

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PESQUISA DE *Trichinella* spp. EM JAVALIS (*Sus scrofa*)
FERAIS E CARNÍVOROS SELVAGENS DE VIDA LIVRE NO
ESTADO DE SÃO PAULO.**

Carolina dos Santos Silva

Médica Veterinária

2022

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PESQUISA DE *Trichinella* spp. EM JAVALIS (*Sus scrofa*)
FERAIS E CARNÍVOROS SELVAGENS DE VIDA LIVRE NO
ESTADO DE SÃO PAULO.**

Discente: Carolina dos Santos Silva

Orientador: Prof. Dr. Estevam Guilherme Lux Hoppe

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (Área de concentração em Medicina Veterinária Preventiva)

S586p Silva, Carolina dos Santos
Pesquisa de *Trichinella* spp. em javalis (*Sus scrofa*) ferais e carnívoros selvagens de vida livre no Estado de São Paulo. / Carolina dos Santos Silva. -- Jaboticabal, 2022
67 p. : tabs., mapas

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Estevam Guilherme Lux Hoppe

1. Parasitologia. 2. Zoonoses. 3. Animais Selvagens. I.
Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: PESQUISA DE *Trichinella* spp. EM JAVALIS (*Sus scrofa*) FERAIS E CARNÍVOROS SELVAGENS DE VIDA LIVRE NO ESTADO DE SÃO PAULO

AUTORA: CAROLINA DOS SANTOS SILVA

ORIENTADOR: ESTEVAM GUILHERME LUX HOPPE

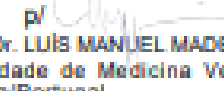
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em MEDICINA VETERINÁRIA, área: Medicina Veterinária Preventiva pela Comissão Examinadora:


p/ Prof. Dr. ESTEVAM GUILHERME LUX HOPPE (Participação Virtual)
Departamento de Patologia Reprodução e Saúde Única / FCAV UNESP Jaboticabal


p/ Prof. Dr. MARCOS ROGÉRIO ANDRÉ (Participação Virtual)
Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única / FCAV / UNESP - Jaboticabal


p/ Pesquisadora Dra. VIRGÍNIA SANTIAGO SILVA (Participação Virtual)
Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves / EMBRAPA - Concórdia/SC


p/ Profa. Dra. KARINA PAES BÜRGER (Participação Virtual)
Departamento de Patologia Reprodução e Saúde Única / FCAV UNESP Jaboticabal


p/ Prof. Dr. LUÍS MANUEL MADEIRA DE CARVALHO (Participação Virtual)
Faculdade de Medicina Veterinária/Departamento de Saúde Animal-Universidade de Lisboa-UL / Lisboa/Portugal

Jaboticabal, 24 de fevereiro de 2022

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

CAROLINA DOS SANTOS SILVA - Natural de São Paulo/SP, nascido em 25 de janeiro de 1979. Completou o ensino médio no ano de 1997 no Município de Ribeirão Preto, SP. Ingressou na Universidade Estadual de Londrina em julho de 1997 no curso de graduação em Medicina Veterinária e formou-se em fevereiro de 2003. Logo em seguida foi trabalhar na Associação Mata Ciliar em Jundiá, e em maio do mesmo ano foi chamada pra trabalhar como Médica Veterinária contratada no Bosque Zoológico Municipal Dr. Fábio de Sá Barreto em Ribeirão Preto, SP, onde atuou até Maio de 2004. Em 2006, ingressou no curso de mestrado acadêmico no programa de pós-graduação em Medicina Veterinária, área de concentração “Medicina Veterinária Preventiva”, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus de Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. Raul José Silva Girio. Em 2008 obteve o título de Mestre com o trabalho intitulado: Levantamento Sorológico para Leptospirose nos animais pertencentes ao Bosque Zoológico Municipal Dr. Fábio de Sá Barreto de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo. Entre os anos de 2008 e 2015, trabalhou como autora do projeto, responsável técnica e médica veterinária no Criadouro Fortaleza de Felinos Selvagens, um Criadouro Conservacionista com fins científicos. De 2015 a 2018 atuou na clínica de pets exóticos e animais de companhia e, em Março do ano de 2018, deu início ao curso de doutorado no mesmo programa de pós-graduação da FCAV/Unesp/Jaboticabal. Em dezembro do mesmo ano foi aprovada no concurso para Médico Veterinário na Prefeitura de Ribeirão Preto e foi convocada em Setembro de 2019 para atuar na Unidade de Vigilância de Zoonoses da Divisão de Vigilância Ambiental em Saúde – DVAS. Desde então conciliou as atividades do Doutorado com o cargo assumido na Prefeitura de Ribeirão Preto onde atua até a data atual.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Mara e Wander, por me apoiarem incondicionalmente e por sempre estarem presentes na minha vida e na vida dos meus filhos.

Ao meu marido, Rodrigo, e meus filhos, Caíque e Gabriela, sei que nem sempre foi e fui fácil, desculpem as ausências e obrigada pela presença de vocês ao meu lado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Estevam, por despertar em mim a curiosidade e o interesse pela *Trichinella* e por permitir que tudo pudesse ser mudado no segundo ano dessa jornada. Obrigada por confiar e acreditar que tudo daria certo, mesmo em meio a uma pandemia que nos desafiou de forma tão intensa!

Ao Prof. Dr. Luís Manuel Madeira de Carvalho da Faculdade de Medicina Veterinária do Departamento de Saúde Animal da Universidade de Lisboa por me abrir as portas do mundo da *Trichinella* e pelos infinitos materiais disponibilizados.

Ao Prof. Dr. Giuseppe La Rosa do Istituto Superiore di Sanità em Roma na Itália pelas preciosas dicas e informações sobre a técnica de digestão enzimática.

A Prof. Dra. Marina Winter da Universidade Nacional de Rio Negro de Buenos Aires na Argentina, pela paciência e incrível disponibilidade em nos ajudar durante o processo de padronização da técnica de digestão enzimática. Foram muitas mensagens trocadas, muitos e-mails e muitas tentativas e testes até que conseguimos.

À Dra. Virgínia Santiago Silva da Embrapa Suínos e Aves de Concórdia - SC pela grande parceria e pela inestimável contribuição para a realização desse trabalho. Nossa parceria foi de extrema importância e trouxe muitos frutos para nosso laboratório.

Ao Prof. Dr. Luis Antonio Mathias pela grande disponibilidade e valiosa ajuda nas análises estatísticas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) (Código financeiro 001) pela concessão da bolsa de estudos que permitiu o desenvolvimento desse trabalho.

Aos parceiros controladores de fauna do Estado de São Paulo pela imensa colaboração na obtenção das amostras de javalis.

À Embrapa Suínos e Aves pela parceria e realização das análises de sorologia.

Aos meus colegas do Laboratório de Enfermidades Parasitárias – LabEPar pela grande ajuda na obtenção e processamento das amostras biológicas.

Ao técnico do LabEPar, José Hairton Tebaldi, por sempre ter uma alternativa para as coisas que parecem não ter solução.

À minha querida amiga Talita pelo apoio acadêmico e, principalmente, pela parceria nos momentos mais diversos. Nossas conversas foram as melhores!!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

	Página
Resumo.....	iii
Abstract.....	iv
Certificado do Comitê de Ética de Uso Animal – CEUA.....	v
Autorização para atividades com finalidade científica– SISBIO / ICMBio...	vi
CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais.....	1
1. Introdução.....	1
2. Revisão de Literatura.....	3
2.1. <i>Trichinella</i> spp.....	3
2.2. Diagnóstico.....	6
2.2.1. Métodos Diretos.....	6
2.2.2. Métodos Indiretos.....	7
2.2.3. Métodos Moleculares.....	8
2.3. Distribuição Geográfica.....	8
2.3.1. Europa	8
2.3.2. Ásia	9
2.3.3. África	10
2.3.4. Oceania	10
2.3.5. América	11
2.4. Javalis (<i>Sus scrofa</i>) no Brasil.....	12
2.5. Carnívoros Selvagens no Brasil	14
3. Objetivos.....	16
3.1. Objetivos Gerais	16
3.2. Objetivos Específicos.....	16
4. Referências.....	17
CAPÍTULO 2 - Evidence of the occurrence of a wild cycle of <i>Trichinella</i> spp. in Brazil	26
Abstract.....	26
1. Introduction.....	27
2. Materials and Methods.....	28
3. Results.....	30
4. Discussion.....	33

5. Conclusions.....	36
6. References.....	38
CAPÍTULO 3 – Considerações Finais.....	43
Apêndices	45

RESUMO

Trichinella spp. é um nematódeo zoonótico amplamente difundido no mundo, porém com poucos dados no Brasil. Afeta uma grande variedade de hospedeiros como porcos domésticos e javalis, cavalos, roedores, carnívoros selvagens, aves e répteis. Os mamíferos selvagens atuam como os principais reservatórios, pois a biomassa do parasita é maior neles que na fauna doméstica. Na América da Sul, além dos suínos domésticos e javalis, há relatos de ocorrência em onças pardas na Argentina e no Chile. A Argentina e o Brasil, devido à proximidade geográfica, podem compartilhar a vida selvagem e conseqüentemente seus patógenos, e assim, torna-se imprescindível o monitoramento de animais selvagem quanto à presença da *Trichinella* spp., com foco na saúde humana e animal e na segurança da produção de suínos. Ainda não existe no país um programa oficial de vigilância da *Trichinella* spp., mas algumas instituições governamentais realizam sorologia em amostras de suínos asselvajados que foram submetidas ao Programa de Controle da Peste Suína Clássica. No Brasil, os animais domésticos são considerados livres da doença, porém evidências sorológicas indicam a ocorrência de triquinelose em javalis nas regiões Sul e Sudeste. O objetivo desse trabalho foi investigar a infecção por *Trichinella* spp. em javalis e carnívoros selvagens na região sudeste do Brasil. Foram testadas 136 amostras, sendo 121 javalis e 15 carnívoros selvagens. Testes de digestão enzimática foram realizados em amostras musculares de 37 javalis e 15 carnívoros selvagens e 115 amostras de soro de javalis foram submetidas ao teste de ELISA indireto com kits comerciais. Sete (07) amostras de soro de javalis apresentaram resultado positivo na prova de ELISA ($7/115 = 6,1\%$, 95% IC 3,0-12,0). Não houve diferença significativa entre sexo, idade e município de origem da amostra. Não foram encontradas larvas nas amostras musculares submetidas à digestão enzimática. Os resultados sugerem a ocorrência de um ciclo selvagem da *Trichinella* no Brasil o que, com as crescentes alterações nos padrões de comportamento humano e hábitos alimentares e a mudança nas práticas agrícolas, pode ser um fator determinante para o aumento do risco de exposição de animais domésticos e seres humanos a esse importante nematódeo.

Keywords: *Trichinella* spp., javalis, carnívoros selvagens, ELISA indireto, Digestão enzimática, Brasil.

ABSTRACT

Trichinella spp. is a zoonotic nematode widely spread around the world, but with few data in Brazil. It affects a large number of hosts such as domestic pigs and wild boar, horses, rodents, wild carnivores, birds and reptiles. Wild mammals act as the main reservoirs, as the parasite's biomass is greater in them than in the domestic fauna. In South America, in addition to domestic swine and wild boar, there are reports of occurrence in pumas from Argentina and Chile. Argentina and Brazil, due to geographical proximity, can share wildlife and consequently their pathogens, and thus, it is essential to monitor wild animals for the presence of *Trichinella* spp. aiming at human, animal health and the safety of swine production. There is not yet an official *Trichinella* spp. surveillance program in the country, but some government institutions perform serology on samples of feral pigs that were submitted to the Classical Swine Fever Control Program. In Brazil, domestic animals are considered free of the disease, but serological evidence indicates the occurrence of trichinellosis in wild boar in the South and Southeast regions. The aim of this work was to investigate the infection by *Trichinella* spp. in wild boars and wild carnivores in southeastern Brazil. For that, we tested 136 samples, 121 of wild boars and 15 of wild carnivores. Enzymatic digestion tests were performed on muscle samples from 37 wild boars and 15 wild carnivores and 115 wild boar serum samples were submitted to indirect ELISA test with commercial kits. Seven (07) wild boar serum samples were positive in the ELISA test (7/115= 6,1%, 95% CI 3,0 -12,0). There was no significant difference between sex, age and city of origin in the sample. Larvae were not found in muscle samples submitted to enzymatic digestion. The results suggest the occurrence of selvatic cycle of *Trichinella* spp. in Brazil which, with the increasing changes in human behavior patterns and eating habits and the change in agricultural practices, may be a determining factor for the increased risk of exposure to domestic animals and humans to *Trichinella*.

Keywords: *Trichinella* spp., wild boar, wild carnivores, indirect ELISA, Enzymatic digestion, Brazil.

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "**Pesquisa de *Trichinella spp* em javalis (*Sus scrofa*) ferais e carnívoros selvagens de vida livre no estado de São Paulo**", protocolo nº 001190/2019, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Estevam Guilherme Lux Hoppe, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião extraordinária de 14 de fevereiro de 2019.

Vigência do Projeto	01/03/2019 a 05/12/2021
Espécie / Linhagem	Javalis (<i>Sus scrofa</i>)
Nº de animais	Estima-se em 80 animais
Peso / Idade	Variados
Sexo	Ambos os sexos
Origem	Animais de vida livre caçados por controladores de fauna autorizados pelo IBAMA e Secretaria do Meio Ambiente de São Paulo - SP

Vigência do Projeto	01/03/2019 a 05/12/2021
Espécie / Linhagem	Carnívoros selvagens brasileiros
Nº de animais	Estima-se em 30 animais
Peso / Idade	Variados
Sexo	Ambos os sexos
Origem	Animais necropsiados no Centro de Reabilitação de Animais Selvagens de Associação Mata Ciliar, Jundiaí-SP e do Serviço de Patologia de Animais Selvagens – SEPAS – Departamento de Patologia Veterinária da FCAV/Unesp Jaboticabal.

Jaboticabal, 14 de fevereiro de 2019.


 Prof.ª Dr.ª Fabiana Pilarski
 Coordenadora – CEUA

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE



Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 62641-2	Data da Emissão: 23/11/2018 17:54:45	Data da Revalidação*: 23/11/2019
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Paulo Eduardo Carraro	CPF: 331.814.428-28
Nome da Instituição: UNESP JABOTICABAL	CNPJ: 48.031.918/0012-87



Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 67577-1	Data da Emissão: 21/02/2019 08:54:49	Data de Revalidação: 21/02/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Carolina dos Santos Silva	CPF: 268.645.608-64
Nome da Instituição: UNESP JABOTICABAL	CNPJ: 48.031.918/0012-87

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta de amostras biológicas de javalis de vida livre	03/2019	12/2021
2	Coleta de amostras biológicas de carnívoros selvagens necropsiados nas instituições parceiras	03/2019	12/2021

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Estevam Guilherme Luz Hoppe	Coordenador	316.001.658-30	Brasileira
2	MARQUELI SELVO FRANCA FILHO	Caçador	045.709.348-03	Brasileira
3	JULIO CESAR DE CARVALHO	Caçador	353.406.038-57	Brasileira
4	LUIZ FERNANDO GOMES LEAL	Caçador	039.661.156-70	Brasileira
5	ESTEVÃO MINELLI	Caçador	192.018.878-46	Brasileira

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0675770120190221

Página 1/4

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

1. Introdução

A crescente destruição dos ambientes naturais e o rápido avanço da agricultura e da pecuária tem proporcionado um contato maior entre as populações humanas e seus animais domésticos com as populações de animais silvestres em seus habitats. Alterações ambientais em escala global podem promover o desequilíbrio da relação hospedeiro-parasita, pois podem causar aumento ou diminuição da população de hospedeiros, alterações no comportamento dos vetores, perda de habitats e aumento do contato entre populações domésticas e selvagens e, conseqüentemente, maior intercâmbio de patógenos entre elas.

Os animais silvestres podem ser reservatórios ou portadores de patógenos com relevância à saúde humana e com impacto sobre a conservação da vida selvagem e da produção animal do país, inclusive com conseqüências econômicas. Até 75% dos patógenos emergentes e re-emergentes de humanos são zoonóticos e muitos desses patógenos tiveram origem em animais selvagens.

Trichinella spp. é um dos patógenos zoonóticos mais difundidos e já foi detectada em animais domésticos e selvagens em quase todo o mundo, com exceção da Antártida. A infecção se dá por meio da ingestão de carne contendo as larvas infectantes do parasita e pode ocorrer na natureza em um ciclo selvagem, que tem como principal hospedeiro os mamíferos selvagens, ou no ambiente doméstico, em um ciclo mantido principalmente por suínos domésticos e animais sinantrópicos.

Em humanos, a infecção ocorre com a ingestão de carne de animais domésticos ou de caça crua ou preparada inadequadamente. A ocorrência de triquinelose está fortemente relacionada a práticas alimentares culturais e, historicamente, sempre foi relacionada ao consumo de carne de porco. Porém, nos últimos anos, é notável que os casos de triquinelose causados pelo consumo de carne de javalis e outros animais de caça aumentaram em várias partes do planeta, o que é preocupante, dada a grande quantidade de javalis invasores registrados em diversos países do mundo e o crescente interesse pela caça e consumo da carne desses animais.

A carne de javali é, atualmente, a segunda fonte mais importante de triquinelose humana e tem sido responsável por muitos surtos relatados nos últimos anos na

Europa, Ásia e América do Norte e do Sul. A caça e o consumo da carne de javalis em diferentes partes do mundo aumentaram o risco de exposição humana a *Trichinella*, principalmente caçadores, seus grupos familiares e amigos que possuem o hábito de compartilhar a carne caçada.

O primeiro caso de triquinelose em humanos na América do Sul associado à carne de javalis foi registrado no Chile em 2004, depois houve registro na Argentina em 2012. A Argentina é considerada endêmica para triquinelose humana, geralmente associada à carne de porcos domésticos, mas muitos estudos têm sido desenvolvidos no país e têm demonstrado diversos animais selvagens infectados com *Trichinella* spp., como os javalis e carnívoros selvagens. O Brasil e a Argentina são países geograficamente muito próximos, que fazem fronteira e com isso, há grande possibilidade de ocorrer um compartilhamento e trânsito de vida selvagem e, conseqüentemente, de seus patógenos e parasitas.

No Brasil há uma grande quantidade de javalis invasores e a caça é a principal estratégia de controle dessa população. A comercialização da carne de javalis abatidos é proibida, mas houve o aumento do interesse e do consumo o que pode caracterizar um fator de risco à saúde humana já que essa carne não possui nenhum controle sanitário.

O Brasil é considerado livre da triquinelose em animais domésticos e em 2017 deixou de ser considerado livre em animais selvagens após um estudo sorológico realizado pelo MAPA e Embrapa Suínos e Aves em javalis que demonstrou anticorpos contra *Trichinella* spp. em amostras avaliadas das regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, inclusive no interior de São Paulo.

Não há no Brasil um projeto de Vigilância de *Trichinella* spp. em animais selvagens oficializado e bem estruturado, mas há uma parceria do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA com a Embrapa Suínos e Aves que realiza testes sorológicos para *Trichinella* spp. em amostras de soro de javalis abatidos por caçadores autorizados e cadastrados no Sistema de Informação de Manejo de Fauna (SIMAF) e/ou amostras vindas das Unidades Regionais de Defesa Agropecuária. O Estado de São Paulo encaminha para a Embrapa amostras de soro de javalis após terem sido analisadas pelo projeto de “Vigilância direta e indireta em

suídeos asselvajados de vida livre (javalis)” no qual são testadas para diversas doenças como a Peste Suína Clássica (PSC). Porém, não há instituições autorizadas pelo MAPA que realizem a pesquisa do parasita pela técnica de digestão enzimática, técnica padrão ouro para diagnóstico de *Trichinella* spp., em suídeos asselvajados e animais selvagens.

O monitoramento de *Trichinella* spp. em suídeos asselvajados e outros mamíferos selvagens representa uma ferramenta importantíssima para a compreensão da situação do patógeno no país e o conhecimento dos hospedeiros envolvidos. Esses dados podem colaborar com a elaboração de programas de controle da doença e estruturação de políticas públicas de manejo de espécies selvagens invasoras, corroborando o conceito de “One Health” que visa demonstrar a integração indissociável existente entre a saúde animal, humana e ambiental.

2. Revisão de Literatura

2.1. *Trichinella* spp.

Trichinella spp. é um parasita nematódeo zoonótico pertencente à família Trichinellidae. Seu ciclo de vida é constituído por duas fases distintas: uma fase enteral, curta, na qual se desenvolvem as formas adultas. As fêmeas são vivíparas e liberam larvas L1 que prontamente ganham a circulação, iniciando a próxima fase. A fase sistêmica é caracterizada pela distribuição de larvas por todo o corpo do hospedeiro, concluindo com a penetração das larvas em células de músculos estriados, induzindo a formação de “nurse cells”, ou seja, uma célula muscular estriada modificada que perde sua função inicial e passa a nutrir a larva que fica encapsulada nessa célula (Euzeby, 1994, Malakauskas et al., 2001; Magalhães, 2003).

A fase enteral se inicia com a ingestão de carne crua ou mal cozida com cistos de *Trichinella* spp.. As larvas presentes na musculatura são liberadas após ação dos ácidos estomacais e, em poucas horas, migram para o intestino delgado e invadem o epitélio. Alojadas na parede do intestino, as larvas passam por quatro mudas até atingirem a fase adulta e iniciam a reprodução sexuada aproximadamente trinta horas após a infecção. Nessa fase, o hospedeiro pode

apresentar desconforto abdominal e/ou febre leve. Após três a quatro dias, ocorre a liberação de larvas L1 no intestino que, através do sistema circulatório migram por todo o organismo do hospedeiro, buscando principalmente os órgãos e tecidos com maior disponibilidade de oxigênio como cérebro e músculos. Nos músculos estriados, as larvas se encapsulam e iniciam a modificação da célula muscular transformando-a em uma “nurse cell”. Nessa fase de migração e invasão das células musculares estriadas ocorrem os sintomas agudos da doença e o hospedeiro pode apresentar náusea, vômito, diarreia, febre, calafrios, dores abdominais e musculares e, em casos muito graves, complicações cardíacas ou neurológicas e morte. A sintomatologia depende da quantidade de larvas, dos tecidos afetados e da resposta imunológica do hospedeiro. Passando por essa fase os sintomas regredem e o hospedeiro se torna portador das larvas que, em quinze a vinte dias após a infecção, já são infectantes (Liu et al., 2001; Bruschi & Murrell, 2002). Algumas espécies não encapsulam, ou seja, as larvas não desenvolvem a “nurse cell” e foi sugerido que elas podem se mover livremente entre as fibras musculares (Pozio e Zarlenga, 2005).

O primeiro registro de um parasita com as características de *Trichinella* spp. ocorreu em 1835, quando um estudante britânico de medicina analisou os músculos de um cadáver humano que tinha o diafragma com aspecto de areia, descrevendo a primeira infecção por *Trichinella* (Owen, 1835). Alguns anos depois, em 1846, o mesmo parasita foi encontrado em carne de porco nos Estados Unidos pelo Dr. Joseph Leidy. Somente em 1860 o pesquisador Friedrich Albert von Zenker conseguiu relacionar a carne de porco como fonte de *Trichinella* em um caso de triquinelose humana, sendo esse o primeiro relato do caráter zoonótico do parasita.

Durante muitos anos, acreditou-se na existência de apenas uma espécie, *Trichinella spiralis*, e as pesquisas eram baseadas em um ciclo doméstico envolvendo os suínos domésticos e roedores sinantrópicos, pensando principalmente na redução do impacto econômico e da transmissão para humanos (Pozio, 2000). Poucos estudos citavam a ocorrência de *Trichinella* na fauna selvagem e o papel desses animais como hospedeiros era desconhecido. Em 1972, pesquisadores relataram o parasita infectando aves e animais selvagens e apresentando baixa infectividade em suínos e assim, foram descritas três novas

espécies, *Trichinella pseudospiralis* (Garkavi, 1972), *Trichinella nativa* e *Trichinella nelsoni* (Britov e Boev, 1972).

Inicialmente eram descritos quatro diferentes ciclos epidemiológicos, a maioria relacionada à infecção humana e apenas um ciclo silvestre que considerava a ocorrência em carnívoros selvagens (Madsen, 1974). Em 1983, Campbell identificou dois ciclos principais, um doméstico e um silvestre, e demonstrou a existência de uma relação entre eles. Estudos posteriores do mesmo autor, em 1988, descreveram ciclos diferentes de acordo com o clima em que ocorriam e em 1992, uma revisão taxonômica do gênero *Trichinella*, publicada por Pozio e colaboradores, demonstrou a existência de diferentes espécies de *Trichinella* para cada um dos ciclos relacionados ao clima descritos anteriormente (Pozio et al., 1992).

Com a melhoria das técnicas de diagnóstico e identificação dos parasitas, outras espécies de triquinela foram identificadas em diversos hospedeiros e houve um grande incremento no conhecimento da epidemiologia e controle da triquinelose em todo o mundo (Gajadhar & Gamble, 2000; Pozio, 2000). Nos dias atuais são reconhecidas dez espécies de *Trichinella* e três genótipos divididos em dois clados: os encapsulados e os não encapsulados. O clado encapsulado compreende as espécies e genótipos *Trichinella spiralis*, *T. nativa*, *T. britovi*, *T. murrelli*, T6, *T. nelsoni*, T8, T9, *T. patagoniensis* e *T. chanchalensis* que parasitam hospedeiros mamíferos. O clado não encapsulado compreende as espécies *Trichinella pseudospiralis*, *T. papuae* e *T. zimbabwensis* que podem acometer mamíferos, aves e répteis (Pozio & Zarlenga, 2013; Sharma et al., 2020). As larvas de espécies conhecidas podem ser identificadas pela técnica de amplificação da reação em cadeia da polimerase (PCR) de uma única larva e os genótipos são formas larvais que não puderam ser identificadas pela PCR e também não puderam ser classificadas taxonomicamente devido ao desconhecimento de suas formas adultas (Zarlenga et al., 1999, Pozio & La Rosa, 2003)

Dos dois ciclos epidemiológicos considerados por Pozio (1992), sabe-se que um é doméstico e envolve porcos e animais sinantrópicos e tem a *Trichinella spiralis* como principal agente infectante. O outro é um ciclo selvagem que envolve principalmente diferentes espécies de carnívoros selvagens e o javali e várias

espécies de *Trichinella* (*T. nativa*, *T. britovi*, *T. murrelli*, *T. pseudospiralis*, *T. nelsoni*) como agentes infectantes e ainda, diversos padrões de transmissão dependendo da região geográfica, temperatura, altitude, espécies envolvidas e comportamento humano (Pozio, 2000, 2001; Murrell & Pozio, 2000).

Nos últimos anos tem se destacado um padrão de transmissão envolvendo animais silvestres como fonte de infecção, tanto para animais domésticos (p. ex. porcos criados extensivamente próximos às populações de animais selvagens) quanto para humanos (consumo de carne de caça). As trichinelas que possuem animais selvagens como hospedeiros podem ser transmitidas aos animais domésticos e aos humanos (Navarrete et al., 1991; El-Gawady, 2001; Pozio, 2000, 2013). Em ambos os ciclos o ser humano é sempre um hospedeiro acidental (Soulé, 1994).

2.2. Diagnóstico

2.2.1. Métodos Diretos

Segundo a OIE, A infecção por *Trichinella* spp. pode ser diagnosticada por métodos diretos e indiretos. Os métodos diretos tem o objetivo de identificar o parasita nos tecidos musculares do hospedeiro e precisam ser altamente sensíveis, ainda assim, o desempenho da técnica é influenciado pelo tamanho da amostra, o tipo de músculo selecionado para amostragem e o método usado. (Nockler et al., 2000; OIE, 2021). A melhor musculatura para identificação das larvas pode variar de uma espécie para outra de hospedeiro e de uma espécie para outra de *Trichinella*, sendo, no geral, bons músculos para identificação o diafragma, língua, masseter, antebraço dentre outros (Gamble et al., 2000).

Os métodos diretos empregados no diagnóstico pós morte da infecção por *Trichinella* spp. são: a triquinoscopia e a digestão enzimática artificial.

A triquinoscopia é uma técnica direta realizada por exame microscópico do tecido muscular espremido entre placas de vidro. Um pequeno pedaço de músculo, aproximadamente do tamanho de um grão de arroz, é colocado entre duas lâminas e pressionado. Ao avaliar essa estrutura no microscópio, caso tenha larvas de *Trichinella* spp., é possível identificar as larvas encapsuladas entre as fibras

musculares, uma estrutura característica do parasita. Porém, essa técnica não tem sido mais recomendada, pois apresenta baixa sensibilidade, principalmente para identificação de larvas de espécies não encapsuladas, como é o caso da *T. pseudospiralis* (Kapel, 2005).

O outro método direto é digestão enzimática artificial que possui sensibilidade alta sendo possível a detecção de 1 a 3 larvas por grama de tecido muscular. A técnica consiste na digestão de amostras musculares utilizando uma solução de digestão artificial composta por pepsina e ácido clorídrico, seguido de processos de filtração e sedimentação finalizando com uma triagem e exame microscópico. O processo de digestão permite a liberação das larvas presente na musculatura, encapsuladas ou não encapsuladas, e é considerada pela OIE como a técnica padrão ouro para diagnóstico da *Trichinella* spp. (Gamble, 2000; Kapel et al., 2005; OIE, 2021).

2.2.2. Métodos Indiretos

Os testes indiretos são baseados na resposta imune do animal infectado e possuem alta sensibilidade, mas podem não detectar uma infecção precoce. De acordo com a Comissão Internacional de Triquinelose, a sorologia para *Trichinella* é considerada adequada para a vigilância e inquéritos epidemiológicos de animais domésticos e selvagens, mas não são recomendados para inspeção de produtos para consumo humano. Testes sorológicos, juntamente com sinais clínicos, são usados para fazer o diagnóstico em casos de doenças humanas (Gamble, 2000; OIE, 2021).

O teste de imunoabsorção enzimática – ELISA – é o método recomendado pela OIE para utilização em animais devido à sua alta sensibilidade, baixo custo e praticidade na execução. A Comissão Internacional de Triquinelose recomenda a utilização de testes ELISA que usam os antígenos excretores/secretores (ES) que são obtidos a partir da manutenção in vitro de larvas do músculo *Trichinella spiralis* e são reconhecidos por soros de hospedeiros infectados por todas as espécies e genótipos de *Trichinellas* identificados até agora. Com isso, a especificidade do teste também é considerada alta (Bruschi et al., 2019; OIE, 2021).

2.2.3. Métodos Moleculares

Métodos moleculares são usados para distinguir as várias espécies de *Trichinella* e costumam ser empregadas nas larvas encontradas após a técnica de digestão enzimática. Uma PCR multiplex foi desenvolvida a partir de dados parciais de sequência de DNA gerados a partir dos espaçadores transcritos internos ITS1 e ITS2 e da região de expansão do segmento V da repetição de rRNA de diferentes espécies e genótipos de *Trichinella*. Esta PCR multiplex é uma abordagem molecular sensível que pode identificar uma única larva nos níveis de espécie e genótipo (Gottstein et al., 2009).

2.3. Distribuição Geográfica

Trichinella spp. é um dos patógenos zoonóticos de maior distribuição mundial, com registros de sua detecção em diversas espécies de animais domésticos e/ou selvagens em todos os continentes, com exceção da Antártida (Pozio & Murrell, 2006). Uma grande quantidade de hospedeiros já foi envolvida em seu ciclo como porcos domésticos, cavalos, roedores, carnívoros selvagens, javalis, aves e répteis (Reichard et al, 2015; Pozio, 2019). *Trichinella* spp. já foi documentada em 66 países de todo o mundo e já foram relatados surtos de triquinelose humana em 55 países, com uma média global anual de 5751 casos e cinco mortes (Devleeschauwer et al., 2015 , Pozio & Murrell, 2006, 2011 , Pozio, 2007; 2019).

2.3.1. Europa

Na Europa, *Trichinella* está amplamente distribuída e quatro espécies ocorrem no continente: *T. spiralis*, *T. nativa*, *T. britovi* e *T. pseudospiralis*. Os hospedeiros variam de uma espécie pra outra e são mais frequentes os carnívoros selvagens, os javalis e os porcos domésticos. Os suínos domésticos e os javalis são acometidos de forma diferente por *T. spiralis*, *T. britovi* e *T. pseudospiralis*. *Trichinella spiralis* é a espécie mais frequente e mais adaptada a esses hospedeiros e sua detecção tem ocorrido principalmente em criações domésticas de fundo de quintal e/ou extensivas e em javalis de vida livre, principalmente na porção oriental da

Europa. *Trichinella britovi* e *T. pseudospiralis* são as mais amplamente difundidas no continente europeu e sobrevivem por menos tempo na musculatura de hospedeiros suídeos, mas são mais adaptadas aos hospedeiros carnívoros. Já *T. nativa* não afeta suínos domésticos e raramente ocorre em javalis, mas é a espécie mais frequente em carnívoros selvagens e de maior ocorrência na Europa (Pozio and Murrell, 2006; Pozio et al., 2009; Pozio, 2019).

2.3.2. Ásia

Os países asiáticos são quase todos endêmicos para triquinelose humana e a doença é considerada uma das principais zoonoses alimentares em países em desenvolvimento e desenvolvidos no Extremo Oriente. A ocorrência da doença é diferente de acordo com a região, os hábitos alimentares, as condições sanitárias e de vigilância da segurança alimentar (Gonzales et al.,2020), mas está geralmente associada ao consumo de carne de suínos domésticos crua ou mal cozida (Cui et al., 2013; Jiang et al., 2016). Outras fontes de carne também são relacionadas a surtos da enfermidade em humanos como a carne de urso, cães domésticos e de caprinos (Takahashi et al., 2000; Pozio, 2001)

As espécies de *Trichinella* já descritas na Ásia são *T. spiralis*, *T. pseudospiralis*, *T. papuae*, *T. britovi* e o genótipo T9, registradas em uma vasta gama de hospedeiros como ursos, javalis, cães e gatos domésticos, roedores sinantrópicos e carnívoros selvagens (Pozio, 2007; Zarlenga et al., 2020; Liu Yi et al., 2021).

A China possui uma situação bastante delicada quanto à triquinelose humana, com muitos surtos com mortes relatados todo ano. A maioria deles ocorre em uma região específica do país que abrange as províncias de Yunnan, Henan, Tibete e Hubei, dentre outras, onde a prevalência de infecção em suínos domésticos chega a 50% de prevalência para *Trichinella spiralis*. Mais de 10% da população humana dessa região possui anticorpos contra o parasita (Takahashi et al., 2000; Pozio, 2007; Liu Yi et al., 2021)

2.3.3. África

No continente africano há relatos de infecção por *Trichinella* principalmente em carnívoros selvagens como leões (*Panthera leo*) e hienas (*Crocuta crocuta*), mas mais de cem espécies de mamíferos e répteis selvagens já foram confirmados como naturalmente infectados com *Trichinella* spp. (Mukaratirwa et al., 2019). As espécies que ocorrem nos países africanos são *Trichinella britovi* na porção norte, *Trichinella zimbabwensis* em toda a região subsaariana, *Trichinella nelsoni* na porção sudeste do continente e o genótipo T8, registrado na região sul (Zarlenga et al., 2020).

A triquinelose humana é pouco frequente no continente e foi relatada principalmente em minorias étnicas e turistas na Argélia, Camarões, República Democrática do Congo, Egito, Etiópia, Quênia, Senegal e Tanzânia. Provavelmente, a baixa ocorrência em populações nativas se deve ao costume de consumir carnes bem cozidas e ao fato da maioria da população humana ser muçulmana e não consumir carne de porco ou carne de carnívoros. Ainda assim, alguns surtos em humanos foram relacionados ao consumo de carne de porcos selvagens e javalis tendo *T. nelsoni* e *T. britovi* como agentes etiológicos (Pozio, 2007; Mukaratirwa et al., 2013).

2.3.4. Oceania

A Oceania possui poucos relatos de *Trichinella* spp. em animais e humanos. A Austrália é considerada livre da doença humana, pois não há relato de nenhum caso autóctone de triquinelose. *Trichinella pseudospiralis* já foi detectada em marsupiais e aves na Tasmânia (Obendorf et al. 1990 e Obendorf & Clarke, 1992), mas o parasita não foi detectado em roedores sinantrópicos, suínos e gatos domésticos e raposas (Waddell, 1969; Pozio and Murrell, 2006).

Pozio, em 2007 defendeu a necessidade de uma investigação mais extensa na Austrália, pois o país está muito próximo da Papua Nova Guiné, onde há relatos de *T. papuae* em porcos domésticos, javalis e crocodilos, além de humanos soropositivos, sugerindo necessidade de atualização do status sanitário do país em relação a esse patógeno (Pozio et al., 2005; Owen et al., 2005).

Na Nova Zelândia, *T. spiralis* já foi relatada afetando porcos, gatos domésticos e roedores sinantrópicos e casos esporádicos em humanos após

ingestão de carne suína (Buncic, 1997; Liberona & MacDiarmid, 1988; Pozio and Murrell, 2006; Pozio, 2007).

2.3.5. América

Nas Américas a infecção por *Trichinella* também ocorre em animais domésticos e selvagens e representa problema de saúde pública (Betti et al., 2014 ; Ortega- Pierres et al., 2000).

Na América do Norte, o Canadá e os EUA possuem um histórico de ocorrência de *Trichinella spiralis* em suínos domésticos anteriormente criados de forma doméstica e artesanal, mas com o advento da tecnologia e controle da criação de suínos nesses países a incidência caiu consideravelmente nas últimas décadas. Porém, em ambos os países, é frequente a presença de *Trichinella* spp. em animais selvagens como ursos (*Ursus americanus*), morsas (*Odobenus rosmarus*), raposas (*Pseudalopex spp.*), javalis (*Sus scrofa*) dentre outros mamíferos selvagens e alguns surtos isolados da enfermidade em humanos têm sido relacionados ao consumo de carne de caça (Pozio, 2007; Zarlenga et al., 2020). Nos EUA, assim como em diversos países do mundo, há uma grande preocupação quanto ao aumento considerável de javalis de vida livre e a prática de caça e consumo da carne desses animais, além deles poderem ser uma fonte de infecção de *Trichinella* para porcos caipiras (Hill et al., 2014).

Cinco espécies e um genótipo de *Trichinella* ocorrem na América do Norte: *T. spiralis*, *T. nativa*, *T. pseudospiralis*, *T. murrelli*, genótipo T6 e uma espécie identificada recentemente no Canadá, *T. chanchalensis*, todas encontradas em vertebrados terrestres (Gajadhar e Forbes, 2010; Jenkins et al., 2013; Sharma et al., 2020; Zarlenga et al. 2020).

No México, os dados e pesquisas são escassos, mas há relatos antigos de infecção em porcos, cães e gatos domésticos e humanos (Ortega-Pierres et al., 2000) e mais recentemente um estudo sorológico com cavalos identificou animais soropositivos (Solís-Hernández, 2020). Recentemente, o primeiro estudo realizado com javalis no país identificou sorologia positiva para *Trichinella* spp. em 5,5% das amostras testadas (De-la-Rosa-Arana et al., 2021)

Na América do Sul, *Trichinella* spp. é endêmica na Argentina e Chile e há relatos da infecção em humanos, animais domésticos, principalmente suínos, e em animais selvagens como javalis e onça parda (*Puma concolor*). Nos últimos anos, houve um aumento considerável nas pesquisas realizadas, principalmente em animais selvagens, e quatro espécies de *Trichinella* já foram identificadas: *Trichinella spiralis* (animais selvagens e javalis na Argentina e javalis e onça parda no Chile), *Trichinella pseudospiralis* (porcos domésticos na Argentina), *Trichinella patagoniensis* (onça parda na Argentina) e *Trichinella britovi* (surto humano na Argentina relacionado a salsichas contaminadas) (Pozio & Zarlenga, 2013, Ribicich et al., 2010; 2020; Landaeta-Aqueveque et al., 2015; Winter et al., 2019; Hidalgo et al., 2013, 2019, Krivokapich et al., 2019). Nos demais países, existem pouco ou nenhum estudo sobre *Trichinella* spp., com raros registros da detecção de anticorpos contra triquinela em porcos domésticos na Bolívia (Macchioni et al., 2012) e no Equador (Chávez-Larrea et al., 2005).

O Brasil é considerado um país livre de *Trichinella* em animais domésticos (OIE, 2021) e nenhum caso humano foi relatado no país. Em 2016, pesquisadores da Embrapa Suínos e Aves e Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA identificaram javalis soropositivos para *Trichinella* spp. em alguns Estados brasileiros e a OIE foi notificada, alterando o status sanitário do país (Santiago et al., 2017).

2.4. Javalis (*Sus scrofa*) no Brasil

O javali (*Sus scrofa*) é um mamífero da Família Suidae, pertencente à Ordem Artiodactyla, subordem dos Suiformes, grupo representado por porcos-do-mato (Família Suidae e Tayassuidae) (Nowak, 1999). Possuem hábitos alimentares generalistas e alta capacidade de adaptação a diferentes ambientes, assim como alta capacidade reprodutiva o que faz deles a espécie de mamífero terrestre com maior distribuição geográfica do mundo (Barrios-Garcia & Ballari, 2012; Barrios-Garcia et al., 2014).

Originário da Europa, Ásia e norte da África, o javali foi originalmente introduzido na América do Sul no início do século XX, na Argentina, para fins de caça esportiva. No Brasil, há registros da entrada de javalis vindos do Uruguai por dispersão entre

1980 e 1990, onde a população é mais antiga e abundante (Pereira-Neto et al.1991), mas também foi trazido por interesse humano em caça esportiva e zoológico. Na década de 90, houve importação de animais vindos da Europa e Canadá com o objetivo de criação para corte, que não obteve sucesso no Brasil devido a dificuldades de comércio e, após proibição da importação e criação comercial de Suínos exóticos pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente – IBAMA, muitos javalis e seus cruzamentos com porco domésticos acabaram sendo soltos na natureza, iniciando assim, um grande processo de colonização em território nacional (Pedrosa et al., 2015).

O Uruguai, Argentina e Brasil são os três países da América do Sul mais invadidos pelos javalis, sendo que a Argentina e o Brasil desempenham maior importância, pois são os países com maiores dimensões territoriais e os maiores potenciais para expansão da espécie. Nesses países já são registradas as maiores áreas e números de áreas protegidas invadidas pelos javalis (Brasil, 2017).

O javali é considerado uma das 100 espécies exóticas invasoras mais deletérias no mundo devido a seus impactos em ambientes naturais e na agricultura (Lowe et al., 2000). Segundo a União Internacional para Conservação (IUCN, 2018) os principais impactos atribuídos aos javalis são: a destruição de lavouras e de vegetação nativa, dispersão de ervas daninhas, desequilíbrio de processos ecológicos, predação de espécies nativas, além de poderem ser reservatórios e transmissores de muitas agentes patogênicos, o que pode gerar impactos sanitários graves tanto para populações selvagens quanto humanas e também para a atividade pecuária.

Desde 1995, existem normas para controle de javalis em vida livre no Brasil e estavam restritas a alguns Estados como o Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Mato Grosso do Sul e Paraná. Em 2010, uma instrução normativa do IBAMA (IBAMA, 2010) proibiu a caça de espécies consideradas pragas sem que estudos prévios e pesquisas fossem realizados e instituiu um grupo de trabalho para definir propostas para melhorar a eficiência do controle da espécie na natureza e medidas para possibilitar a minimização de impactos ambientais. Em 2013, o IBAMA publicou a Instrução Normativa nº 3/2013, que reconhece o javali como nocivo, regulamenta o controle da espécie em todo o território nacional e proíbe a criação em cativeiro

(Brasil, 2013). Além disso, instituiu o Comitê Permanente Interinstitucional de manejo e monitoramento das populações de javalis em território nacional, com representantes do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), Ministério do Meio Ambiente (MMA), Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Exército e Secretaria do Meio Ambiente de São Paulo (SMA/SP) com finalidade de subsidiar e assessorar tecnicamente a regulamentação e execução das ações de prevenção, detecção, manejo e monitoramento da espécie exótica invasora javali em todo o território nacional.

Em 2017, foi lançado o Plano Nacional de Prevenção, Controle e Monitoramento do Javali (*Sus scrofa*) no Brasil que estabeleceu as ações necessárias a fim de conter a expansão territorial e demográfica do javali no país e reduzir os seus impactos, especialmente em áreas prioritárias de interesse ambiental, social e econômico. Esse plano instituiu regras para o controle da espécie por pessoas físicas ou jurídicas, que devem atender aos requisitos e apresentar informações sobre as atividades de manejo.

Desde 2013 a caça de javalis tornou-se a estratégia de controle mais usada e, segundo a normativa vigente, os animais capturados durante as ações de controle só podem ser abatidos no local da captura, sendo proibidos o transporte de animais vivos e a comercialização da carne (Brasil, 2013). Porém, a normativa não proíbe o consumo da carne de javalis abatidos e não existe no país regras de controle sanitário dessa carne, caracterizando um fator de risco à saúde humana.

2.5. Carnívoros Selvagens no Brasil

A Ordem Carnivora apresenta uma grande diversidade na América do Sul, com 47 espécies (Prevosti & Soibelzon, 2012), das quais 28 ocorrem no Brasil, representando as famílias Canidae (seis espécies), Felidae (nove espécies), Mustelidae (seis espécies), Procyonidae (cinco espécies) e Mephitidae (duas espécies). Os carnívoros brasileiros apresentam uma grande diversidade de tamanhos corporais, padrões de dieta e organizações sociais, portanto possuem requisitos ecológicos diversos e têm sido pesadamente afetados por ameaças que

vão desde a caça ilegal, desmatamento e atropelamentos à mortalidade por doenças adquiridas de animais domésticos (de Mello Beisiegel et al., 2013).

No Brasil, a família Felidae possui três gêneros e um total de nove espécies: Gato-do-mato (*Leopardus geoffroy*), Gato-do-mato-pequeno (*Leopardus guttulus*), Gato-Maracajá (*Leopardus wiedii*), Gato-palheiro (*Leopardus colocolo*), Jaguarundi (*Puma yagouaroundi*), Jaguatirica (*Leopardus pardalis*), Onça-parda (*Puma concolor*), Onça-pintada (*Panthera onca*) e Gato-macambira (*Leopardus tigrinus*), quase todas fazem parte da Lista Oficial de Espécies da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção (Brasil, 2014). A Família Canidae possui seis espécies distribuídas em cinco gêneros, Cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), Cachorro-do-mato-de-orelha-curta (*Atelocynus microtis*), Cachorro-vinagre (*Speothos venaticus*), Graxaim-do-campo (*Lycalopex gymnocercus*), Lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), Raposinha-do-campo (*Lycalopex vetulus*). Os mustelídeos, Família Mustelidae, estão divididos em seis espécies em cinco gêneros, Ariranha (*Pteronura brasiliensis*), Doninha-amazônica (*Mustela africana*), Furão (*Galictis vittata*), Furão-pequeno (*Galictis cuja*), Irara (*Eira barbara*), Lontra (*Lontra longicaudis*). Os Procionídeos possuem quatro espécies representando quatro gêneros, Jupará-verdadeiro (*Potos flavus*), Mão-pelada (*Procyon cancrivorus*), Olingo ou Jupará (*Bassaricyon gabbii*) e Quati (*Nasua nasua*). Por fim, a Família Mephitidae que possui duas espécies, Cangambá ou Jaritataca (*Conepatus semistriatus*) e o Zorrilho (*Conepatus chinga*) (Pitman et al., 2002).

O crescente interesse pelas pesquisas com carnívoros selvagens de vida livre tem sido demonstrado em diversos trabalhos encontrados em literatura, principalmente em Parques Nacionais e Reservas Ecológicas, porém a ocorrência de carnívoros oriundos de vida livre atendidos em Centros de Triagem e Reabilitação de Animais Silvestres tem aumentado nos últimos anos e as ocorrências atendidas são variadas, desde atropelamentos em rodovias, animais perdidos em centros urbanos, filhotes encontrados órfãos, vítimas de queimada de cana de açúcar e matas até o tráfico de animais (Associação Mata Ciliar - AMC e Serviço de Patologia de Animais Selvagens – SEPAS - Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única (DPRSU) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV - Câmpus de Jaboticabal - SP – dados de registros internos

2014 a 2018) o que pode demonstrar o efeito das alterações ambientais sobre esse grupo. A pesquisa e o monitoramento de *Trichinella* spp. nesses animais podem fornecer dados valiosos para a determinação do ciclo selvagem desse parasita no Brasil, posto que os mamíferos selvagens são os principais hospedeiros da *Trichinella* spp (Pozio, 2014).

3. Objetivos

3.1. Objetivos Gerais

Investigar a infecção por *Trichinella* spp. em javalis e carnívoros selvagens no Estado de São Paulo, região sudeste do Brasil, buscando ampliar o conhecimento sobre o ciclo selvagem da triquinelose no país.

3.2. Objetivos Específicos

- I. Investigar a presença de larvas de *Trichinella* spp. em amostras de javalis e carnívoros selvagens;
- II. Investigar a presença de anticorpos anti-*Trichinella* em amostras de soro sanguíneo de javalis pelo teste de ELISA indireto;
- III. Mapear a ocorrência da infecção baseando-se nos locais de origem dos animais positivos.

4. Referências

- Barrios-Garcia, M. N., & Ballari, S. A. (2012). Impact of wild boar (*Sus scrofa*) in its introduced and native range: a review. **Biological Invasions**, 14(11), 2283-2300.
- Barrios-Garcia, M. N., Classen, A. T. & Simberloff, D. (2014). Disparate responses of above- and belowground properties to soil disturbance by an invasive mammal. **Ecosphere** 5(4): 1–13.
- Betti, A., Cardillo, N. M., Pasqualetti, M. I., Fariña, F. A., Rosa, A. B., & Ribicich, M. (2014). Trichinellosis: Conocimientos y hábitos en poblaciones epidemiológicamente diferentes de la Provincia de Buenos Aires, y la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. **Rev. Argent. zoonosis enferm. infecc. emerg.**, 9, pp. 21-24
- Brasil. **Instrução Normativa/Ibama nº 03 de 31/01/13** Decreta a nocividade do javali e dispõe sobre seu manejo e controle. Diário Oficial da União de 2013, Poder Executivo, Brasília – DF, 01 fevereiro 2013.
- Brasil. **Portaria/Ministério do Meio Ambiente MMA nº 444, de 17/12/14** Reconhece as espécies da fauna brasileira ameaçadas de extinção. Diário Oficial da União de 2014, Poder Executivo, Brasília – DF, 18 dez 2014.
- Brasil. Ministério do Meio Ambiente e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2017, **Plano Nacional de Prevenção, Controle e Monitoramento do Javali (*Sus scrofa*) no Brasil**. Brasília, 119p.
- Britov, V. A., & Boev, S. N. (1972). Taxonomic rank of various strains of *Trichinella* and their circulation in nature. **Vestnik Akademii Naitk Kazakhskoi SSR**, 28(4), 27-32.
- Bruschi, F., & Murrell, K. D. (2002). New aspects of human trichinellosis: the impact of new *Trichinella* species. **Postgraduate Medical Journal**, 78(915), 15-22.
- Buncic, S. (1997). A case of a pig infested with *Trichinella spiralis*. **Surveillance**, 24, 8.
- Campbell, W. C. (1983). Epidemiology I modes of transmission. In *Trichinella and trichinosis*. **Springer**, Boston, MA, pp. 425-444.

Campbell, W. C. (1988). Trichinosis revisited another look at modes of transmission. **Parasitology Today** 4: 83-86

Chávez-Larrea, M. A., Dorny, P., Moeller, L., Benítez-Ortiz, W., Barrionuevo-Samaniego, M., Rodríguez-Hidalgo, R., ... & De Borchgrave, J. (2005). Survey on porcine trichinellosis in Ecuador. **Veterinary parasitology**, 132(1-2), 151-154.

Cui, J., Jiang, P., Liu, LN, & Wang, ZQ (2013). Pesquisa de infecções por *Trichinella* em porcos domésticos do norte e leste de Henan, China. **Veterinary parasitology** , 194 (2-4), 133-135.

De Mello Beisiegel, B., Morato, R. G., De Paula, R. C., & Morato, R. L. G. (2013). Apresentação da avaliação do estado de conservação dos carnívoros. **Biodiversidade Brasileira**, (1), 54-55.

De-la-Rosa-Arana, J. L., Ponce-Noguez, J. B., Reyes-Rodríguez, N. E., Vega-Sánchez, V., Zepeda-Velázquez, A. P., Martínez-Juárez, V. M., & Gómez-De-Anda, F. R. (2021). Helminths of the Wild Boar (*Sus scrofa*) from Units of Conservation Management and Sustainable Use of Wildlife Installed in the Eastern Economic Region of Mexico. **Animals**, 11(1), 98.

EL-Gawady, H.M. (2001). Trichinellosis en wild animals in Sinai Peninsula, Egypt. Xth International Conference on Trichinellosis, 20-24 August 2000, Fontainebleau, France, 2000 (Poster), **Parasite**, 8(2), 275.

Euzeby, J. (1994). An old anthroozoonosis, still being with us: trichinosis (= trichinellosis). **Revue de Medecine Veterinaire (France)**, 145, p 795-818.

Gajadhar, A. A., & Gamble, H. R. (2000). Historical perspectives and current global challenges of *Trichinella* and trichinellosis. **Veterinary Parasitology**, 93(3-4), 183-189.

Gajadhar, A. A., & Forbes, L. B. (2010). A 10-year wildlife survey of 15 species of Canadian carnivores identifies new hosts or geographic locations for *Trichinella* genotypes T2, T4, T5, and T6. **Veterinary Parasitology**, 168(1-2), 78-83.

Garkavi, B. L. (1972). Species of *Trichinella* isolated from wild animals. **Veterinariya** 10: 90-91.

González, M., Logarzo, L., Neira, G., Godoy, D., & Mera, R. (2020). Investigación de *Trichinella* spp. en zorro gris (*Lycalopex griseus*). **Investigación, Ciencia y Universidad**, 4(5).

Gottstein, B., Pozio, E., & Nöckler, K. (2009). Epidemiology, diagnosis, treatment, and control of trichinellosis. *Clinical microbiology reviews*, 22(1), 127-145.

Hidalgo, A., Oberg, C. A., Fonseca-Salamanca, F., & Vidal, M. F. (2013). Report of the first finding of puma (*Puma concolor puma*) infected with *Trichinella* sp. in Chile. **Archivos de Medicina Veterinaria**, 45(2), 203-206.

Hidalgo, A., Villanueva, J., Becerra, V., Soriano, C., Melo, A., & Fonseca-Salamanca, F. (2019). *Trichinella spiralis* Infecting Wild Boars in Southern Chile: Evidence of an Underrated Risk. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, 19(8), 625-629.

Hill, D. E., Dubey, J. P., Baroch, J. A., Swafford, S. R., Fournet, V. F., Hawkins-Cooper, D., ... & Theodoropoulos, G. (2014). Surveillance of feral swine for *Trichinella* spp. and *Toxoplasma gondii* in the USA and host-related factors associated with infection. **Veterinary parasitology**, 205(3-4), 653-665.

Ibama. **Instrução Normativa nº8 de 17 de agosto de 2010**, do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), 2010.

IUCN 2018. **The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2017-3**. <<http://www.iucnredlist.org>>. Downloaded on 25 April 2018.

Jenkins, E. J., Castrodale, L. J., de Rosemond, S. J., Dixon, B. R., Elmore, S. A., Gesy, K. M., ... & Thompson, R. A. (2013). Tradition and transition: parasitic zoonoses of people and animals in Alaska, northern Canada, and Greenland. **Advances in parasitology**, 82, 33-204.

Jiang, P., Zhang, X., Wang, LA, Han, LH, Yang, M., Duan, JY, ... e Cui, J. (2016). Levantamento da infecção por *Trichinella* em porcos domésticos nas áreas endêmicas históricas da província de Henan, China central. **Parasitology research** , 115 (12), 4707-4709.

Kapel, C. M. O. (2005). Changes in the EU legislation on *Trichinella* inspection—new challenges in the epidemiology. *Veterinary parasitology*, 132(1-2), 189-194.

Kapel, C. M. O., Webster, P., & Gamble, H. R. (2005). Muscle distribution of sylvatic and domestic *Trichinella* larvae in production animals and wildlife. *Veterinary Parasitology*, 132(1-2), 101-105.

Krivokapich, S. J., Gatti, G. M., Prous, C. L. G., Degese, M. F., Arbusti, P. A., Ayesa, G. E., ... & Salomón, M. C. (2019). Detection of *Trichinella britovi* in pork sausage suspected to be implicated in a human outbreak in Mendoza, Argentina. *Parasitology international*, 71, 53-55.

Landaeta-Aqueveque, C., Krivokapich, S., Gatti, G. M., Prous, C., Gonzalez, Rivera-Bückle, V., Martín, N., González-Acuña, D., & Sandoval, D. (2015). Research Note. *Trichinella spiralis* parasitizing Puma concolor: first record in wildlife in Chile. *Helminthologia*, 52, 360-363.

Liberona, H. E., & MacDiarmid, S. C. (1988). *Trichinella spiralis* in New Zealand. *Surveillance*, 15, 17-18.

Liu, M. Y., Zhu, X. P., Xu, K. C., Lu, Q., & Boireau, P. (2001). Biological and genetic characteristics of two *Trichinella* isolates in China; comparison with European species. *Parasite*, 8, S34-S38.

Liu, Y., Dong, Z., Pang, J., Liu, M., & Jin, X. (2021). Prevalence of meat-transmitted *Taenia* and *Trichinella* parasites in the Far East countries. *Parasitology Research*, 120, p. 4145–4151.

Lowe, S., Browne M., Boudjelas S & Poorter, M , (2000). **100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database.** Gland: The Invasive Species Specialist Group (ISSG)/World Conservation Union (IUCN), p. 12.

Macchioni, F., Magi, M., Guardone, L., Tolari, F., Bruschi, F., Gabrielli, S., Lopez Ramos, R., Guzman Rios, R., Guzman Jos, L.R., Quiroga Civera, L., (2012). Investigation on *Trichinella* spp. in Swine in Eastern Bolivia. *Revista Sapuvet de Salud Pública*, 37-43.

Madsen, H. (1974). The principles of the epidemiology of trichinellosis with a new view on the life cycle. *Proc. 3rd Int. Conf. on Trichinellosis*, Florida, USA, 2-4 Nov. pp.615-638.

Magalhães, A.S.T. (2003). **Contribuição para o Estudo da Triquinelose Silvática em Portugal Continental**. Dissertação de Mestrado em Saúde Pública Veterinária Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 106 pp.

Malakauskas, A., Kapel, C.M.O., Webster, P.(2001). Infectivity, persistence and freeze resistance of nine *Trichinella* genotypes in rats. Xth International Conference on Trichinellosis, 20-24 August 2000, Fontainebleau, France, **Parasite**, 8(2): 216-22.

Mukaratirwa, S., La Grange, L. J., Malatji, M. P., Reininghaus, B., & Lamb, J. (2019). Prevalence and molecular identification of *Trichinella* species isolated from wildlife originating from Limpopo and Mpumalanga provinces of South Africa. **Journal of helminthology**, 93(1), 50-56.

Mukaratirwa, S., La Grange, L., & Pfukenyi, D. M. (2013). *Trichinella* infections in animals and humans in sub-Saharan Africa: a review. **Acta tropica**, 125(1), 82-89.

Murrell, K. D., & Pozio, E. (2000). Trichinellosis: the zoonosis that won't go quietly. **International Journal for Parasitology**, 30(12-13), 1339-1349.

Murrell, K. D., & Pozio, E. (2011). Worldwide occurrence and impact of human trichinellosis, 1986–2009. **Emerging infectious diseases**, 17(12), 2194.

Navarrete, I. (1991). **Programa de acciones contra la trichinellosis**. Consejería de Sanidad y Consumo, Junta de Extremadura.

Nöckler, K., Pozio, E., Voigt, W. P., & Heidrich, J. (2000). Detection of *Trichinella* infection in food animals. **Veterinary Parasitology**, 93(3-4), 335-350.

Nowak, R. M., & Walker, E. P. (1999). **Walker's Mammals of the World (Vol. 1)**. JHU press. 1936 p.

Obendorf, D.L., Clarke, K.P.,(1992). *Trichinella pseudospiralis* infections in free-living Tasmanian birds. **J. Helminthol. Soc.Wash.** 59,144–147.

Obendorf, D.L., Handler, J.H., Mason, R.W., Clarke, K.P., Forman, A.J., Hooper, P.T., Smith, S.J., Holdsworth, M., (1990). *Trichinella pseudospiralis* infection in Tasmanian **Wildlife. Aust. Vet. J.** 67,108–110.

Organização Internacional de Epizootias – **OIE**. One Health. Paris, França. <https://www.oie.int/en/what-we-do/animal-health-and-welfare/animal-diseases/>. Acesso em Setembro de 2021.

Ortega-Pierres, M. G., Arriaga, C., & Yopez-Mulia, L. (2000). Epidemiology of trichinellosis in Mexico, Central and South America. **Veterinary Parasitology**, 93(3-4), 201-225.

Owen, R. (1835). *An Address*. C. Baker.

Owen, I. L., Gomez Morales, M. A., Pezzotti, P., & Pozio, E. (2005). *Trichinella* infection in a hunting population of Papua New Guinea suggests an ancient relationship between *Trichinella* and human beings. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, 99(8), 618-624.

Pitman, M. R. P. L., Oliveira, T. D., Paula, R. D., & Indrusiak, C. (2002). **Manual de identificação, prevenção e controle de predação por carnívoros**. Brasília: Edições IBAMA, 83.

Pedrosa, F., R. Salerno, F.V.B. Padilha, M. Galetti.(2015). Current distribution of invasive feral pigs in Brazil: Economic impacts and ecological uncertainty. **Natureza e Conservacao** 13:84–87..

Pereira-Neto A. O., Riet-Correa, F., Méndez, M. D. C.. **Javali: um predador a ser evitado no Rio Grande do Sul** (1992). In: Schild AL, Riet-Correa F, Méndez MDC, Ferreira JLM, editors. Laboratório Regional de Diagnóstico: Doenças diagnosticadas no ano de 1991. Pelotas: Editora Universitária. pp 42–48.

Pozio E., Rinaldi L., Marucci G., Musella V., Galati F., Cringoli G., Boireau P., La Rosa G. (2009). Hosts and habitats of *Trichinella spiralis* and *Trichinella britovi* in Europe. **International Journal for Parasitology**, 39:71-79.

Pozio E., Zarlenga D. S. (2013). New pieces of the *Trichinella* puzzle. **International Journal for Parasitology**, 43:983-997.

Pozio, E. (2000). Factors affecting the flow among domestic, synanthropic and sylvatic cycles of *Trichinella*. **Veterinary parasitology**, 93(3-4), 241-262.

Pozio, E. (2001). New patterns of *Trichinella* infection. **Veterinary Parasitology**, 98(1-3), 133-148.

Pozio, E. (2007). World distribution of *Trichinella* spp. infections in animals and humans. **Veterinary Parasitology**, 149(1-2), 3-21.

Pozio, E. (2013). Integrating animal health surveillance and food safety: the example of *Anisakis*. **Rev Sci Tech**, 32(2), 487-96.

Pozio, E. (2014). Searching for *Trichinella*: not all pigs are created equal. **Trends in parasitology**, 30(1), 4-11.

Pozio, E. (2019). *Trichinella* and trichinellosis in Europe. **Veterinarski glasnik**, 73(2), 65-84.

Pozio, E., & Murrell, K. D. (2006). Systematics and epidemiology of *Trichinella*. **Advances in parasitology**, 63, 367-439.

Pozio, E., & Zarlenga, D. S. (2005). Recent advances on the taxonomy, systematics and epidemiology of *Trichinella*. **International journal for parasitology**, 35(11-12), 1191-1204.

Pozio, E., & Zarlenga, D. S. (2013). New pieces of the *Trichinella* puzzle. **International journal for parasitology**, 43(12-13), 983-997.

Pozio, E., & La Rosa, G. (2003). PCR-derived methods for the identification of *Trichinella* parasites from animal and human samples. In **PCR detection of microbial pathogens**. Humana Press., pp. 299-309.

Pozio, E., La Rosa, G., Murrell, K. D., & Lichtenfels, J. R. (1992). Taxonomic revision of the genus *Trichinella*. **The Journal of parasitology**, 654-659.

Prevosti, F. J., & Soibelzon, L. H. (2012). **Evolution of the South American Carnivores (Mammalia, Carnivora): A Paleontological Perspective**. In *Bones, clones, and biomes*. University of Chicago Press, 6, pp 102-122.

Reichard, M. V., Criffield, M., Thomas, J. E., Paritte, J. M., Cunningham, M., Onorato, D., ... & Pozio, E. (2015). High prevalence of *Trichinella pseudospiralis* in Florida panthers (*Puma concolor coryi*). **Parasites & vectors**, 8(1), 1-6.

Ribicich, M., Gamble, H. R., Bolpe, J., Scialfa, E., Krivokapich, S., Cardillo, N., ... & Rosa, A. (2010). *Trichinella* infection in wild animals from endemic regions of Argentina. **Parasitology research**, 107(2), 377-380.

Ribicich, M. M., Fariña, F. A., Aronowicz, T., Ercole, M. E., Bessi, C., Winter, M., & Pasqualetti, M. I. (2020). A review on *Trichinella* infection in South America. **Veterinary Parasitology**, 285, 109234.

Santiago, V.S., Trevisol, Y., Kramer, B. (2017) Triquinelose em Javalis no Brasil, **Encontro Nacional de Defesa Sanitária Animal – ENDESA 2017, Belém, Pará – Brasil**.
<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/arquivos-endesa/06.12/bloco-animais-selvagens/3-triquinelose-em-javali-no-brasil-virginia-santiago.pdf/view>

Sharma, R., Thompson, P. C., Hoberg, E. P., Scandrett, W. B., Konecsni, K., Harms, N. J., ... & Jenkins, E. J. (2020). Hiding in plain sight: discovery and phylogeography of a cryptic species of *Trichinella* (Nematoda: Trichinellidae) in wolverine (*Gulo gulo*). **International journal for parasitology**, 50(4), 277-287.

Solís-Hernández, D., Saucedo-Gutiérrez, K. L., Meza-Lucas, A., Gómez-de-Anda, F. R., Medina-Lerena, M. S., García-Rodea, R., ... & de-la-Rosa-Arana, J. L. (2020). Statistical approach to *Trichinella* infection in horses handled by rural slaughterhouses across five distinctive socioeconomic regions in Mexico. **Revista Argentina de Microbiología**, 52(4), 288-292.

Soulé, C. (1994). Trichinellosis in France [1991-1992]. Epidemiology. **Wiadomości Parazytologiczne**, 40(4).

Takahashi, Y., Mingyuan, L., & Waikagul, J. (2000). Epidemiologia da triquinelose na Ásia e na Orla do Pacífico. **Veterinary Parasitology**, 93 (3-4), 227-239.

Waddell, A. H. (1969). The search for *Trichinella spiralis* in Australia. **Australian veterinary journal**, 45(4).

Winter, M., Abate, S. D., Pasqualetti, M. I., Fariña, F. A., Ercole, M. E., Pardini, L., ... & Ribicich, M. M. (2019). *Toxoplasma gondii* and *Trichinella* infections in wild boars (*Sus scrofa*) from Northeastern Patagonia, Argentina. **Preventive veterinary medicine**, 168, 75-80.

Zarlenga, D. S., Chute, M. B., Martin, A., & Kapel, C. M. (1999). A multiplex PCR for unequivocal differentiation of all encapsulated and non-encapsulated genotypes of *Trichinella*. **International journal for parasitology**, 29(11), 1859-1867.

Zarlenga, D., Thompson, P., & Pozio, E. (2020). *Trichinella* species and genotypes. **Research in Veterinary Science**, 133, 289-296.

CAPÍTULO 2 – Evidence of the occurrence of a wild cycle of *Trichinella* spp. in Brazil¹

Abstract

Trichinella is a zoonotic nematode traditionally detected worldwide in both domestic and wild animals. In South America, along with the occurrence of this parasite in domestic pigs and wild boars, there are reports of infection in wild carnivores. Brazil is considered free of the domestic cycle of *Trichinella*, but there is unpublished serological evidence of infection in wild boars, which changed the Brazilian status in OIE regarding the disease after an official communication. We investigated *Trichinella* spp. infection in wild boars and wild carnivores in the Southeastern region of Brazil. A total of 136 samples were tested, 121 from wild boars and 15 from wild carnivores. Artificial enzymatic digestion (AED) tests were performed on muscle samples from 37 wild boars and 15 wild carnivores, and 115 serum samples from wild boars were tested by iELISA. Seven serum samples from wild boars tested positive (7/115 = 6.1%, 95% CI 3.0–12.0), but no larvae were found in the AED. There was no significant difference between sex, age, and location of the samples. The serological results suggest that a wild cycle of *Trichinella* spp. may occur in Brazil, but further analyses should be performed to confirm the presence of the parasite.

Keywords: *Trichinella* spp.; wild boars; wild carnivores; iELISA; artificial digestion.

¹ Este capítulo corresponde ao artigo científico publicado na revista *Animals* **2022**, 12(4), 462; <https://doi.org/10.3390/ani12040462>.

1. Introduction

Trichinellosis is caused by nematodes of the genus *Trichinella*, one of the most widespread zoonotic pathogens in the world. These parasites have been reported in domestic and wild animals on all continents except Antarctica [1]. Currently, ten *Trichinella* species and three genotypes are recognized, and they are divided in two clades: encapsulated and non-encapsulated [2]. The former comprises seven species, with their respective genotypes in parentheses: *Trichinella spiralis* (T1), *Trichinella nativa* (T2), *Trichinella britovi* (T3), *Trichinella murrelli* (T5), *Trichinella nelsoni* (T7), *Trichinella patagoniensis* (T12), and *Trichinella chanchalensis*, along with three genotypes, namely T6, T8, and T9. All of the encapsulated species are known to affect mammals and lead to the formation of modified host cells called “nurse cells”. The non-encapsulated clade is represented by *Trichinella pseudospiralis* (T4), *Trichinella papuae* (T10), and *Trichinella zimbabwensis* (T11). These species are mainly related to reptiles and birds and lost the capability to form nurse cells [3].

Carnivorism is essential for the *Trichinella* spp. life cycle as hosts acquire the parasite by ingesting muscle tissue containing infective larvae [2–4]. There are two different epidemiological cycles: the domestic cycle, related to urban and rural settings and consisting of transmission between domestic and synanthropic animals, in which rodents and pigs are the main hosts and *Trichinella spiralis* the most frequently associated species; and the sylvatic cycle, which involves mainly carnivores and wild boars as the most frequent hosts and includes several species of *Trichinella* of both clades. The transmission patterns in this type of cycle are quite diverse, as they are influenced by geographic region, temperature, altitude, host and parasite species involved, and human behavior [5–7].

Wild mammals act as the main reservoirs of *Trichinella* spp. given the higher biomass of the parasite in this group of animals [8], but domestic animals are the most related to human cases [2,9,10]. Spillover between domestic and wild cycles can occur, often being related to human activities [11]. The occurrence of trichinellosis in humans is strongly related to cultural practices that involve eating raw or undercooked meat. Even though it has been historically associated with pork consumption, in many countries human infection results from ingestion of infected meat from other animals, including game [7,12–17].

Brazil is one of the South American countries most affected by wild boars, an invasion that has been recorded in recent decades [18,19]. Wild boars are one of the most relevant invasive species due to their deleterious impacts on the environment [20]. Hunting is the main strategy to control the wild boar population in Brazil [18], and as a result, the consumption of wild boar meat has become commonplace among hunters and their social circle, despite the fact that the commercialization of wild boar meat is prohibited. Due to the lack of sanitary control, there is a considerable risk of foodborne diseases.

In South America, four *Trichinella* species have been diagnosed: *T. spiralis* in domestic pigs from Argentina and wild boars and cougars from Argentina and Chile; *T. pseudospirallis* in domestic swine from Argentina; *T. patagoniensis* in Argentinian cougars; and *T. britovi* in sausages related to human outbreaks [2]. Brazil is considered free of the domestic cycle of *Trichinella* spp., but an unpublished seroepidemiological study revealed seropositive wild boars in indirect ELISA test, changing the country's OIE disease status in wild animals from "never reported" to "infection in limited zones" [19]. The present study aims to investigate the infection by *Trichinella* spp. in carnivores and wild boars, considering their role in the wild cycle of these parasites, and to determine the occurrence of a wild cycle of *Trichinella* spp. in the studied area.

2. Materials and Methods

The study was conducted in São Paulo State and covered an area of approximately 43,000 km². The estimated population of the area is 4,000,000 people, according to the 2010 IBGE Census [21]. In this region, there is a predominance of sugarcane, citrus, peanut, and corn crops. The vegetation cover is represented by Atlantic rainforest and Cerrado savanna [22]. The climate in the studied region is humid tropical (Aw, in the Köppen classification), characterized by significantly warmer temperatures and quite dry winters [23].

The collection of wild boar samples was accomplished from 2018 to 2020 in 13 cities from São Paulo State. Initially, only blood samples were collected, as the carcasses could not be necropsied due to logistical problems related to the hunters' teams, which hindered the necroscopic examination. Later, these issues were solved

and fragments of tongue, masseter, and diaphragm were collected along with the blood samples. The field activities were suspended in March 2020 due to the COVID-19 pandemic.

The wild boars were separated by sex and age based on tooth eruption pattern [24,25]. The animals were classified as younglings when aged less than 12 months old, adults when between 12 and 36 months old, and old adults when aged more than 36 months old. In total, we obtained samples from 121 wild boars, 84 from which only blood samples could be obtained, 31 from which blood and muscle tissue samples could be obtained, and six from which only tissue samples were obtained due to advanced hemolysis.

The sampling of wild carnivores occurred from 2018 to March 2020. We collected fragments of tissues from 15 road-killed animals found in Matão, Ribeirão Preto, Ibitinga, Jaboticabal, Santa Ernestina, Igarapava, Ituverava, Bebedouro, Araraquara, Sertãozinho, and Catanduva. The muscle samples were stored at 2–8 °C for up to five days until analysis. Blood samples could not be obtained due to the carcasses' conditions.

The blood samples were centrifuged for serum extraction, and the obtained serum samples were stored at –20 °C until analysis. The serum samples were analyzed by indirect ELISA test validated for wild boars (ID Screen® *Trichinella* Indirect Multi-species Kit, IDvet, Grabels, France) with high sensibility and specificity. As *Trichinella* infection is a notifiable disease, the tests were developed at the Laboratory of Animal Genetics and Health (LSGA) of the Embrapa Swine and Poultry, in Concórdia, Santa Catarina State. This is the only Brazilian laboratory authorized and recognized by the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA) for the serological diagnosis of *Trichinella* infection in wild boars in Brazil. The samples were processed following the manufacturer's instructions and using control serum provided in the commercial kit.

For wild boars, we used 20 g of diaphragm, tongue, and/or masseter muscles. For the wild carnivores, 20 g of the forearm muscle, tongue and/or diaphragm was used. The artificial enzymatic digestion technique was performed according to Gamble et al. (2000) [26].

The 95% confidence intervals (95% CIs) of the obtained prevalence rates were

calculated using the Wilson method. Fisher's exact test was used to verify the association between the prevalence rates and the variables of host sex, host age, and host locality. The confidence intervals and Fisher's exact test were determined using the R "binom" package, and the level of significance was 0.05.

