

SUSCETIBILIDADE *IN VIVO* DE FUNGO NEMATÓFAGO FRENTE A FÁRMACOS ANTIPARASITÁRIOS

ISABEL DE ABREU ESTEVES¹;

GRACIALDA FERREIRA DE FERREIRA²; THAYLINE MACHADO FREITAS²
 FLÁVIA BIASOLI DE ARAÚJO; MARCUS VINÍCIUS GODOY DÍAS³; PATRÍCIA
 DA SILVA NASCENTE³

¹ Universidade Federal de Pelotas – bel.esteves@live.com

² Universidade Federal de Pelotas – graci_ferreira@hotmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – thaylinefreitas@yahoo.com.br

² Universidade Federal de Pelotas – flaviaaraujo_vet@yahoo.com.br

² Universidade Federal de Pelotas – diasgodoy@gmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – patsn@bol.com.br

1. INTRODUÇÃO

O prejuízo causado por endoparasitismo é considerável em animais de produção, sendo a infecção por nematódeos a principal causa de perdas econômicas em todo mundo neste setor (HORN e ARTECHE, 1985). Tais perdas estão associadas diminuição no ganho de peso; alterações na condição corporal; efeito depressivo na produção de leite; piora na conversão alimentar; no desempenho reprodutivo dos animais e, ainda, no aumento da mortalidade, principalmente entre animais jovens (GRAMINHA et al., 2001). Diversos programas de controle vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de minimizar os efeitos adversos das endoparasitoses na produção extensiva de ovinos. Entre eles, pode-se destacar o uso de compostos anti-helmínticos que têm focado a diminuição de larvas infectantes na pastagem por meio da diminuição da população de parasitos adultos nos animais (SANTOS, 2008; PEREIRA et al., 2008). Entretanto, apesar dos compostos antiparasitários serem utilizados como uma das principais ferramentas, seu uso possui algumas limitações, tais como: resíduos de drogas em produtos animais, efeitos tóxicos em organismos não alvos no meio ambiente e resistência anti-helmíntica (JOBIM et al., 2008).

O controle biológico mediante utilização de fungos nematófagos tem se tornado uma importante estratégia para controlar os nematódeos gastrintestinais em animais de produção e *Duddingtonia flagrans* é a espécie fungica mais estudada (ARAÚJO et al., 2004). Reduções nas quantidades de larvas infectantes de nematódeos parasitos têm sido demonstradas com sucesso na utilização desta espécie em testes em laboratório e condições ambientais. Assim, o controle biológico realizado com fungos nematófagos é uma alternativa promissora que tem por finalidade o sinergismo com o controle químico (BRAGA et al., 2008), entretanto, desconhece-se a compatibilidade de fármacos antiparasitários que possam vir a ser utilizados concomitantemente com esses fungos nos animais (VIEIRA, 2012).

2. METODOLOGIA

No presente estudo foram utilizados 21 animais, espécie *Ovis domesticus*, os quais foram divididos em três grupos: Ivermectina (IV), Closantel (CL) e Controle (CO), com sete animais em cada grupo. Os animais ficaram em piquetes durante o dia e estabulados à noite. Receberam como alimentação, pastagem nativa, ração e água *ad libitum*.

Para a produção dos fungos administrados aos ovinos, foi utilizado o milho como cereal substrato. Foram adicionados 150 gramas de substrato úmido na proporção 107g/43mL de água destilada estéril, em garrafas de Roux, sendo, posteriormente, autoclavadas a 121°C durante 15 minutos.

Os fungos foram transferidos para as garrafas, e levados à estufa, na temperatura de 25°C com ausência de luz, por 21 dias. Posteriormente, o material foi retirado das garrafas, homogeneizado, em caixas plásticas para secagem em estufa a 25°C, para posterior contagem dos clamidósporos produzidos pelo fungo.

Após secagem, foi retirada amostragens de 10 gramas e foi realizada uma maceração do produto em gral e pistilo e acrescentado 100 mL de água destilada. A suspensão foi filtrada em uma peneira com malha de 100 micras de abertura. Então, retirou-se uma alíquota da amostra para contagem na câmara de Neubauer e obter-se o número de clamidósporos/mL (SANTOS et al., 2001).

