.* 1978;8(6):421-31.

Botelho ALM. Caça de subsistência e os mamíferos da Resex do Alto Tarauacá, Acre. Rio Branco. Dissertação [Mestrado em Ecologia e Manejo de Recursos Naturais] - Universidade Federal do Acre; 2013.

Bourée P. Hydatidosis: dynamics of transmission. *World J Surg.* 2001;25(1):4-9.

Bovincino CR, Oliveira JA, D'andrea PS. Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseados em caracteres externos. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa – OPAS/OMS; 2008.

Bowles J, Blair D, Mcmanus DP. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial Sequencing. *Mol Biochem Parasitol.* 1992;54(2):165-73.

Bundy DAP, Thompson DE, Cooper ES, Blanchard J. Rate of expulsion of *Trichuris trichiura* with multiple and single dose regimens of albendazole. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1985;79(5):641-4.

Cabrera A, Yepes J, Wiedner CC. Mamíferos sud-americanos: História Natural Ediar. Buenos Aires, Argentina: Companhia Argentina de Editores; 1960.

Caputo LFG, Gitirana LB, Manso PPA. Técnicas Histológicas. In: Molinaro EM, Caputo LFG, Amendoeira MRR. Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde: volume 2. Rio de Janeiro: EPSJV, IOC; 2010. p. 89-188.

Carabaño R, Piquer J. The digestive system of the rabbit. In: Blas C, Wiseman J. (Ed.) The nutrition of the rabbit. Wallingford: CABI Publishing, 1998. p.1-16.

Carvalho ALEGF, Martins LL, Bosso ACS, Machado MRF. Morfologia do fígado da paca (*Cuniculus paca*, Linnaeus 1766). Biotemas. 2012;25(2):109-15.

Cenamo MC, Carrero GC, Soares PG. Redução de Emissões do Desmatamento e Degradação Florestal (REDD+): Estudo de Oportunidades para o Sul do Amazonas; 2011 [citado em 18 de janeiro de 2016]. Disponível em: http://idesam.org.br/publicacao/REDD_Estudo_de_Oportunidades_Sul_Amazonas.pdf.

Chiarello AG, Aguiar LMS, Cerqueira R, Melo FR, Rodrigues FHG, da Silva VMF. Mamíferos. In: Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. MMA Fundação Biodiversitas Biodiversidade; 2008. p. 680-880.

Choe G, Lee HS, Seo JK, Chai JY, Lee SH, Eom KS, Chi JG. Hepatic capillaritis: first case report in the Republic of Korea. Am J Trop Med Hyg. 1993;48(5):610-25.

Collet SF. Population characteristics of *Agouti paca* (Rodentia) in Colombia. Biol Series. 1981;5:601.

Constantino PAL, Fortini LB, Sabino FR, Kaxinawa FRS, Kaxinawa AM, Kaxinawa ES, Kaxinawa AP, Kaxinawa LS; Kaxinawa JM, Kaxinawa JP. Indigenous collaborative research for wildlife management in Amazonia: The case of the Kaxinawá, Acre, Brazil. Biol Cons. 2008;141:2718-29.

Cross JH. Capillariosis. In: Palmer SR, Soulsby L, Simpson IH. Zoonoses. Oxford: Oxford University; 1998. p. 773-781.

Cucher MA, Macchiaroli N, Baldi G, Camicia F, Prada L, Maldonado L, Avila HG, Fox A, Gutiérrez A, Negro P, López R, Jensen O, Rosenzvit M, Kamenetzky L. Cystic echinococcosis in South America: systematic review of species and genotypes of *Echinococcus granulosus* sensu lato in humans and natural domestic hosts. Trop Med Int Health. 2016;21(2):166-75.

Cullen JRL, Bodmer RE, Valladares-Pádua C. Effects of hunting in habitat fragments of the Atlantic forests, Brazil. Biol Cons. 2000;95:49-56.

da Silva AM. Hydatid cyst/cystic echinococcosis: anatomical and surgical nomenclature and method to quantify the cyst content solidification. Chin Med J (Engl). 2011;124(18):2806-12.

D'Alessandro A. Polycystic echinococcosis in tropical America: *Echinococcus vogeli* and *E. oligarthrus*. Acta Tropica, 1997;67:43–65.

D'Alessandro A. Hidatidosis poliquística tropical por *Echinococcus vogeli*. Ver Asoc Med Arg. 2010;123(1).

D'Alessandro A, Moraes MA, Raick AN. Polycystic hydatid disease in Brazil. Report of five new human cases and a short review of other published observations. Rev Soc Bra Med Trop. 1996;29:219-28.

D'Alessandro A, Rausch RL. New aspects of neotropical polycystic (*E. vogeli*) and unicystic (*E. oligarthrus*). Clin Microbiol Rev. 2008;21(2):380-40.

D'Alessandro A, Rausch RL, Morales GA, Collet S, Angel D. *Echinococcus* infections in Colombian animals. Am J Trop Med Hyg. 1981;30:1263-76.

Davoust B, Biasi C, Demoncheaux JP, Diatta G, Pasqualini C, Piarroux R. Capillariose hépatique (*Calodium hepaticum*) chez des rongeurs en Ituri (République démocratique du Congo) et à Dakar (Sénégal). Bull Soc Pathol Exot. 2014;107(1):7-9.

Debourgogne A, Blanchet D, Fior A, Umhang G, Simon S, Aznar C. Neotropical echinococcosis caused by *Echinococcus vogeli* in a 6-year-old child: the second case report in humans in French Guiana. Paediatr Int Child Health. 2015. DOI: 10:2046905515Y0000000054.

Di Cesare A, Castagna G, Meloni S, Milillo P, Latrofa S, Otranto D, Traversa D. Canine and feline infections by cardiopulmonary nematodes in central and southern Italy. Parasitol Res. 2011;109(1 Suppl):S87–96.

do Carmo Pereira Soares M, Nunes HM, Silveira FAA, Alves MM, Souza de Souza AJ. *Capillaria hepatica* (Bancroft, 1893) (Nematoda) entre populações indígenas e mamíferos silvestres no noroeste do Estado do Mato Grosso, Brasil, 2000. Rev Pan-Amaz Saúde. 2011;2(3):35-40.

do Carmo Pereira Soares M, Souza de Souza AJ, Pinheiro Malheiros A, Nunes HM, Almeida Carneiro L, Alves MM, Farias da Conceição B, Gomes-Gouvêa MS, Marins Póvoa M. Neotropical echinococcosis: second report of *Echinococcus vogeli* natural infection in its main definitive host, the bush dog (*Speothos venaticus*). Parasitol Intern. 2014;63(2):485-7.

Dracz RM, Mozzer LR, Fujiwara RT, Lima Wdos S. Parasitological and hematological aspects of co-infection with *Angiostrongylus vasorum* and *Ancylostoma caninum* in dogs. *Vet Parasitol.* 2014;200(1-2):111-6.

Eisenberg JF, Redford KH. Order Rodentia. In: Eisenberg JF. *Mammals of the neotropics: the northern neotropics* Panama, Colombia, Venezuela, Guyana, Suriname, French Guiana. Chicago: University of Chicago; 1989. p. 395-7.

Emmons LH. *Agouti paca*. In: Emmons LH, Feer F. *Neotropical rain Forest mammals. A field Guide*. Chicago: The University of Chicago Press; 1990. p. 204-5.

Emmons LH, Feer F. *Mamíferos de los bosques húmedos de América Neotropical: Una guía de campo*. Santa Cruz de la Sierra: Editorial FAN; 1999.

Enjoji M, Yasutake K, Kohjima M, Nakamuta M. Nutrition and nonalcoholic fatty liver disease: the significance of cholesterol. *Int J Hepatol.* 2012;2012. ID=925807.

Ergueta P, Morales C. *Libro rojo de los vertebrados terrestres de Bolivia*. La Paz: Editorial FOCET Boliviana EDOBOL; 1996.

Espinosa CC, Galiano D, Kubiak BB, Marinho JR. Medium - and large - sized mammals in a steppic savanna area of the Brazilian Pampa: survey and conservation issues of a poorly known fauna. *Braz J Biol.* 2016. DOI: 10.1590/1519-6984.12714.

Falavigna LM, Freitas CBR, Melo GC, Nishi L, Araújo SM, Falavigna-Guilherme AL. Qualidade de hortaliças comercializadas no noroeste do Paraná, Brasil. *Parasitol Latinoam.* 2005;60:144-9.

Fonseca GAB, Lourival RFF. Análise de sustentabilidade do modelo de caça tradicional, no pantanal Nhecolândia, Corumbá, MS. In: Garay I, Dias B.

Conservação da Biodiversidade em Ecossistemas Tropicais. Petrópolis: Vozes. 2001. p. 150-6.

Fowler ME. Rodents (rodentia). J Zoo wildl med. 2.ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1986. p. 728-47.

Freitas JFT, Lent H. Novo nematódeo da subfamília Heligmosominae Travassos, 1914, parasito de *Agouti paca* (L.): *Avellaria avellari* n. gen. sp. nov. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1934;28(4):577-83.

Fuehrer HP. An overview on the host spectrum and distribution of *Calodium hepaticum* (syn. *Capillaria hepatica*): part 1- Muroidea. Parasitol Res. 2014a;113(2):619-40.

Fuehrer HP. An overview of the host spectrum and distribution of *Calodium hepaticum* (syn. *Capillaria hepatica*): part 2 - Mammalia (excluding Muroidea). Parasitol Res. 2014b;113:641-51.

Fuehrer HP, Igel P, Auer H. *Capillaria hepatica* in man – an overview of hepatic capillariosis and spurious infections. Parasitol Res. 2011;109(4):969-79.

Galloway CA, Lee H, Brookes PS, Yoon Y. Decreasing mitochondrial fission alleviates hepatic steatosis in a murine model of nonalcoholic fatty liver disease. Am J Physio Gastrointest Liver Physiol. 2014;307(6):G632-41.

Galvão VA. Estudos sobre *Capillaria hepatica*: uma avaliação do seu papel patogênicos para o homem. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1981;76:415-33.

Gonçalves AQ. Análise da helmintofauna de roedores hístrocognatos (*Dasyprocta fuliginosa* e *Agouti paca*) dos municípios de Barcelos e Santa Isabel do Ríó Negro, Estado do Amazonas, Brasil. Rio de Janeiro. Dissertação - Instituto Oswaldo Cruz – FIOCRUZ; 2003.

Gonçalves AQ, Bóia MN, Coura JR, Pinto RM. New records for helminths of hystricognath rodents from the middle and high Rio Negro microregion State of Amazonas, Brazil. *Rev Bras Zool.* 2006;23(3):716-26.