3. Results

The total sampling effort of the team during the study period was of 960 h, resulting in 0.12 animals/hour. In addition, we obtained 15 carcasses of road-killed carnivores in roads from the region. Data on the obtained specimens, samples, and tests are detailed in Table 1.

The muscle tissues from 37 wild boars and 15 carnivores were submitted to the artificial enzymatic digestion test in search of *Trichinella* spp. larvae, but all tested negative. From the 115 serum samples of wild boars tested, seven were positive for *Trichinella* spp. (7/115 = 6.1%, 95% CI (3.0–12.0)): four females (04/56 = 7.1%, 95% CI (2.8–17.0)) and three males, (03/59 = 5.1%, 95% CI (1.7–13.9)), in the cities of Barretos (05/57 = 8.8%, 95% CI (0.0–18.9)), Guaraci (01/08 = 12.5%, 95% CI (0.0–47.1)), and Olímpia (01/06 = 16.7%, 95% CI (3.0–56.3)) (Table 2, Figure 1). According to the statistical analyses, there were no significant differences between the prevalence of *Trichinella* spp. in the different cities, in the different age groups, or between males and females (Tables 2 and 3).

Table 1. Animal species and number of samples evaluated by iELISA, iELISA, and enzymatic digestion (iELISA+ED), and enzymatic digestion (AED).

Species	N	Host Characteristics			iELISA	iELISA + AED	AED	TOTAL
		M	F	Age				
Wild boars (<i>Sus scrofa</i>)	121	61	60	46YL/69A/06OA	84	31	06	121
Cougars (<i>Puma concolor</i>)	05	04	01	05 A	-	-	05	05
Ocelots (<i>Leopardus pardalis</i>)	03	03	00	03 A	-	-	03	03
Maned wolves (<i>Chrysocyon brachyurus</i>)	02	01	01	02 A	-	-	02	02
Crab-eating foxes (<i>Cerdocyon thous</i>)	04	01	03	04 A	-	-	04	04
Southern little spotted cat (<i>Leopardus guttulus</i>)	01	01	00	01 A	-	-	01	01
TOTAL					84	31	21	136

N—number of animals; M—Males; F—Females; YL—Younglings; A—Adults; OA—Old adults.

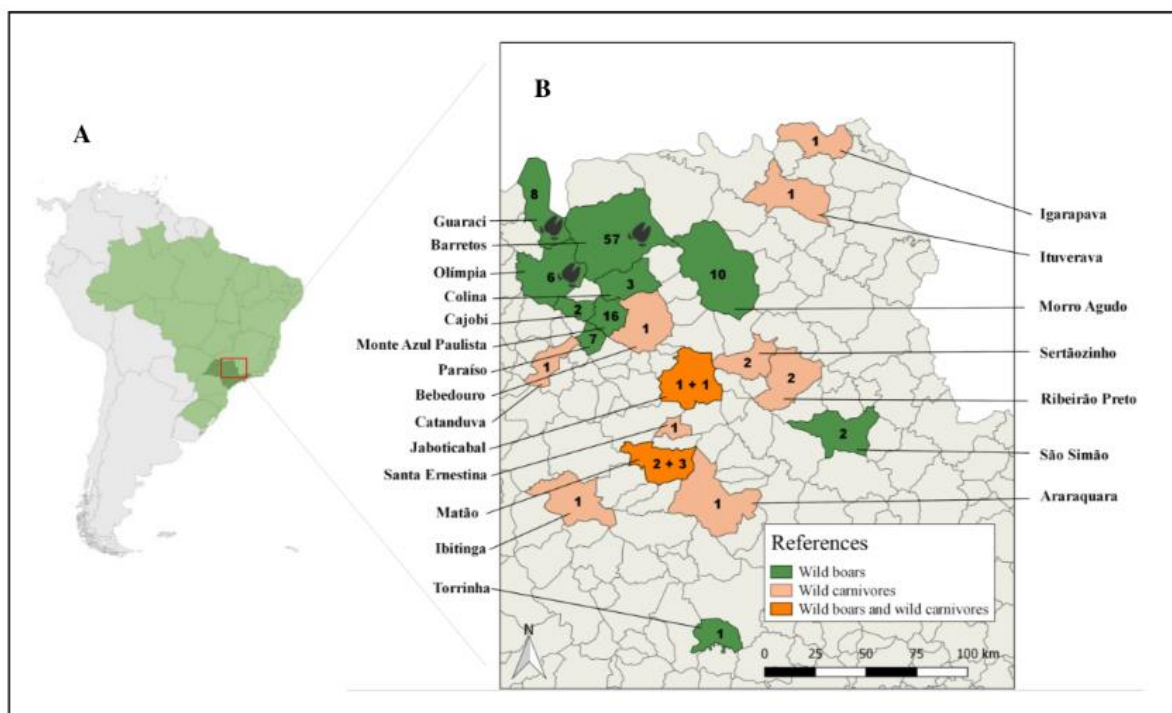


Figure 1. Map of South America (A). Location of the study area, distribution of animal groups, and sampled cities in southeastern Brazil (B). The numbers indicate the number of animals examined in each city: only wild boars, wild boars and wild carnivores, and only wild carnivores. The symbol 🐾 represents cities with seropositive wild boars.

Table 2. Seroprevalence of *Trichinella* spp. antibodies in wild boars according to location.

Location	N	Prevalence (%)	IC 95% (%)
Barretos	57	8,8 (5/57)	0,0–18,9
Cajobi	2	0	0,0–65,8
Colina	3	0	0,0–56,1
Guaraci	8	12,5 (1/8)	0,0–47,1
Jaboticabal	1	0	0,0–79,3
Matão	2	0	0,0–65,8
Monte Azul	16	0	0,0–19,3
Morro Agudo	10	0	0,0–27,7
Olimpia	6	16,7% (1/6)	3,0–56,3
Paraíso	7	0	0,0–35,4
São Simão	2	0	0,0–65,8
Torrinha	1	0	0,0–79,3
TOTAL	115	6,1 (7/115)	3,0–12,0

No significant differences between sampling localities were observed in Fisher's exact test ($p = 0.74$).

Table 3. Seroprevalence of *Trichinella* spp. antibodies in wild boars according to age and sex.

Host Characteristics	N	Prevalence (%)	CI 95%
Age			
Younglings	44	11,4 (5/44)	4,9–24,0
Adults	65	3,1 (2/65)	0,8–10,5
Old adults	6	0	0,0–39,0
Sex			
Females	56	7,1 (4/56)	2,8–17,0
Males	59	5,1 (3/59)	1,7–13,9

No significant differences were observed in Fisher's exact test between prevalence and host age ($p = 0.23$) or sex ($p = 0.71$).

4. Discussion

Trichinellosis has already been described in Argentina and Chile, and five countries in South America have reported the infection in animals by direct or indirect methods [27]. The observed seroprevalence of *Trichinella* spp. in the studied wild boars was 6.1% (7/115, CI95% (3.0–12.0)), without significant association between infection and host age, sex, or locality. Historically, Brazil is free from *Trichinella* spp. infection in synanthropic rodents [28], domestic swine [19,29–32], and horses [33,34], and the disease was never reported in humans. However, even though the OIE recognizes Brazil as free from the domestic cycle of *Trichinella* spp., serosurveillance in wild boars from São Paulo, Mato Grosso, Santa Catarina, and Rio Grande do Sul States revealed seropositive animals in the iELISA test, changing the country's status for the wild cycle, after an official communication by the government agencies [19].

The global seroprevalence of *Trichinella* spp. in wild boars, the second most important source of infection of this disease to humans, is estimated at 6% [35]. The present study showed similar prevalence, 6,1% (95% CI 3.0–12.0), and the absence of significant association between *Trichinella* spp. infection and host age, sex, or site of collection. Although the applied statistical tests showed the absence of association between the variables, in some cities a smaller number of samples was collected when compared to others. The three cities where the samples of the seropositive animals were obtained are geographically close, and perhaps a larger and more uniform sampling would show a different result.

A meta-analysis of *Trichinella* infection in North America, Europe, Asia, and Oceania indicated an absence of interactions between these factors, but in Argentina, even though there were no differences between the age and sex of the host, the prevalence of infection in wild boars from different Patagonia regions was probably influenced by anthropic action due to the presence of cultivated areas [36]. In the present study, all sampled wild boars were captured in strongly anthropized areas, mainly close to large sugarcane and citrus plantations, both inside the cultivated areas or in the surrounding forest fragments.

The indirect ELISA test has high sensitivity and specificity; it is the recommended

serological method for screening large numbers of animals for surveillance by the World Organization for Animal Health [37]. The commercial kits are suitable for detection of anti-*Trichinella* spp. Antibodies, both in serum and meat juice samples, representing a reliable tool for serosurveillance of this parasite in domestic species. When compared to direct methods such as enzymatic digestion, the ELISA test exhibits higher sensitivity in samples with low parasite loads but has reduced ability to detect antibodies in recently infected animals, even when infective larvae are found in the muscle [26,38,39]. We were not able to collect tissue and serum samples of all animals included in this study, and unfortunately we lack data of artificial enzymatic digestion for the seropositive wild boars, preventing the comparison between direct and indirect tests. The Western blot test could be useful in order to discard cross-reaction to parasite species other than *Trichinella* spp., but our laboratory lacks the infrastructure for this test. However, infection by other species of parasites is frequent in these animals, as the studied animals were parasitized by at least one helminth species [unpublished data]. The Elisa test used offers high sensitivity and specificity based on the use of the excretory/secretory (E/S) antigen that allows the detection of antibodies directed against *Trichinella* spp. [manufacturer's manual] [40], so if nonspecific reactions were related to the positive tests, the observed prevalence could be higher, but our team will continue its surveillance of wild boars in search of *Trichinella* spp. larvae nonetheless.

Regarding the carnivores, ELISA could be an important tool in epidemiological studies on these and other wild species [41]. The validation of serological assays for non-domestic species, however, is hindered by the lack of reference sera, as well as the fact that the samples are more prone to contamination and/or hemolysis, which may cause predisposition to a higher number of false-positive results [42]. Therefore, enzymatic digestion is the most reliable test for surveillance of these parasites in wild carnivores. This diagnostic tool allows for the detection of parasitized animals with one to three larvae per gram of tissue [43–45]. This method was successfully used to identify *Trichinella* spp. in autochthonous and exotic wild animals from Argentina [46,47] and Chile [48–50], even allowing the discovering of a novel species, *Trichinella patagoniensis*, in Argentinean cougars [51].

The negative results observed on enzymatic digestion, both for wild carnivores and wild boars, may be related to a low larval load and/or low prevalence—or even absence—of the parasite in the samples evaluated. When we consider the expected prevalence for the enzymatic digestion technique, based on the prevalence obtained in the serology technique, it was expected that the enzymatic digestion technique could detect at least two positive samples (6.1% of 37 samples analyzed). There is still the possibility that the population is infected with a species that produces a very low parasite load, such as what happens with *T. patagoniensis*, which produces a low parasite load in domestic swine and wild boar hosts [37,51–53]. The analysis of samples from wild carnivores by artificial enzymatic digestion was the first study performed in Brazil. The negative results are in line with negative results reported for other wild species such as white-eared opossums (*Didelphis albiventris*), hairy armadillos (*Chaetophractus vellosus*), Geoffroy's cats (*Leopardus geoffroyi*), ferrets (*Galictis cuja*), Molina's hog-nosed skunk (*Conepatus chinga*), and Pampas foxes (*Lycalopex gymnocercus*) from the northeastern region of Argentinean Patagonia [54].

As for human infection, Brazilians traditionally do not have the cultural habit of eating raw, undercooked, or smoked pork or game meat, and end up being less exposed to the risk of transmission. Argentines and Uruguayans have very strong traditions on the preparation and consumption of raw and smoked pork or wild boar meat products (raw ham, chorizo, bacon), which increases the risk of exposure to *Trichinella* [55]. A survey with registered hunters from São Paulo State, however, revealed that 84.2% of them consume wild boar meat, and even though they recognize that game meat can represent a health risk, 15.8% prefer undercooked meat. In addition, 26.3% of the hunters reported using game meat for the manufacture of products such as sausages and salami, thus presenting a potential risk to human and animal health [56]. The cultural habit of consuming hunted wild boar meat in Brazil is recent, since hunting this species has only been allowed in 2013 [57] and may represent a change in human behavior and the introduction of new eating habits, which could lead to increased exposure to and risk of contracting trichinellosis.

Regarding animal health, wild boars can be a potential source of *Trichinella* spp. for production systems located within the radius of occupancy of their populations [58]. Although commercial pig farming in Brazil follows strict internal biosecurity standards [59], it is known that there are more than 800 home-based or subsistence-type farms with low confinement, as well as free-range/organic animal production in São Paulo state [60,61], similar to what occurs in Argentina [62,63]. These production systems are more prone to spillover from the wild cycle of *Trichinella*.

Brazil still does not have a structured and well-defined surveillance program for *Trichinella* spp. in wild boars or other wild animals. There is a partnership between Embrapa Swine and Poultry and the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA), with a proposal for structuring an epidemiological surveillance system as a complement to the Health Surveillance System for Classical Swine Fever (CSF) [64]. With this partnership, Embrapa currently performs serological diagnostics for *Trichinella* spp. in all serum samples that are sent by the Regional Units of Agricultural Defense and go through the CSF program, and the results are reported to MAPA, which is responsible for notification to the World Organization for Animal Health (OIE). Registered hunters, who voluntarily collect and forward the biological material, provide these samples to the regional units, making them important agents for the surveillance of wild boars.

5. Conclusions

The wide distribution of wild boars and the presence of seropositive animals for *Trichinella* spp. suggest that a wild cycle may occur in Brazil, which, with new patterns of human behavior, increasing changes in eating habits, and changing agricultural practices, may be a determining factor in the increased risk of exposure in domestic animals and humans to this parasite. Even though, further studies are needed to search for the parasite larvae in order to effectively confirm the occurrence of *Trichinella* spp. in Brazil and determine the circulating species.

Author Contributions: Conceptualization, C.S.S. and E.G.L.H.; methodology, C.S.S. and E.G.L.H.; software, C.S.S. and T.O.M.; validation, C.S.S.; formal analysis, C.S.S., E.G.L.H. and L.A.M.; investigation, C.S.S.; resources, E.G.L.H., P.E.C. and K.W.; data curation, C.S.S., T.O.M., D.M.R.M., C.A.A.-P., P.P.P., W.J.O., I.M.T., B.K., V.S.S. and K.P.B.; writing—original draft preparation, C.S.S.; writing—review and editing, C.S.S., P.P.P. and E.G.L.H.; visualization, C.S.S. and E.G.L.H.; supervision, E.G.L.H.; project administration E.G.L.H.; funding acquisition, E.G.L.H. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES)—Finance Code 001 partially funded this study.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Chico Mendes Institute for Biodiversity Conservation— ICMBio (SISBIO N°62641-2 and SISBIO N°67577) and by the Ethics Committee on the Use of Animals (CEUA) from FCAV/Unesp (protocol N° 001190/2019). The hunters, who voluntarily supported the research, are registered in the Brazilian Institute of the Environment and Renewable Natural Resources, Brazilian Ministry of Environment.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Acknowledgments: The authors would like to thank the voluntary hunters who contributed to the sample collection.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Pozio, E.; Murrell, K.D. Systematics and epidemiology of *Trichinella*. *Adv. Parasit.* 2006, 63, 367–439. [CrossRef]
2. Ribicich, M.M.; Fariña, F.A.; Aronowicz, T.; Ercole, M.E.; Bessi, C.; Winter, M.; Pasqualetti, M.I. Reprint of: A review on *Trichinella* infection in South America. *Vet. Parasitol.* 2021, 297, 109540. [CrossRef] [PubMed]
3. Pozio, E.; Zarlenga, D.S. New pieces of the *Trichinella* puzzle. *Int. J. Parasitol.* 2013, 43, 983–997. [CrossRef] [PubMed]
4. Sharma, R.; Thompson, P.C.; Hoberg, E.P.; Scandrett, W.B.; Konecni, K.; Harms, N.J.; Kukka, P.M.; Jung, S.T.; Elkin, B.; Mulders, R.; et al. Hiding in plain sight: Discovery and phylogeography of a cryptic species of *Trichinella* (Nematoda: Trichinellidae) in wolverine (*Gulo gulo*). *Int. J. Parasitol.* 2020, 50, 277–287. [CrossRef] [PubMed]
5. Pozio, E. Factors affecting the flow among domestic, synanthropic and sylvatic cycles of *Trichinella*. *Vet. Parasitol.* 2000, 93, 241–262. [CrossRef]
6. Pozio, E. New patterns of *Trichinella* infection. *Vet. Parasitol.* 2001, 98, 133–148. [CrossRef]
7. Murrell, K.D.; Pozio, E. Trichinellosis: The zoonosis that won't go quietly. *Int. J. Parasitol.* 2000, 30, 1339–1349. [CrossRef]
8. Pozio, E. Searching for *Trichinella*: Not all pigs are created equal. *Trends Parasitol.* 2014, 30, 4–11. [CrossRef]
9. Reichard, M.V.; Criffield, M.; Thomas, J.E.; Paritte, J.M.; Cunningham, M.; Onorato, D.; Kenneth, L.; Interisano, M.; Marucci, G.; Pozio, E. High prevalence of *Trichinella pseudospiralis* in Florida panthers (*Puma concolor coryi*). *Parasite Vectors* 2015, 8, 1–6. [CrossRef]
10. Korhonen, P.K.; Pozio, E.; La Rosa, G.; Chang, B.C.; Koehler, A.V.; Hoberg, E.P.; Boag, P.R.; Tan, P.; Jex, A.R.; Hofmann, A.; et al. Phylogenomic and biogeographic reconstruction of the *Trichinella* complex. *Nat. Commun.* 2016, 7, 1–8. [CrossRef]
11. Klun, I.; Čosić, N.; Čirović, D.; Vasilev, D.; Teodorović, V.; Djurković-Djaković, O. *Trichinella* spp. in wild mesocarnivores in an endemic setting. *Acta Vet. Hung.* 2019, 67, 34–39. [CrossRef] [PubMed]
12. Bolpe, J.; Boffi, R. Human trichinellosis in Argentina. Review of the casuistry registered from 1990 to 1999. *Parasite* 2001, 8, S78–S80. [CrossRef] [PubMed]
13. Marinculić, A.; Gašpar, A.; Duraković, E.; Pozio, E.; La Rosa, G. Epidemiology of swine trichinellosis in the Republic of Croatia. *Parasite* 2001, 8, S92–S94. [CrossRef] [PubMed]
14. Djordjevic, M.; Bacic, M.; Petricevic, M.; Cuperlovic, K.; Malakauskas, A.; Kapel, C.M.O.; Murrell, K.D. Social, political, and economic factors responsible for the reemergence of trichinellosis in Serbia: A case study. *J. Parasitol.* 2003, 89, 226–231. [CrossRef]
15. Pozio, E. World distribution of *Trichinella* spp. infections in animals and humans. *Vet. Parasitol.* 2007, 149, 3–21. [CrossRef] [PubMed]
16. Pozio, E. *Trichinella* spp. imported with live animals and meat. *Vet. Parasitol.* 2015, 213, 46–55. [CrossRef]

17. Rostami, A.; Gamble, H.R.; Dupouy-Camet, J.; Khazan, H.; Bruschi, F. Meat sources of infection for outbreaks of human trichinellosis. *Food Microbiol.* 2017, 64, 65–71. [CrossRef]
18. Plano Nacional de Prevenção, Controle e Monitoramento do Javali (*Sus scrofa*) no Brasil. Available online: www.gov.br/ibama/pt-br/centrais-de-conteudo/2017-planojavali-2017-2022-pdf (accessed on 5 December 2021). (In Spanish)
19. World Animal Health Information System. Available online: <https://wahis.oie.int/#/dashboards/country-or-disease-dashboard> (accessed on 5 December 2021).
20. Lowe, S.; Browne, M.; Boudjelas, S.; De Poorter, M. 100 of the World's Worst Invasive Alien Species: A Selection from the Global Invasive Species Database; Invasive Species Specialist Group: Auckland, New Zealand, 2000.
21. Censo IBGE. Available online: www.censo2010.ibge.gov.br (accessed on 5 December 2021).
22. Mapa de Biomas do Estado de São Paulo. Available online: www.infraestruturameioambiente.sp.gov.br/sicar/2017/11/resolucaosma-1462017-institui-o-mapa-de-biomas-do-estado-de-sao-paulo (accessed on 5 December 2021).
23. Martinelli, M. Clima do estado de São Paulo. *Confins* 2010, 8. [CrossRef]
24. Matschke, G.H. Aging European wild hogs by dentition. *J. Wildl. Manag.* 1967, 109–113. [CrossRef]
25. Sáez-Royuela, C.; Gomariz, R.P.; Tellería, J.L. Age determination of European wild boar. *Wildl. Soc. Bull.* 1989, 17, 326–329.
26. Gamble, H.R.; Bessonov, A.S.; Cuperlovic, K.; Gajadhar, A.A.; Van Knapen, F.; Noeckler, K.; Schenone, H.; Zhu, X. International Commission on Trichinellosis: Recommendations on methods for the control of *Trichinella* in domestic and wild animals intended for human consumption. *Vet. Parasitol.* 2000, 93, 393–408. [CrossRef]
27. Ribicich, M.M.; Fariña, F.A.; Aronowicz, T.; Ercole, M.E.; Bessi, C.; Winter, M.; Pasqualetti, M.I. A review on *Trichinella* infection in South America. *Vet. Parasitol.* 2020, 285, 109234. [CrossRef]
28. Paim, G.V.; Côrtes, V.D.A. Pesquisa de *Trichinella spiralis* em roedores capturados na zona portuária de Santos. *Rev. Saude Publ.* 1979, 13, 54–55. (In Spanish) [CrossRef]
29. Daguer, H.; Bersot, L.D.S.; Barcellos, V.C. Absence of *Trichinella* infection in adult pigs slaughtered in Palmas, State of Parana (Brazil), detected by modified artificial digestion assay. *J. Food Prot.* 2006, 69, 686–688. [CrossRef]
30. Daguer, H.; Geniz, P.V.; Santos, A.V.D. Ausência de *Trichinella spiralis* em suínos adultos abatidos em Palmas, Estado do Paraná, Brasil. *Cienc. Rural* 2005, 35, 660–663. (In Spanish) [CrossRef]
31. De Oliveira Souza, E.; Sposito, P.H.; Merlini, L.S. Pesquisa de *Trichinella spiralis* em suínos abatidos na região noroeste do estado do Paraná, Brazil. *Rev. Bras. Hig. Sanid. Anim.* 2013, 7, 225–232. (In Spanish) [CrossRef]

32. Siqueira, A.K.; Da Silva, V.G.; Ferro, I.D.; Freitas, R.A.; Giesel, A. Absence of *Trichinella spiralis* in swine carcasses slaughtered in the midwestern Region of Paraná State, Brazil. *Semin. Cienc. Agrar.* 2020, 41, 1073–1078. [CrossRef]
33. Evers, F.; Garcia, J.L.; Navarro, I.T.; de Freitas, J.C.; Bonesi, G.L.; do Nascimento Benitez, A.; Nino, B.S.L.; Ewald, M.P.C.; Taroda, A.; Almeida, J.C.; et al. Zoonosis of public health interest in slaughtered Brazilian equidae. *Semin. Ciênc. Agrar.* 2012, 33, 3223–3232. [CrossRef]
34. Salazar, A.F.N.; Salotti-Souza, B.M. Avaliação da presença de *Trichinella spiralis* em equinos abatidos em Araguari, MG. *Hig. Alim.* 2017, 31, 102–105. (In Spanish)
35. Rostami, A.; Riahi, S.M.; Ghadimi, R.; Hanifehpour, H.; Hamidi, F.; Khazan, H.; Gamble, H.R. A systematic review and meta-analysis on the global seroprevalence of *Trichinella* infection among wild boars. *Food Control* 2018, 91, 404–411. [CrossRef]
36. Winter, M.; Abate, S.D.; Pasqualetti, M.I.; Fariña, F.A.; Ercole, M.E.; Pardini, L.; Moré, G.; Venturini, M.C.; Pereira, N.; Corominas, M.J.; et al. *Toxoplasma gondii* and *Trichinella* infections in wild boars (*Sus scrofa*) from Northeastern Patagonia, Argentina. *Prev. Vet. Med.* 2019, 168, 75–80. [CrossRef] [PubMed]
37. World Animal Health Information System. Available online: <https://www.oie.int/en/disease/trichinellosis/> (accessed on 5 December 2021).
38. Kapel, C.M.O.; Gamble, H.R. Infectivity, persistence, and antibody response to domestic and sylvatic *Trichinella* spp. in experimentally infected pigs. *Int. J. Parasitol.* 2000, 30, 215–221. [CrossRef]
39. Nöckler, K.; Serrano, F.J.; Boireau, P.; Kapel, C.M.; Pozio, E. Experimental studies in pigs on *Trichinella* detection in different diagnostic matrices. *Vet. Parasitol.* 2005, 132, 85–90. [CrossRef] [PubMed]
40. OIE Terrestrial Manual 2012. Chapter 2.1.16. Trichinellosis. Available online: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.21_TRICHINELLOSIS.pdf (accessed on 5 December 2021).
41. Gamble, H.R.; Pozio, E.; Bruschi, F.; Nöckler, K.; Kapel, C.M.O.; Gajadhar, A.A. International Commission on Trichinellosis: Recommendations on the use of serological tests for the detection of *Trichinella* infection in animals and man. *Parasite* 2004, 11, 3–13. [CrossRef]
42. Bruschi, F.; Gómez-Morales, M.A.; Hill, D.E. International Commission on Trichinellosis: Recommendations on the use of serological tests for the detection of *Trichinella* infection in animals and humans. *Food Waterborne Parasitol.* 2019, 14, e00032. [CrossRef]
43. Forbes, L.B.; Rajic, A.; Gajadhar, A.A. Proficiency samples for quality assurance in *Trichinella* digestion tests. *J. Food Protect.* 1998, 61, 1396–1399. [CrossRef]
44. Ribicich, M.; Rosa, A.; Bolpe, J.; Scialfa, E.; Cardillo, N.; Pasqualetti, M.I.; Betti, A.; Fariña, F.; Vizio, E.; Gimenez, R.; et al. Avances en el estudio del diagnóstico y la prevención de la trichinellosis. In Proceedings of the XIX Encuentro Rioplatense de Veterinarios Endoparasitólogos, Buenos Aires, Argentina, 18–20 May 2010.

45. Estupiñan, S.E.C.; Tulcán, G.I.C.; Medellín, M.O.P. Métodos de detección de triquinosis en cerdos. *Rev. Logos Cienc. Tecnol.* 2018, 10, 203–212. (In Spanish) [CrossRef]
46. Ribicich, M.; Gamble, H.R.; Bolpe, J.; Scialfa, E.; Krivokapich, S.; Cardillo, N.; Betti, A.; Holzman, M.L.C.; Pasqualetti, M.; Fariña, F.; et al. *Trichinella* infection in wild animals from endemic regions of Argentina. *Parasitol. Res.* 2010, 107, 377–380. [CrossRef]
47. Pasqualetti, M.I.; Fariña, F.A.; Krivokapich, S.J.; Gatti, G.M.; Daneri, G.A.; Varela, E.A.; Lucero, S.; Ercole, M.E.; Bessi, C.; Winter, M.; et al. *Trichinella spiralis* in a South American sea lion (*Otaria flavescens*) from Patagonia, Argentina. *Parasitol. Res.* 2018, 117, 4033–4036. [CrossRef]
48. Echeverry, D.M.; Henríquez, A.; Oyarzún-Ruiz, P.; Silva-de la Fuente, M.C.; Ortega, R.; Sandoval, D.; Landaeta-Aqueveque, C. First record of *Trichinella* in *Leopardus guigna* (Carnivora, Felidae) and *Galictis cuja* (Carnivora, Mustelidae): New hosts in Chile. *PeerJ–Life Environ.* 2021, 9, e11601. [CrossRef]
49. Echeverry, D.M.; Santodomingo, A.M.S.; Thomas, R.S.; González-Ugás, J.; Oyarzún-Ruiz, P.; Landaeta-Aqueveque, C. *Trichinella spiralis* in a cougar (*Puma concolor*) hunted by poachers in Chile. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 2021, 30, e002821. [CrossRef] [PubMed]
50. Espinoza-Rojas, H.; Lobos-Chávez, F.; Silva-de la Fuente, M.C.; Echeverry, D.M.; Muñoz-Galaz, J.; Yáñez-Crisóstomo, C.; Landaeta-Aqueveque, C. Survey of *Trichinella* in American minks (*Neovison vison* Schreber, 1777) and wild rodents (Muridae and Cricetidae) in Chile. *Zoonoses Public Health* 2021, 68, 842–848. [CrossRef] [PubMed]
51. Krivokapich, S.J.; Pozio, E.; Gatti, G.M.; Prous, C.L.G.; Ribicich, M.; Marucci, G.; La Rosa, G.; Confalonieri, V. *Trichinella patagoniensis* n. sp. (Nematoda), a new encapsulated species infecting carnivorous mammals in South America. *Int. J. Parasitol.* 2012, 42, 903–910. [CrossRef] [PubMed]
52. Ribicich, M.; Krivokapich, S.; Pasqualetti, M.; Prous, C.G.; Gatti, G.M.; Falzoni, E.; Aronowicz, T.; Arbusti, P.; Fariña, F.; Rosa, A. Experimental infection with *Trichinella* T12 in domestic cats. *Vet. Parasitol.* 2013, 194, 168–170. [CrossRef]
53. Bessi, C.; Ercole, M.E.; Fariña, F.A.; Ribicich, M.M.; Montalvo, F.; Acerbo, M.; Krivokapich, S.J.; Pasqualetti, M.I. Study of *Trichinella patagoniensis* in wild boars. *Vet. Parasitol.* 2020, 297, 109166. [CrossRef]
54. Winter, M.; Pasqualetti, M.; Fariña, F.; Ercole, M.; Failla, M.; Perello, M.; Ribicich, M. Trichinellosis surveillance in wildlife in northeastern Argentine Patagonia. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.* 2018, 11, 32–35. [CrossRef]
55. Gottstein, B.; Pozio, E.; Nöckler, K. Epidemiology, diagnosis, treatment, and control of trichinellosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2009, 22, 127–145. [CrossRef]
56. Machado, D.M.R.; de Barros, L.D.; Nino, B.D.S.L.; de Souza Pollo, A.; dos Santos Silva, A.C.; Perles, L.; Perles, L.; André, M.R.; Machado, R.Z.; Garcia, J.L.; et al. Toxoplasma gondii infection in wild boars (*Sus scrofa*) from the State of São Paulo, Brazil: Serology, molecular characterization, and hunter's perception on toxoplasmosis. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.* 2021, 23, 100534. [CrossRef]

57. Instrução Normativa/Ibama nº 03 de 31/01/13. Available online: www.ibama.gov.br/component/legislacao/?view=legislacao&legislacao=129393 (accessed on 5 December 2021).
58. Krivokapich, S.J.; Prous, C.L.G.; Gatti, G.M.; Saldía, L. First finding of *Trichinella pseudospiralis* in the Neotropical region. *Vet. Parasitol.* 2015, 208, 268–271. [CrossRef]
59. Instrução Normativa/SDA nº 19 de 15/02/2002. Available online: www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumosagropecuarios/insumos-pecuarios/material-genetico/registro-de-estabelecimento/arquivos/instrucao-normativa-no-19-de-15-de-fevereiro-de-2002.pdf/view (accessed on 5 December 2021).
60. Borges, S.R.T.; Campanha, R.C.; Pompei, J.C.A.; Ishizuka, M.M. Ausência de Atividade do Vírus da Peste Suína Clássica no Estado De São Paulo. In Proceedings of the Congresso Latino Americano De Suinocultura, Foz Do Iguaçu, Brazil, 16–18 October 2002.
61. Broglia, A.; Kapel, C. Changing dietary habits in a changing world: Emerging drivers for the transmission of foodborne parasitic zoonoses. *Vet. Parasitol.* 2011, 182, 2–13. [CrossRef]
62. Alder, M.; Bouhier, R.A.; Cariac, G.E.; Carusso, G.; Di Nardo, Y.; Fuentes, G.E.; Gallego, J.J.; Gallo, S.L.; García Vinent, J.C.; Gilardi, M.E.; et al. Territorios y Producción en el Noreste de la Patagonia; Universidad Nacional del Comahue: Neuquén, Argentina, 2018; (In Spanish) Available online: <http://rdi.uncoma.edu.ar:8080/handle/123456789/5812> (accessed on 5 December 2021).
63. Winter, M.; Ribicich, M.M.; Perera, N.; Corominas, M.J.; Mancini, S.; Carrión Andretich, M.; Avilá, A.; Abate, S.D. Reporte de resultados negativos a *Trichinella* spp. por digestión artificial en cerdos domésticos del valle inferior del río Negro, Patagonia noreste de Argentina. *FAVE Cs. Vet.* 2020, 19, 55–59. (In Spanish) [CrossRef]
64. Norma Interna/SDA nº 03 de 18/07/2014. Available online: www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/sanidade-suidea/legislacao-suideos/2014NormalInternaDSAn03de18_09AprovaPlanodeVigilanciadeSuideosAsselvajados.pdf/view (accessed on 5 December 2021).

CAPÍTULO 3 – Considerações Finais

O Brasil é um país considerado livre de triquinelose humana e em animais domésticos, mas ainda assim, o histórico de pesquisas sobre esse parasita é muito pequeno em nosso país. Existem alguns poucos estudos com porcos domésticos e equinos, um único estudo anterior a esse com sorologia em javalis e o presente que foi o primeiro utilizando a técnica de digestão enzimática em amostras de animais selvagens, incluindo os carnívoros selvagens que possuem um papel importantíssimo no ciclo selvagem da *Trichinella* spp. e que nunca haviam sido estudados no Brasil.

O presente estudo trouxe resultados que apresentam importantes possibilidades no que se refere à ocorrência de *Trichinella* spp. no Brasil. Embora não tenhamos encontrado o parasita nas análises realizadas, conseguimos realizar um inquérito sorológico com importantes resultados que demonstram que o Brasil possui um ciclo selvagem da *Trichinella* spp., algo anteriormente pouco conhecido. Acreditamos que novas pesquisas utilizando diferentes técnicas de diagnóstico e avaliando diferentes espécies animais poderão obter resultados que complementam o que foi apresentado nessa tese.

Esses resultados ascendem um alerta sobre a necessidade de se considerar e se discutir a triquinelose em nosso país, principalmente naquelas comunidades que tem aumentado o interesse e o hábito de caçar e consumir carnes de caça e o fazem de maneira artesanal e sem nenhum tipo de controle sanitário desses produtos. A educação em saúde para esses grupos e suas comunidades focando na apresentação da doença e as principais formas de prevenção parece ser uma ação bastante necessária, pois a triquinelose é uma doença quase totalmente desconhecida no Brasil, inclusive pela comunidade médica.

Visando a saúde pública, saúde animal e a segurança da produção de suínos brasileira, em especial das produções de baixa tecnificação e de subsistência, avalia-se como sendo de grande importância a inserção de um Projeto de Monitoramento de *Trichinella* spp. em javalis e outros mamíferos selvagens como uma das estratégias de ação dos Planos nacional e estaduais de Sanidade Suídea. Com isso, seria possível aumentar o conhecimento sobre o ciclo selvagem do

parasita no país e assim proporcionar subsídios para a avaliação dos riscos e a necessidade de elaboração de um sistema de vigilância estruturado e específico para a *Trichinella* spp.

O desenvolvimento dessa tese ainda possibilitou a capacitação e preparação do Laboratório de Enfermidades Parasitárias – LabEPar - do Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única (DPRSU) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp Jaboticabal – SP para a realização do diagnóstico parasitológico da *Trichinella* spp. pela técnica de digestão enzimática. Com isso, esse laboratório pode atuar como um importante aliado e estratégico ponto de referência no diagnóstico da *Trichinella* spp.

Muito há para ser realizado e pesquisado no que se refere a este parasita no Brasil e uma série de questionamentos precisam ser esclarecidos para que se possa entender como ocorre e como se comporta, tais como: O quanto a sorologia reflete a ocorrência de *Trichinella*? Qual o papel dos javalis nesse ciclo? Ocorre *Trichinella* nos carnívoros selvagens do Brasil? Como os hábitos culturais dos brasileiros predisõem ao risco de infecção pelo parasita?

Esperamos que este trabalho seja a porta de entrada de muitas outras pesquisas sobre o tema no Brasil.

Apêndices

Apêndice 1. Relatório emitido pela EMBRAPA Suínos e Aves com os resultados da sorologia para *Trichinella* spp..



Relatório de sorologia para detecção de anticorpos contra *Trichinella* sp em
javalis

UNESP Jaboticabal

10 de março de 2021

Responsáveis pelas análises:

Iara Maria Trevisol, Med. Veterinária, Pesquisadora Embrapa Suínos e Aves

Beatris Kramer, Bióloga, Analista Embrapa Suínos e Aves

Virgínia Santiago Silva, Pesquisadora Embrapa Suínos e Aves

Descrição do kit comercial utilizado:

ID Screen® *Trichinella* Indirect Multi-species Indirect ELISA

(<https://www.id-vet.com/produto/id-screen-trichinella-indirect-multi-species/>)

ID Screen® *Trichinella* Indirect Multi-species

Indirect multi-species ELISA kit for the detection of anti-*Trichinella* antibodies (*T. spiralis*, *pseudospiralis*, *britovi* and *nativa*) in serum, plasma or meat juice from pigs, wild boar and horses.

Please contact IDvet for use in other species.

	Origem	Data colheita	Ano	UF	Município	Sexo	Peso (kg)	Teste 1	Teste 2
1	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	11/04/2019	2019	SP	Monte Azul Paulista	M	19	Negativo	Negativo
2	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	11/04/2019	2019	SP	Monte Azul Paulista	F	45	Negativo	Negativo
3	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	19/05/2019	2019	SP	Monte Azul Paulista	F	53	Negativo	Negativo

4	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	19/05/2019	2019	SP	Monte Azul Paulista	M	60	Negativo	Negativo
5	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	17/07/2019	2019	SP	Monte Azul Paulista	M	40	Negativo	Negativo
6	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	17/07/2019	2019	SP	Monte Azul Paulista	F	80	Negativo	Negativo
7	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	17/07/2019	2019	SP	Monte Azul Paulista	F	40	Negativo	Negativo
8	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	23/07/2019	2019	SP	Monte Azul Paulista	M	50	Negativo	Negativo
9	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	23/07/2019	2019	SP	Monte Azul Paulista	M	50	Negativo	Negativo
10	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	23/07/2019	2019	SP	Monte Azul Paulista	F	60	Negativo	Negativo
11	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	23/07/2019	2019	SP	Monte Azul Paulista	M	40	Negativo	Negativo
12	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	31/08/2019	2019	SP	Barretos	M	46	Negativo	Negativo
13	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	07/09/2019	2019	SP	Morro Agudo	M	80	Negativo	Negativo
14	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	07/09/2019	2019	SP	Morro Agudo	M	85	Negativo	Negativo
15	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	14/09/2019	2019	SP	Morro Agudo	F	60	Negativo	Negativo
16	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	14/09/2019	2019	SP	Morro Agudo	F	60	Suspeito	Suspeito
17	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	21/09/2019	2019	SP	Morro Agudo	F	40	Negativo	Negativo
18	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	21/09/2019	2019	SP	Morro Agudo	M	70	Negativo	Negativo
19	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	30/06/2018	2018	SP	Olímpia	não	não	Negativo	Negativo
20	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	30/06/2018	2018	SP	Olímpia	não	não	Negativo	Negativo

21	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	05/08/2018	2018	SP	Olímpia	não	não	Negativo	Negativo
22	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	08/08/2018	2018	SP	Olímpia	não	não	Negativo	Negativo
23	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	10/02/2019	2018	SP	Olímpia	não	não	Suspeito	Positivo
24	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	10/02/2019	2018	SP	Olímpia	não	não	Negativo	Negativo
25	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	15/03/2018	2018	SP	Colina	não	não	Negativo	Negativo
26	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	15/03/2018	2018	SP	Colina	não	não	Negativo	Negativo
27	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	15/03/2018	2018	SP	Colina	não	não	Negativo	Negativo
28	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	22/04/2018	2018	SP	Torrinha	não	não	Negativo	Negativo
29	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	30/07/2018	2018	SP	Jaboticabal	não	não	Negativo	Negativo
30	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	09/09/2018	2018	SP	Guaraci	não	não	Negativo	Negativo
31	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	20/02/2019	2019	SP	Guaraci	não	não	Negativo	Negativo
32	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	20/02/2019	2019	SP	Guaraci	não	não	Negativo	Negativo
33	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	20/02/2019	2019	SP	Guaraci	não	não	Negativo	Negativo
34	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	20/02/2019	2019	SP	Guaraci	não	não	Negativo	Negativo
35	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	20/02/2019	2019	SP	Guaraci	não	não	Negativo	Negativo
36	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	20/02/2019	2019	SP	Guaraci	não	não	Negativo	Negativo
37	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	20/02/2019	2019	SP	Guaraci	não	não	Suspeito	Positivo

38	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	05/05/2018	2018	SP	Barretos	não	não	positivo	Positivo
39	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	12/05/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
40	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	12/05/2018	2018	SP	Barretos	não	não	positivo	Positivo
41	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	12/05/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
42	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	12/05/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
43	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	jul/18	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
44	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	05/08/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
45	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	18/08/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
46	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	18/08/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
47	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	18/08/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
48	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	18/08/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
49	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	27/08/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
50	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	07/09/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
51	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	07/09/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
52	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	07/09/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
53	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	07/09/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
54	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	07/09/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo

55	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	08/09/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
56	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	08/09/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
57	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	10/09/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
58	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	10/09/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
59	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	15/09/2018	2018	SP	Barretos	não	não	positivo	Positivo
60	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	15/09/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
61	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	15/09/2018	2018	SP	Barretos	não	não	positivo	positivo
62	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	20/10/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
63	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	20/10/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
64	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	19/10/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
65	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	19/10/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
66	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	29/10/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
67	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	12/11/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
68	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	12/11/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
69	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	12/11/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
70	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	13/11/2018	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
71	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	nov/18	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo

72	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	nov/18	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
73	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	nov/18	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
74	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	nov/18	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
75	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	nov/18	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
76	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	nov/18	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
77	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	nov/18	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
78	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	nov/18	2018	SP	Barretos	não	não	positivo	Positivo
79	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	nov/18	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
80	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	nov/18	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
81	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	nov/18	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
82	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	nov/18	2018	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
83	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	fev/19	2019	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
84	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	fev/19	2019	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
85	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	fev/19	2019	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
86	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	fev/19	2019	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
87	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	fev/19	2019	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
88	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	fev/19	2019	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo

89	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	fev/19	2019	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
90	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	fev/19	2019	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
91	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	fev/19	2019	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
92	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	fev/19	2019	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
93	CDA - Paulo Eduardo Carraro/ Carolina dos Santos Silva	fev/19	2019	SP	Barretos	não	não	Negativo	Negativo
94	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	21/09/2019	2019	SP	Morro Agudo	F	40	Negativo	Negativo
95	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	21/09/2019	2019	SP	Morro Agudo	M	70	Negativo	Negativo
96	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	22/11/2019	2019	SP	Cajobi	F	40	Negativo	Negativo
97	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	22/11/2019	2019	SP	Cajobi	F	40	Negativo	Negativo
98	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	02/02/2020	2020	SP	Morro Agudo	M	70	Negativo	Negativo
99	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	02/02/2020	2020	SP	Morro Agudo	M	80	Negativo	Negativo
100	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	08/02/2020	2020	SP	Morro Agudo	M	90	Negativo	Negativo
101	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	08/02/2020	2020	SP	Morro Agudo	F	80	Negativo	Negativo
102	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	22/02/2020	2020	SP	Matão	M	60	Negativo	Negativo
103	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	22/02/2020	2020	SP	Matão	F	60	Negativo	Negativo
104	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	14/03/2020	2020	SP	São Simão	M	100	Negativo	Negativo
105	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	14/03/2020	2020	SP	São Simão	F	20	Negativo	Negativo

106	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	27/07/2020	2020	SP	Monte Azul	M	60	Negativo	Negativo
107	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	27/07/2020	2020	SP	Monte Azul	M	60	Negativo	Negativo
108	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	28/08/2020	2020	SP	Monte Azul	M	100	Negativo	Negativo
109	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	28/08/2020	2020	SP	Monte Azul	M	80	Negativo	Negativo
110	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	04/10/2020	2020	SP	Paraíso	M	25	Negativo	Negativo
111	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	04/10/2020	2020	SP	Paraíso	F	5	Negativo	Negativo
112	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	04/10/2020	2020	SP	Paraíso	M	5	Negativo	Negativo
113	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	04/10/2020	2020	SP	Paraíso	M	25	Negativo	Negativo
114	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	04/10/2020	2020	SP	Paraíso	F	60	Negativo	Negativo
115	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	25/10/2020	2020	SP	Paraíso	F	15	Negativo	Negativo
116	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	25/10/2020	2020	SP	Paraíso	F	50	Negativo	Negativo
117	CDA - Estevam Guilherme Lux Hoppe/Unesp/Jaboticabal	31/10/2020	2020	SP	Monte Azul	M	65	Negativo	Negativo