

SUSCETIBILIDADE DE FUNGO NEMATÓFAGO FRENTE À IVERMECTINA

FERREIRA, de Ferreira¹.; FREITAS, Machado²; FURTADO, Mendes³.; VIEIRA, Seixas⁴.; LENZ, ⁵.; VIEIRA, N.⁶.; NASCENTE, da S.⁷

¹Graduanda do curso de Medicina Veterinária(UFPel) Bolsista CNPq do Laboratório de Micologia e-mail: graci.f.ferreira@bol.com.br;² Graduanda do curso de Medicina Veterinária (UFPel);³ Mestranda do programa de Pós Graduação de Ciências Veterinárias-UFRGS;⁴ Graduanda do curso de Biologia(UFPel) Bolsista PROBIC/FAPERGS;⁵ Graduando do curso de Biotecnologia (UFPel);⁶ Doutorando do Programa de Pós- Graduação de Parasitologia IB/UFPel; ⁷ Prof^a. de Microbiologia, IB (UFPel).

Resumo

O desenvolvimento rápido de resistência a anti-helmínticos tem demonstrado a limitada eficiência desse método para a supressão das endoparasitoses em ruminantes, e incentivado pesquisas com métodos alternativos de controle parasitário. A utilização de compostos químicos no tratamento anti-helmíntico de animais, em associação com fungos nematófagos usados no controle biológico, é uma estratégia que vem se mostrando eficaz para a redução da densidade populacional de nematódeos nos animais de produção. Este trabalho teve por objetivo verificar através da Concentração Inibitória Mínima (CIM), a suscetibilidade *in vitro* da *Duddingtonia flagrans* frente a ivermectina. As CIMs variaram de 4 a 0,031 µg/mL para albendazol, tiabendazol e ivermectina, de 0,937 a 0,117 µg/mL para o levamisol e de 0,625 a 0,039 µg/mL para o closantel, dependendo do fungo testado. Os resultados mostram que todos os fármacos antiparasitários testados, tiveram efeito inibitório *in vitro* sobre os fungos nematófagos, podendo comprometer suas ações como bioagentes de controle biológico.

Palavra- chave: controle biológico, ectoparasitas, *D. flagrans*.

Abstract

The rapid development of anthelmintic resistance has shown the ineffectiveness of this method for the control of endoparasites in ruminants, and encouraged research on alternative methods of control. The use of chemicals in the treatment of animals, in combination with the nematophagous fungi used in biological control, it is a strategy which has proven effective in reducing the population of nematodes in livestock. This study aimed to verify through the minimum inhibitory concentration (MIC), the *in vitro* susceptibility of *Duddingtonia flagrans* forward to ivermectin. The MIC of 4 to 0.031 g / ml for albendazole, thiabendazole and ivermectin, 0.937 to 0.117 g / ml to levamisole and 0.625 to 0.039 g / ml to closantel, depending on the tested fungi. The results show that all anti-parasitic drugs tested had an inhibitory effect *in vitro* of nematophagous fungi, which could endanger their biological agents such as biological control measures.

Keyword: biological control, ectoparasites, *D. flagrans*

Introdução

O parasitismo gastrointestinal por nematódeos é um significativo fator limitante nos sistemas de produção de animais criados a campo (JOBIM et al., 2008). As infecções têm importância econômica mundial na criação de animais domésticos, em função de limitar a produção de leite, reduzir o ganho de peso, além de comprometer o desempenho reprodutivo e o sistema imunológico (SOUSA et al., 2008).

Com o intuito de desenvolver outros métodos para minimizar o uso de fármacos antiparasitários nas estratégias de controle dos nematódeos de ruminantes, especialmente em sistemas de produção em pastoreio contínuo, o controle biológico mediante utilização de fungos nematófagos parece ser uma realidade, oferecendo uma alternativa eficiente e segura na redução da população de ovos e larvas infectantes de nematódeos gastrointestinais naspastagens (ARAÚJO et al., 2007). Dentre os fármacos químicos, a ivermectina é um antiparasitário de amplo espectro, derivado das avermectinas que apresenta atividade sobre os estágios adultos e imaturos, em desenvolvimento e inibido de nematódeos gastrointestinais e pulmonares de ruminantes assim como em ectoparasitos. Entretanto, se desconhece se o uso de controle biológico para endoparasitos pode ser influenciado por um fármaco utilizado como ectoparasito, que possam vir a ser utilizados concomitantemente e indiscriminadamente nos mesmos animais.

Com esse intuito, o presente trabalho tem como objetivo verificar a atividade *in vitro* do fármaco ivermectina, preconizado para o tratamento anti-helmíntico e de ectoparasitos de ruminantes, sobre a viabilidade de fungos utilizados no controle biológico de endoparasitos.

Material e Metodos

O fármaco testado foi adquirido através de seu fabricante na formulação de uso comercial e o fungo, *Duddingtonia flagrans* foi obtido através do CENARGEN (Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia) – EMBRAPA (Distrito Federal). Para ativação do fungo nematófago as amostras de *Duddingtonia flagrans* foram semeadas em Ágar PDA (Potato Dextrose Ágar) crescido de ágar levedura e incubadas a 25°C por 48 horas com posterior visualização das estruturas para confirmação da espécie.

Para o teste de suscetibilidade do fungo *D. flagrans* frente à ivermectina se utilizou a técnica de Microdiluição em



Caldo (MC), de acordo com o documento de referência M38-A (CLSI, 2008) adaptado para a realização de testes com fármacos antiparasitários e fungos nematófagos. A partir da solução-estoque de cada fármaco foram preparadas dez diluições sucessivas (1:2). O antiparasitário foi diluído em caldo RPMI-1640, em concentrações que variaram de 4 a 0,0078µg/mL de ivermectina. Alíquotas de 100µL de cada concentração dos antiparasitários foram dispensadas nos poços correspondentes. A cada poço foi adicionado 100µL da solução do inóculo, preparada a partir da suspensão conidial do fungo em salina estéril, e ajustada para transmitância de 68 a 70% ($0,4 \times 10^4$ a 5×10^4 UFC/mL) (CLSI, 2008). O controle negativo constituiu-se de 200µL do caldo RPMI-1640 e o controle positivo de 100µL do caldo RPMI-1640 e 100µL do inóculo. As placas foram incubadas a 32°C em estufa por até 72 horas e após este período foi realizada leitura da Concentração Inibitória Mínima (CIM).

Resultados e Discussão

No presente estudo visando esta compatibilidade, a concentração inibitória mínima (CIM) para a ivermectina foi de 0,5µg/mL para as duas cepas de *D. flagrans*. Assim, os resultados obtidos evidenciaram que os fungos testados podem ser inibidos pelo fármaco avaliado. A técnica adaptada aos fármacos antiparasitários se mostrou de fácil execução, rápida, reprodutível e segura, podendo ser utilizada como rotina em testes de compatibilidade aos anti-helmínticos.

A espécie *Duddingtonia flagrans*, considerada a mais promissora devido à abundância de clamidósporos, é a mais estudada no controle das helmintoses dos ruminantes (BRAGA et al., 2009). Possui ação predatória, formando um tipo de armadilha que se caracteriza por um sistema de hifas adesivas simples. (BRAGA et al., 2008).

No presente estudo, a partir da metodologia empregada, conclui-se que o fármaco testado apresentou efeito inibitório frente aos exemplares de *D. flagrans* utilizados em controle biológico. 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.

Referências

- ARAUJO, J. V.; RODRIGUES, M. L. A.; SILVA, W. W.; VIEIRA, L. S. Controle biológico de nematóides gastrintestinais de caprinos em clima semi-árido pelo fungo *Monacrosporium thaumasium*. *Pesq. agropec. bras.*, v. 42, n. 8, p. 1177-1181, 2007.
- BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; ARAUJO, J. M.; SILVA, A. R.; CARVALHO, R. O.; CAMPOS, A. K.; Avaliação in vitro do fungo predador de nematóides *Duddingtonia flagrans* sobre larvas infectantes de ciatostomíneos de equinos (Nematoda: Cyathostominae). *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* v. 18, supl. 1, p. 83-85, 2009.
- CARVALHO, L. M. M.; GILLESPIE, A. T.; SERRA, P. M.; BERNARDO, F. A.; FARRIM, A. P.; FAZENDEIRO, I. M. Efficacy of the nematofagous fungi *Duddingtonia flagrans* in the biological control of horse strongylosis in the Ribatejo. *RPCV*, v. 102, n. 563-564, p. 233-247, 2007.
- GRØNVOLD, J.; HENRIKSEN, S. A.; LARSEN, M.; NANSEN, P.; WOLSTRUP, J. Aspects of biological control with special reference to arthropods, protozoans and helminths of domesticated animals. *Vet. Parasitol.*, v. 64, p. 47-64, 1996.
- JOBIM, M.B.; SANTURIO, J.M.; RUE, M.L. *Duddingtonia flagrans*: controle biológico de nematóides de bovinos a campo. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.38, n.8, p.2256-2263, nov, 2008.
- LARSEN, M.; WOLSTRUP, J.; HENRIKSEN, S.A. In vivo passage through calves of nematophagous fungi selected for biocontrol of parasitic nematodes. *J. Helminthol.* v.66, p.137-141, 1992.
- MOLENTO, M. B. Guia FAMACHA para diagnóstico clínico de parasitoses em pequenos ruminantes. *Arquivo de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, Umuarama, p.175-178, 2000.
- SOUSA, A. P.; RAMOS C. I.; BELLATO, V.; SARTOR, A.P.; SCHELBAUER, C.A. Resistência de helmintos gastrintestinais de bovinos a anti-helmínticos no Planalto Catarinense. *Ciência Rural*, v. 38. n. 5, p. 1363-1367, 2008.