Todos os animais receberam o substrato com o fungo diariamente a partir do dia zero do experimento, e este teve duração de uma semana. Cada animal recebeu o propágulo de 500 mil clamidósporos/kg de peso distribuídos no milho.

No dia 1 foram coletadas fezes para confirmação da presença dos fungos nas fezes dos animais de todos os grupos, e, logo após a confirmação, foi administrado o fármaco correspondente para os grupos Ivermectina (IV) e Closantel (CL). A dosagem e administração dos fármacos foram realizadas de acordo com o indicado pelo fabricante através do cálculo com o peso de cada animal. A partir do dia 2 foram realizadas coletas de fezes, através da ampola retal dos ovinos, para verificação e contagem do fungo presente nas fezes.

A contagem dos clamidósporos nas fezes foi realizada em câmara de Neubauer. No dia 1 para confirmar a presença ou ausência destes nas fezes dos animais após administração do substrato. As coletas dos dias 2, 4, 5 e 6, objetivaram observar a sobrevivência desses clamidósporos após a administração dos fármacos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A média da contagem de clamidósporos nas fezes realizada no dia 1, foi de 402.500 clamidósporos/g. A contagem de clamidósporos nas fezes nos dias 1, 2, 4, 5 e 6 estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1: Contagem de clamidósporos/g nas fezes dos 21 animais tratados com *D. flagrans* por sete dias consecutivos, de acordo com o respectivo grupo

Grupo	Animal	Clamidósporos/g				
		Dia 1	Dia 2	Dia 4	Dia 5	Dia 6
CO	1	250.000	0	0	250.000	250.000
	2	250.000	0	0	250.000	0
	3	250.000	250.000	0	0	250.000
	4	750.000	0	250.000	250.000	0
	5	250.000	250.000	0	0	0
	6	1.000.000	0	500.000	0	0
	7	500.000	250.000	0	0	250.000
I	1	250.000	0	0	250.000	250.000
	2	500.000	0	250.000	0	0
	3	250.000	0	0	250.000	250.000
	4	250.000	0	0	500.000	0

	5	250.000	0	0	500.000	250.000
	6	500.000	1.000.000	0	0	0
	7	750.000	250.000	500.000	0	250.000
	1	250.000	0	0	0	0
	2	750.000	0	500.000	250.000	0
	3	750.000	0	0	500.000	0
CL	4	500.000	0	0	0	0
	5	250.000	0	0	0	0
	6	250.000	0	0	250.000	250.000
	7	250.000	0	0	0	250.000

CO – grupo controle; IV – grupo Ivermectina; CL- grupo Closantel

Pode-se observar ao comparar o grupo Controle com o grupo IV, que não houve diferença significativa na redução da eliminação dos clamidósporos após a administração da Ivermectina. Entretanto, no primeiro dia após a administração do Closantel houve total redução dos clamidósporos eliminados nas fezes.

No dia 3, o grupo CL recomeça a eliminar os clamidósporos nas fezes, enquanto o grupo IV permanece sem diferir significativamente do grupo CO. O tempo de absorção e forma de distribuição dos fármacos podem influenciar na diminuição da eliminação dos clamidósporos. Houve redução de *D. flagrans*, no grupo Closantel, entretanto, a eliminação após administração foi contínua.

Singh et al. (2010), em testes *in vivo*, analisaram a interação dos fármacos albendazol e tiabendazol onde demonstraram que a disponibilidade desses anti-helmínticos, após administração oral em cabras alimentadas com culturas de grãos de painço contendo os fungos *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamydosporium*, impactou negativamente sobre a viabilidade dos fungos nas fezes desses animais, após a passagem pelo trato gastrointestinal, sendo que *P. lilacinus* não foi capaz de ser reisolado. Em contraste, *V. chlamydosporium* foi capaz de ser reisolado nas fezes em todos os períodos de amostragem exceto em amostras colhidas em 8-18 horas e 18-24 horas após a administração de albendazol e tiabendazol respectivamente. Na presente pesquisa não se fez reisolamento do fungo a partir das fezes mas contagem de clamidósporo, que não foi realizada no trabalho citado.