Gonçalves AQ, Ascaso C, Santos I, Serra PT, Julião GR, Orlandi PP. *Calodium hepaticum*: household clustering transmission and the finding of a source of human spurious infection in a community of the Amazon region. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(12):e1943.

González A, Ríos V. Guía para el manejo, cría y conservación de la "paca" (*Agouti paca*) o "Conejo pintado". 2ª ed., corregida y aumentada. Bogotá: Convenio Andrés Bello; 2002.

Governo do Estado de Mato Grosso do Sul. Estudo da dimensão territorial do estado de Mato Grosso do Sul: Regiões de Planejamento [citado em 18 de maio de 2016]. Disponível em: http://www.semade.ms.gov.br/wp-content/uploads/sites/20/2015/03/estudo_dimensao_territorial_2015.pdf.

Grosso G, Gruttadauria S, Biondi A, Marventano S, Mistretta A. Worldwide epidemiology of liver hydatidosis including the Mediterranean area. *World J Gastroenterol.* 2012;18(13):1425-37.

Gudinho FS, Lopez NAF, Oliveira JGA, Oliveira LS, Henriques ACC, Tardio BMR. Comparação entre o habitat de ocorrência de *Dasyprocta agouti* e *Cuniculus paca* em fragmentos florestais de mata atlântica no Sul da Bahia. In: X Congresso de Ecologia do Brasil; 2011 set 16-22; São Lourenço, Brasil.

Guimarães DAA, Bastos LV, Ferreira ACS, Luz-Ramos RS, Ohashi OM, Ribeiro HL. Reproductive characteristics of the female paca (*Agouti paca*) raised in captivity. *Acta Amazônica.* 2008;38(3):531-8.

Guzmán C. Uso, preferencia de hábitat y aprovechamiento del tepezcuintle, *Cuniculus paca* (Linneo, 1766) en el Parque Estatal de la Sierra de Tabasco, México. Xalapa. Dissertação [Mestrado em Ciências em Manejo da Fauna Silvestre] - Instituto de Ecología A.C.; 2008.

Hajibabaei M, Singer GA, Clare EL, Hebert PD. Design and applicability of DNA arrays and DNA barcodes in biodiversity monitoring. *BMC Biol.* 2007;5(24):1-7.

Hamir AN, Rupprecht CE. Hepatic capillariasis (*Capillaria hepatica*) in porcupines (*Erethizon dorsatum*) in Pennsylvania. *J Vet Diagn Invest.* 2000;12:463-5.

Hernández AL, Vivanco MMVD, Silva JLZ. Microbiología, Parasitología Médicas. Editorial Ciencias Médicas; 2001.

Hobbs RP, Lymbery AJ, Thompson RC. Rostellar hook morphology of *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) from natural and experimental Australian hosts, and its implications for strain recognition. *Parasitology.* 1990;101:273-81.

Hotez PJ, Bethony JM, Diemert DJ, Pearson M, Loukas A. Developing vaccines to combat hookworm infection and intestinal schistosomiasis. *Nat Rev Microbiol.* 2010;8:814-26. DOI:10.1038/nrmicro2438.

Huanca-Hurachi G, Herrera J, Noss A. Population density and habitat use of the paca (*Cuniculus paca*) in the north of the Amboro-Carrasco conservation complex. *Ecología en Bolivia.* 2011;46(1):4-13.

Ilha MRS, Barros CSL. Capilarirose hepática em cães e gatos: 15 casos. *Ciênc Rural.* 2000;30:665-9.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estados@ [citado em 6 de maio de 2016]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=ac>

Isola JGMP, Moraes PC, Rahal SC, Machado MRF. Morphology, ultrastructure and morphometry of the tegument of paca (*Cuniculus paca* Linnaeus, 1766) raised in captivity. *Pesqui Vet Bras.* 2013;33(5):674-82.

Jenkins DJ. Hydatid control in Australia: where it began, what we have achieved and where to from here. *Int J Parasitol.* 2005;35(7):733-40.

Junqueira LCU, Bignolas G, Brentani RR. Picrosirius staining plus polarization microscopy: a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem J.* 1979;11(4):447-55.

Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia Básica.* 10^a Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.

Kataranovski M, Zolotarevski L, Belij S, Mirkov I, Stošić J, Popov A, Kataranovski D. First record of *Calodium hepaticum* and *Taenia taeniaeformis* liver infection in wild norway rats (*Rattus norvegicus*) in Serbia. *Arch Biol Sci.* 2010;62(2):431-40.

Knapp J, Chirica M, Simonnet C, Grenouillet F, Bart JM, Sako Y, Itoh S, Nakao M, Ito A, Millon L. *Echinococcus vogeli* infection in a Hunter, French Guiana. *Emerg Infect Dis.* 2009;15:2029-31.

Kohatsu H, Zaha O, Shimada K, Chibana T, Yara I, Shimada A, Hasegawa H, Sato Y. A space-occupying lesion in the liver due to *Capillaria* infection. *Am J Trop Med Hyg.* 1995;52(5):414-8.

Laska M, Baltazar JML, Luna ER. Food preferences and nutrient composition in captive pacas, *Agouti paca* (Rodentia, Dasyproctidae). *Mamm Biol.* 2003;68:31-41.

Lennert K. *Malignant lymphomas other than Hodgkin's disease.* New York: Springer-Verlag; 1978.

Liu CN, Lou ZZ, Li L, Yan HB, Blair D, Lei MT, Cai JZ, Fan YL, Li JQ, Fu BQ, Yang YR, McManus DP, Jia WZ. Discrimination between *E. granulosus sensu stricto*, *E. multilocularis* and *E. shiquicus* using a multiplex PCR assay. PLoS Negl Trop Dis. 2015;22;9(9):e0004084.

Lourenço RFS, Dias RS, Gomes APA. Criação de paca (*Agouti paca*) como alternativa de diversificação de produção e renda em Minas Gerais. In: Anais 46º Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociedade Rural, Rio Branco, Acre. 2008;1-20.

Macedo MI, Horta F, Valverde D, Souza S. Primeiro Relato de Helminhos em *Agouti paca* Linnaeus, 1766 (Rodentia: Agoutidae) do Município de Juiz de Fora, Minas Gerais. In: XIX Congresso Brasileiro de Parasitologia; 2005; Porto Alegre, Brasil. Rev Soc Bras Med Trop. 2005;38.

Matamoros Y. El tepezcuintle. Biocenosis. 1985;1(5):21-2.

Matamoros Y, Velásquez J, Pashov B. Parásitos intestinales del tepezcuinte, *Agouti paca* (Rodentia: Dasyproctidae) en Costa Rica. Rev Biol Trop. 1991;39(1):173-6.

Matamoros Y, Pashov B. El estomago Del tepezcuinte (*Cuniculus paca*) su estructura histológica y reacciones histoquímicas. Cienc Vet. 1982;4:15-20.

Matamoros Y, Pashov B. Ciclo estral del tepezcuintle (*Cuniculus paca*) en cautiverio. Bren J. 1984; 22:249-60.

Mauro RA, Aguiar LMS, Santos JCC. Paca – *Agouti paca*. Fauna e Flora do Cerrado, Campo Grande, Novembro 2004 [citado em 28 de abril de 2016]. Disponível em: <http://www.cnpqg.embrapa.br/paca.html>.

Mayor P, Baquedano LE, Sanchez E, Aramburu J, Gomez-Puerta LA, Mamani VJ, Gavidia CM. Polycystic Echinococcosis in Pacas, Amazon Region, Peru. *Emerg Infect Dis.* 2015;21(3):456-9.

Mayor P, Guimarães DA, López C. Functional morphology of the genital organs in the wild paca (*Cuniculus paca*) female. *Anim Reprod Sci.* 2013;140(3-4):206-15.

McManus DP, Bowles J. Molecular genetic approaches to parasite identification: their value in diagnostic parasitology and systematics. *Int J Parasitol.* 1996;26(7):687-704.

McManus DP. Current status of the genetics and molecular taxonomy of *Echinococcus* species. *Parasitology.* 2013;140(13):1617-23.

Meneghelli UG, Barbó MLP, Magro JE, Belluci AD, Velludo MASL. Polycystic hydatid disease (*Echinococcus vogeli*): clinical and radiological manifestations and treatment with albendazol of a patient from the Brazilian Amazon region. *Arg Gastroenterol.* 1986;23(3):177-83.

Meneghelli UG, Martinelli ALC, Velludo MASL. *Echinococcus vogeli* cysts in paca liver (*Cuniculus paca*) native from the Acre State, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1990;23(3):153-5.

Michalski F, Norris D. Activity pattern of *Cuniculus paca* (Rodentia: Cuniculidae) in relation to lunar illumination and other abiotic variables in the southern Brazilian Amazon Zoo. 2011;28:701-8.

Michalski LJ, Norris D, de Oliveira TG, Michalski F. Ecological relationships of meso-scale distribution in 25 neotropical vertebrate species. *PLoS One.* 2015;10(5):e0126114.

Mihăilă DE, Nitu MC, Potecă TD. Histopathological Aspects Described in Patients with Hepatic Hydatidosis. Rom J Intern Med. 2016;54(1):47-53.

Millán J, Chirife AD, Proboste T, Velarde R. Factors associated with the prevalence and pathology of *Calodium hepaticum* and *C. splenaecum* in periurban micromammals. Parasitol Res. 2014;113:3001-6.

Mondolfi E. La laca a paca. Defensa de la Naturaleza. 1972;2(5):04-16.

Mones A, Gonzales J, Praderi R, Clara M. Diversidad de la Biota Uruguaya: Mammalia. Anales: Museo Nacional de Historia Natural Y Antropologia. 2003;10(4):1-28.

Moraes MAP, Arnaud MVC. Hidatidose - Equinococose neotropical. In: Leão RN, Bichara CN, Miranda ECB, et al. Doenças infecciosas e parasitárias: enfoque Amazônico. Belém: Instituto Evandro Chagas; 1997. p. 717-21.

Moreira JR, Macdonald DW. Técnicas de manejo de capivaras e outros grandes roedores na Amazônia. In: Vallades-Pádua C, Bodmer RE, Wellen JL. Manejo e Conservação de Vida Silvestre no Brasil. Sociedade Civil Mamirauá, Belém, Pará; 1997. p. 186-213.

Nascimento I, Sadigursky M. Capillaria hepática: alguns aspectos imunopatológicos da infecção espúria e da infecção verdadeira. Rev Soc Bras Med Trop. 1986;19(1):21-5.

Neves LB. Aplicação da reação em cadeia da polimerase (PCR) para a detecção de DNA de *Echinococcus* sp. em fezes de cães domésticos (*Canis familiaris*) do Acre. Rio de Janeiro. Dissertação [Mestrado em Microbiologia] – Universidade do Estado do Rio de Janeiro; 2016.

Neves RH, Costa-Silva M, Martinez EM, Biolchini CL, Lenzi HL, Gomes DC, Machado-Silva JR. Reproductive system abnormalities in *Schistosoma mansoni* adult worms isolated from *Nectomys squamipes* (Muridae: Sigmodontinae): brightfield and confocal laser scanning microscopy analysis. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2003;98(3):361-5.

Nogueira TMR. Alguns parâmetros fisiológicos e reprodutivos da paca (*Agouti paca* Linneus, 1766), em cativeiro. Jaboticabal. Dissertação - Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Estadual Paulista e Veterinárias de Jaboticabal; 1997.

Nogueira-Filho SLG, Nogueira SSC. Criação de Pacas (*Agouti paca*). Piracicaba: FEALQ; 1999.

Nogueira-Filho SLG, Bastos IH, Mendes A, Nogueira SSC. Protein requirements of finishing paca (*Cuniculus paca*). Trop Anim Health Prod. 2016;48(5):1005-11.

Noya-Alarcón O, Colmenares C, Lander O, Monteiro M, Cantele H, Petit M, Botto C, Alarcón de Noya B. Hidatidosis poliquistica autóctona en dos pacientes Yanomami em el Alto Orinoco, Amazonas, Venezuela. Bol Mal Salud Amb. 2011;51(2):159-65.

Palhano-Silva CS, Araújo AJG, Lourenço AEP, Bastos OMP, Santos RV, Coimbra-Junior CEA. Intestinal Parasitic Infection in the Suruí Indians, Brazilian Amazon. INCI. 2009;24(4):259-64.

Palma HE, Basso PC, Amaral AS, Silva AP, Silva CF. Parasitismo por *Calodium hepaticum* em dois cães. Cienc Rural. 2009;39(9):2642-5.

Pastore R, Vitali LH, Macedo V de O, Prata A. A serological survey of the infection by *Echinococcus* sp. in the municipality of Sena Madureira, Acre. Rev Soc Bras Med Trop. 2003a;36(4):473-7.

Pastore R, Vitali LH, Weirich J, Tojal AC, Macedo V de O, Prata A. Hidatidosis poliquistica: relato de dois casos procedentes de Sena Madureira, Acre, na Amazônia brasileira. Rev Soc Bras Med Trop. 2003b;36(1):97-101.

Pereira TM. Soro-reatividade para hidatidose policística e análise sócio-epidemiológica em Sena Madureira, Acre - Brasil. Rio de Janeiro. Dissertação [Mestrado em Microbiologia] – Universidade do Estado do Rio de Janeiro; 2014.

Pereira VMM. Estudo da helmintologia de *Mus musculus* (Rodentia) em São Miguel (Açores): factores indutores de diversidade e potencial zoonótico. Lisboa. Dissertação [Mestrado em Biologia Humana e Ambiente] – Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa; 2009.

Peres CA. Effects of subsistence hunting on vertebrate community structure in Amazonian forests. Conserv Biol. 2000;14:240–53.

Peres CA, Lake IR. Extent of nontimber resource extraction in tropical forests: accessibility to game vertebrates by hunters in the Amazon Basin. Conserv Biol. 2003;17(2):521-35.

Perez EM. *Agouti paca*. Mammalian Species.1992;404:1-7.

Portal do Governo do Acre. Bujari [citado em 06 de maio de 2016]. Disponível em: <http://bit.ly/20708uD>.

Portal do Governo do Acre. O Estado [citado em 06 de maio de 2016]. Disponível em: <http://www.ac.gov.br/wps/portal/acre/Acre/estado-acre>.

Portal do Governo do Acre. Xapuri [citado em 06 de maio de 2016]. Disponível em: <http://bit.ly/1ToVmZ2>.

Quadros RM, Weiss PH, Miletti LC, Moura AB. Occurrence of *Calodium hepaticum* (Bancroft, 1893) Moravec, 1982 eggs in feces of dogs and cats in Lages, Santa Catarina, Brazil. Rev Inst Med Trop São Paulo. 2016;58. DOI:10.1590/S1678-9946201658006.

Queirolo D, Vieira E, Emmons L, Samudio R. *Cuniculus paca*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008 [citado em 11 de maio de 2016]. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T699A13068075.en>

Ramírez O, Rodríguez R, Montes R, Torres F. Seguimiento anual de la parasitosis gastrointestinal del tepezcuittle, *Agouti paca* (Rodentia: Agoutidae) en cautiverio en el trópico mexicano. Rev Biol Trop. 2001;49(3-4):1171-6.

Raoul F, Heggin D, Giraudoux P. Trophic ecology, behaviour and host population dynamics in *Echinococcus multilocularis* transmission. Vet Parasitol. 2015;213(3-4):162-71.

Rausch RL, Rausch VR, D'Alessandro A. Discrimination of the larval stages of *Echinococcus oligarthrus* (Diesing, 1863) and *E. vogeli* Rausch and Bernstein, 1972 (Cestoda: Taeniidae). Am J Trop Med Hyg. 1978 ;27(6):1195-202.

Rausch RL, D'Alessandro A, Rausch VR. Characteristics of the larval *Echinococcus vogeli* Rausch and Bernstein, 1972 in the natural intermediate host, the paca *Cuniculus paca* L. (Rodentia: Dasyproctidae). Am J Trop Med Hyg. 1981;30(5):1043-52.

Rausch RL. Life cycle patterns and geographic distribution of *Echinococcus* species. In: Thompson RCA, Lymbery AL. *Echinococcus* and hydatid disease. Wallingford: CAB International; 1995. p. 088-134.

Rausch RL. *Echinococcus granulosus*: biology and ecology. In: Andersen FL, Ouhelli H, Kachani M. Compendium on echinococcosis in Africa and in Middle Eastern Countries with special reference to Morocco. Provo: Brigham Young University Print Services; 1997. p. 18-53.

Reátegui C, Rengifo A, Nogueira M, Murga N. Parásitos gastrointestinales de mamíferos silvestres en cautiverio de los zocriaderos ubicados en la carretera Iquitos – Nauta y Centro Piloto de Crianza de Agouti paca para la Amazonía. Región Loreto. Rev Conocimiento UNAP. 2001;5(1):17-30.

Redford KH. A floresta vazia. In: Valladares Pádua C, Bodmer RE. Manejo e Conservação da Vida Silvestre. Belém: Sociedade Civil Mamirauá; 1997. p. 1-22.

Rego AA. Parasites of wild animals. Atas Soc Biol. 1967;11(2):79-80.

Resendes AR, Amaral AFS, Rodrigues A, Almería S. Prevalence of *Calodium hepaticum* (syn. *Capillaria hepatica*) in house mice (*Mus musculus*) in the azores archipelago. Vet Parasitol. 2009;160(3-4):340-3.

Ribeiro VMF, Zamora LM. Pacas e capivaras: criação em cativeiro com ambientação natural. Rio Branco: GEA/SA; 2008.

Ribeiro VMF, Souza SF, Mesquita NMP, Alves ALF, Santos FGA. Monitoring of the intestinal tract parasite load and of the sanitary management at a paca breeding farm. Ciênc Anim Bras. 2015;16(4):608-14.

Rinas MA, Helou M, Lacorte SM. Cría de pacas en cautiverio en la provincia de Misiones, Argentina. Período 1999-2002. Estación Experimental Agropecuaria Cerro Azul, Misiones. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Informe técnico 88. 2004. p. 24.

Robinson JG, Bodmer RE. Hacia el manejo de la vida Silvestre en los bosques tropicales. In: Fang TG, Montenegro OL, Bodmer RE. Manejo e Conservation de Fauna Silvestre em América Latina. La Paz: Instituto de Ecología; 1997. p. 15-26.

Robinson JG, Redford KH, Bennett EL. Wildlife harvest in logged tropical forests. Sci. 1999; 284(5414):595-6.

Rocha EJG. Estudo da prevalência da *Capillaria hepática* (syn *Calodium hepaticum*) em humanos e roedores em uma área urbana de Porto Velho, Rondônia, Brasil. São Paulo. Dissertação [Mestrado em Biologia da Realção Patógeno-Hospedeiro] – Universidade de São Paulo; 2014.

Rocha EJG, Basano Sde A, Souza MM, Honda ER, Castro MB, Colodel EM, Silva JC, Barros LP, Rodrigues ES, Camargo LM. Study of the prevalence of *Capillaria hepatica* in humans and rodents in an urban area of the city of Porto Velho, Rondônia, Brazil. Rev Inst Med Trop São Paulo. 2015;57(1):39-46.

Rodriguez-Ruiz EI, Casto-Areliano J. Valencia-Harveth. New Records and Proposed Geographical Range of Pacas (*Cuniculus paca*) in Northeastern Mexico. Southwest Nat. 2011;57(2):219-21.

Rolo AP, Teodoro JS, Palmeira CM. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. Free Radic Biol Med. 2012;52(1):59-69.

Romig T, Ebi D, Wassermann M. Taxonomy and molecular epidemiology of *Echinococcus granulosus sensu lato*. Vet Parasitol. 2015;213(3-4):76-84.

Rothenburger JL, Himsforth CG, Chang V, LeJeune M, Leighton A. *Capillaria hepatica* in Wild Norway Rats (*Rattus norvegicus*) from Vancouver, Canadá. J Wildl Dis. 2014;50(3):628-33.

Sabatini V, Costa MJRP. Straw collecting behaviour by pacas (*Agouti paca*) in captivity. *Appl Anim Behav Sci.* 2006;97(2-4):284-92.

Sanchez E, Caceres O, Naquira C, Garcia D, Platino G, Silvia H, Volotão, AC, Fernandes O. Molecular characterization of *E. granulosus* from Peru by sequencing of the mitochondrial cytochrome CO1 gene. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2010;105:806–10.

Santos-Fita D, Naranjo E, Rangel-Salazar JL. Wildlife uses and hunting patterns in rural communities of the Yucatan Peninsula, Mexico. *J Ethnobiol Ethnomed.* 2012;8:38. DOI: 10.1186/1746-4269-8-38.

Santos GB, Soares MCP, Brito EMF, Rodrigues AL, Siqueira NG, Gomes-Gouvêa MS, Alves MM, Carneiro LA, Malheiros AP, Póvoa MM, Zaha A, Haag KL. Mitochondrial and nuclear sequence polymorphisms reveal geographic structuring in Amazonian populations of *Echinococcus vogeli* (Cestoda: Taeniidae). *Int J Parasitol.* 2012;42(13-42):1115-8.

Sato H, Okamoto M, Ohbayashi M, Basáñez MG. A new cestode, *Raillietina* (*Raillietina*) *oligocapsulata* n.sp., and *R. (R.) demerariensis* (Daniels, 1895) from Venezuelan mammals. *Jpn J Vet Res.* 1988;36(1):31-45.

Sawamura R, Fernandes MI, Peres LC, Galvão LC, Goldani HA, Jorge SM, de Melo Rocha G, de Souza NM. Hepatic capillariasis in children: report of 3 cases in Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 1999;61(4):642-7.

Schenk MAM, Schenck JAP. Prevalência de tuberculose, cisticercose e hidatidose em bovinos abatidos nos matadouros-frigoríficos do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil (1974/1979). *Hora Vet.* 1982;1(5):28-31.

Serviddio G, Sastre J, Bellanti F, Vina J, Vendemiaie G, Altomare E. Mitochondrial involvement in non-alcoholic steatohepatitis. *Mol Asp Med.* 2008;29(1-2):22-35.

Silva-Neto AA, Ferreira PV, Torres RA, Teixeira RH, Duarte JM, Barbosa AC, Vargas RC, Garcia JR. Diagnostic cytochrome b gene profiles for the identification of paca (*Cuniculus paca*) bushmeat: implications for the monitoring of illegal hunting and wildlife trade. *Braz J Biol.* 2016;76(1):55-8.

Simões RO, Luque JL, Faro MJ, Motta E, Maldonado-Junior A. Prevalence of *Calodium hepaticum* (Syn. *Capillaria hepatica*) in *Rattus norvegicus* in the urban area of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2014;56(5):455-7.

Sinniah B, Narasiman M, Habib S, Gaik Bei O. Prevalence of *Calodium hepaticum* and *Cysticercus fasciolaris* in Urban Rats and Their Histopathological Reaction in the Livers. *J Vet Med.* 2014;2014. ID:172829.

Siqueira NG, Almeida FB, Chalub SRS, Machado-Silva JR, Rodrigues-Silva R. Successful outcome of hepatic polycystic echinococcosis managed with surgery and chemotherapy. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2007;101(6):624-6.

Siqueira NG, Siqueira CM, Rodrigues-Silva R, do Carmo Pereira Soares M, Póvoa MM. Polycystic echinococcosis in the state of Acre, Brazil: contribution to patient diagnosis, treatment and prognosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2013;108(5):533-40.

Smythe N. The paca (*Cuniculus paca*) as a domestic source of protein for the neotropical, humid lowlands. The paca (*Cuniculus paca*) as a domestic source of protein for the neotropical, humid lowlands. *Appl Anim Behav Sci.* 1987;17(1-2):155-70.

Smythe N, Brown de La Guanti O. La domesticación y cria de la Paca (*Agouti paca*). Roma: FAO; 1995.

Somocurcio JR, Sanchez EL, Naquira C, Schilder J, Rojas F, Chacon P, Yabar A. First report of human case of polycystic echinococcosis due to *Echinococcus vogeli* from Neotropical area of Peru, South America. Rev Inst Med Trop São Paulo. 2004;46(1):41-2.

Stijnis K, Dijkmans AC, Bart A, Brosens LA, Muntau B, Schoen C, Barth TF, van Gulik T, van Gool T, Grobusch MP, Tappe D. *Echinococcus vogeli* in immigrant from Suriname to the Netherlands. Emerg Infect Dis. 2015;21(3):528-30.

Stuart P, Golden O, Zintl A, de Waal T, Mulcahy G, McCarthy E, Lawton C. A coprological survey of parasites of wild carnivores in Ireland. Parasitol Res. 2013;112(10):3587-93.

Tappe D, Stich A, Frosch M. Emergence of Polycystic Neotropical Echinococcosis. Emerg Infect Dis. 2008;14(2):292-7.

Than NN, Newsome PN. A concise review of non-alcoholic fatty liver disease. Atherosclerosis. 2015;239(1):192-202.

Travassos L. Contribuição para o conhecimento da fauna helmintológica brasileira. Mem Inst. Oswaldo Cruz. 1914;6:137-42.

Traversa D, Di Cesare A, Lia RP, Castagna G, Meloni S, Heine J, Strube K, Milillo P, Otranto D, Meckes O, Schaper R. New insights into morphological and biological features of *Capillaria aerophila* (Trichocephalida, Trichuridae). Parasitol Res. 2011;109(1 Suppl):S97-104.

Trujillo F, Rodríguez JV, Diaz MC, Tirira D, González A. Mamíferos acuáticos y relacionados con el agua. Bogotá: Conservación Internacional Colombia; 2005.

Yong T, Lee L, Sim S, Lee J, Min D, Chai J, Eom KS, Sohn W, Lee S, Rim H. Differential diagnosis of *Trichostrongylus* and hookworm eggs via PCR using ITS-1 sequence. Korean J Parasitol. 2007;45(1):69-74.

Valsecchi J. Diversidade de mamíferos e uso da fauna nas Reservas de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá e Amanã – Amazonas – Brasil. Belém. Dissertação [Mestrado em Zoologia] - Museu Paraense Emílio Goeldi e Universidade Federal do Pará; 2005.

Valsecchi J, Amaral PV. Perfil da caça e dos caçadores na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Amanã Amazonas – Brasil. Uakari. 2009;5:33-48.

Valsecchi J, El Bizri HR, Figueira, JEC. Subsistence hunting of *Cuniculus paca* in the middle of the Solimões River, Amazonas, Brazil. Braz J Biol. 2014;74:560-8.

Varona LS. Catálogo de los mamíferos vivientes y extinguidos de las Antillas. Academia de Ciências de Cuba; 1974.

Vizcaychipi KA, Helou M, Dematteo K, Macchiaroli N, Cucher M, Rosenzvit M, D'Alessandro A. First report of *Echinococcus vogeli* in a paca in Misiones province, Argentina. Rev Argent Microbiol. 2013;45:169-73.

Watson JJ, Pike AW. Variation in the morphology of adult *Apatemon gracilis* Rudolphi, 1819 (Digenea: Strigeidae) reared in different avian hosts. Syst Parasitol. 1993;26(1):33-8.

Zhang W, Wang S, McManus DP. *Echinococcus granulosus* genomics: a new dawn for improved diagnosis, treatment, and control of echinococcosis. Parasite. 2014;21:66. DOI:10.1051/parasite/2014066.

Zarlenga DS, Higgins J. PCR as a diagnostic and quantitative technique in veterinary parasitology. Vet Parasitol. 2001;101(3-4):215-30.

Zucaratto R, Carrara R, Franco BKS. Dieta da paca (*Cuniculus paca*) usando métodos indiretos numa área de cultura agrícola na Floresta Atlântica brasileira. Biotemas. 2010;23(1):235-9

8 ANEXO

ANEXO A - LICENÇA PERMANENTE PARA A COLETA E TRANSPORTE DE MATERIAL ZOOLOGICO.



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 13373-1		Data da Emissão: 19/11/2007 17:02
Dados do titular		
Registro no Ibama: 608054	Nome: PAULO SÉRGIO D ANDREA	CPF: 062.639.198-92
Nome da Instituição : FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ		CNPJ: 33.781.055/0001-35

Observações, ressalvas e condicionantes

1	A participação do(a) pesquisador(a) estrangeiro(a) nas atividades previstas nesta autorização depende de autorização expedida pelo Ministério de Ciência e Tecnologia (CNPq/MCT);
2	A licença permanente não é válida para: a) coleta ou transporte de espécies que constem nas listas oficiais de espécies ameaçadas de extinção; b) manutenção de espécimes de fauna silvestre em cativeiro; c) recebimento ou envio de material biológico ao exterior; e d) realização de pesquisa em unidade de conservação federal ou em caverna. A restrição prevista no item d não se aplica às categorias Reserva Particular do Patrimônio Natural, Área de Relevante Interesse Ecológico e Área de Proteção Ambiental constituídas por terras privadas;
3	O pesquisador titular da licença permanente, quando acompanhado, deverá registrar a expedição de campo no Sisbio e informar o nome e CPF dos membros da sua equipe, bem como dados da expedição, que constarão no comprovante de registro de expedição para eventual apresentação à fiscalização;
4	Esta licença permanente não exige o seu titular da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade.
5	Esta licença permanente não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais, esportivos ou para realização de atividades inerentes ao processo de licenciamento ambiental de empreendimentos.
6	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular da necessidade de atender ao disposto na Instrução Normativa Ibama nº 27/2002, que regulamenta o Sistema Nacional de Anilhamento de Aves Silvestres.
7	O pesquisador titular da licença permanente será responsável pelos atos dos membros da equipe (quando for o caso);
8	O órgão gestor de unidade de conservação estadual, distrital ou municipal poderá, a despeito da licença permanente e das autorizações concedidas pelo Ibama, estabelecer outras condições para a realização de pesquisa nessas unidades de conservação.
9	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
10	O titular da licença permanente deverá apresentar, anualmente, relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias após o aniversário de emissão da licença permanente.
11	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo Ibama e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
12	A licença permanente será válida enquanto durar o vínculo empregatício do pesquisador com a instituição científica a qual ele estava vinculado por ocasião da solicitação.
13	Este documento não dispensa a obtenção de autorização de acesso ao componente do patrimônio genético ou ao conhecimento tradicional associado nos termos da legislação vigente.
14	As atividades contempladas nesta autorização NÃO abrangem espécies brasileiras constante de listas oficiais (de abrangência nacional, estadual ou municipal) de espécies ameaçadas de extinção, sobreexploradas ou ameaçadas de sobreexploração.

Táxons autorizados

#	Nível taxonômico	Táxon(s)
1	ORDEM	Rodentia, Didelphimorphia
2		

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	Museu Nacional (UFRJ)	colecção

Este documento (Licença permanente para coleta de material zoológico) foi expedido com base na Instrução Normativa Ibama nº154/2007. . Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Ibama/Sisbio na internet (www.ibama.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 91827146



Página 1/2



Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 13373-1		Data da Emissão: 19/11/2007 17:02
Dados do titular		
Registro no Ibama: 608054	Nome: PAULO SÉRGIO D ANDREA	CPF: 062.639.198-92
Nome da Instituição : FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ		CNPJ: 33.781.055/0001-35

Anexo para registrar Coletas Imprevistas de Material Biológico

De acordo com a Instrução Normativa Ibama nº154/2007. , a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta ser comunicada ao Ibama por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica, preferencialmente depositado em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Nível	Táxon*	Qtde.	Amostra	Qtde.	Data

* Identificar o espécime no nível taxonômico mais específico possível.

Este documento (Licença permanente para coleta de material zoológico) foi expedido com base na Instrução Normativa Ibama nº154/2007. . Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Ibama/Sisbio na internet (www.ibama.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 91827146