Outro estudo realizado por Sanyal et al. (2004), com ensaios *in vivo* em ovelhas e búfalos, alimentadas com clamidporos de *D. flagrans* e posterior administração do anti-helmíntico albendazol, demonstraram recuperação escassa do fungo a partir de cultura fecal 48h após uma dose única de albendazol, tanto em ovelhas como em búfalos. No entanto, a recuperação profusa do fungo foi feita a partir de 96h em diante pós dosagem, semelhante ao que ocorreu no presente estudo com o fármaco closantel. Com isso, as implicações para a utilização de uma combinação de anti-helmínticos e controle biológico em programas de controle de parasitas sustentáveis são discutidas.

4. CONCLUSÕES

Concluiu-se, nestas condições experimentais, que o fármaco Closantel teve maior atuação na inibição do *D. flagrans* que a Ivermectina, comparados a um grupo controle, quando administrados concomitantemente, porém a inibição foi temporária. Desta forma, os resultados ora apresentados, permitem antever que o conhecimento da compatibilidade dos produtos químicos sobre o desenvolvimento

dos fungos, é essencial para os programas de controle integrado de parasitoses em animais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, J. V.; MOTA, M. A.; CAMPOS, A. K. Controle Biológico de helmintos parasitos de animais por fungos nematófagos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, supl. 1, p. 165-170, 2004.

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; CARVALHO, R. O.; SILVA, A. R.; ARAUJO, J. M.; TAVELA, A. O. Observação *in vitro* da ação dos fungos nematófagos *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Pochonia chlamydosporia* sobre ovos de *Eurytrema coelomaticum*. **Parasitologia Latinoamericana**, v. 63, n. 1-2-3-4, p. 40 - 45, 2008.

GRAMINHA, E.B.N.; MAIA, A.S.; SANTOS, J.M.; CÂNDIDO, R.C.; SILVA, G.S.; COSTA, A.J. Avaliação *in vitro* da patogenicidade de fungos predadores de nematóides parasitos de animais domésticos. **Semina: Ci Agrárias** 22, 11-16, 2001.

HORN, S.C.; ARTECHE, C.C.P. Situação parasitária da pecuária no Brasil. **Hora Vet.**, Porto Alegre v.4, n. 23, p.12-32, 1985.

JOBIM, M. B.; SANTURIO, J. M.; RUE, M. L. *Duddingtonia flagrans*: controle biológico de nematodeos de bovinos a campo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.8, p.2256-2263, nov, 2008.

PEREIRA, R. H. M. A.; AHID, S. M. M.; BEZERRA, A. C. D. S.; SOARES, H. S.; FONSECA, Z. A. A. S. Diagnóstico da resistência dos nematóides gastrintestinais a anti-helmínticos em rebanhos caprino e ovino do RN. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.2, n.1, p.16-19, 2008.

SANTOS, C. P. Sistemas de produção integrados por ovinos, bovinos ou equinos, e o controle parasitário. in: VERÍSSIMO, C. J. **Alternativas de controle da verminose em pequenos ruminantes**. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 2008.

SANYAL, P. K.; CHAUHAN, J. B.; MUKHOPADHYAYA, P. N.; Implications of Fungicidal Effects of Benzimidazole Compounds on *Duddingtonia flagrans* in Integrated Nematode Parasite Management in Livestock. **Veterinary Research Communications**. v.28, p. 375-385, 2004.

SINGH, R. K; SANYAL, P. K.; PATEL, N. K.; SARKAR, A. K.; SANTRA, A. K.; PAL, S.; MANDAL, S. C. Fungus-benzimidazole interactions: a prerequisite to deploying egg-parasitic fungi *Paecilomyces lilacinus* and *Verticillium chlamydosporium* as biocontrol agents against fascioliasis and amphistomiasis in ruminant livestock. **Journal of Helminthology**, v.84, p.123–131, 2010.

VIEIRA, Juliana. **Suscetibilidade de fungos nematófagos a fármacos antiparasitários**. 2012. 59f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) – Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul.