

FERNANDA MARA FERNANDES

**CONTROLE BIOLÓGICO DE NEMATOIDES GASTRINTESTINAIS DE
BOVINOS POR MEIO DA ASSOCIAÇÃO DE FUNGOS
HELMINTÓFAGOS E PESQUISA DE PARASITOSES INTESTINAIS
EM HUMANOS NA ZONA DA MATA DE MINAS GERAIS**

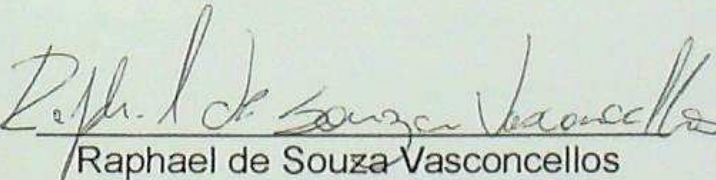
Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

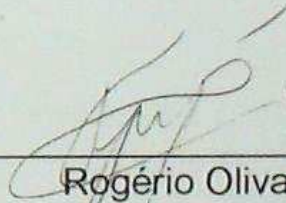
**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2015**


CONTROLE BIOLÓGICO DE NEMATOIDES GASTRINTESTINAIS DE BOVINOS POR MEIO DA ASSOCIAÇÃO DE FUNGOS HELMINTÓFAGOS E PESQUISA DE PARASITOSSES INTESTINAIS EM HUMANOS NA ZONA DA MATA DE MINAS GERAIS

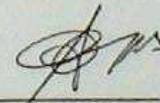
Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

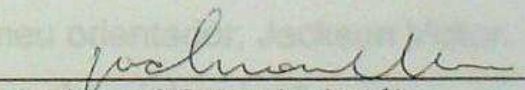
APROVADA: 10 de setembro de 2015.


Raphael de Souza Vasconcellos


Rogério Oliva Carvalho


Leandro Abreu da Fonseca


Artur Kanadani Campos


Jackson Victor de Araújo
(Orientador)

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

F363c
2015

Fernandes, Fernanda Mara, 1981-

Controle biológico de nematoides gastrintestinais de bovinos por meio da associação de fungos helmintófagos e pesquisa de parasitoses intestinais em humanos na Zona da Mata Minas Gerais / Fernanda Mara Fernandes. – Viçosa, MG, 2015. xii, 48f : il. ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Jackson Victor de Araújo.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Helminologia veterinária. 2. Fungos nematófagos. 3. Controle biológico. 4. Doenças parasitárias. 5. Intestinos - Parasito. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Veterinária. Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária. II. Título.

CDD 22. ed. 636.0896962

A Deus.

Aos meus pais, Waldemar e Marlene.

Ao meu marido, companheiro e amigo.

Ao meu orientador, Jackson Victor.

Às minhas irmãs.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ser parte de minha vida e por mais essa grande conquista.

Aos meus pais, Waldemar e Marlene, fonte de amor, que sempre me apoiaram.

Às minhas irmãs, Valéria, Greiciane, Paula e Ana Carolina, pelo carinho e força.

Ao Professor Jackson, pela orientação, oportunidade que me ofereceu.

Ao Professor Arthur, sempre muito atencioso e disposta a ajudar.

Aos colegas de laboratório Fábio Braga, Wendee, Thais, Lorendane, Juliana Milani, Rafaela Assis, Ingrid, João Victor, estagiários e aos funcionários do Laboratório de Parasitologia, em especial ao José Geraldo (Tuim), Samuel pela enorme ajuda prestada durante toda execução do trabalho, Ademir, pela ajuda nos experimentos.

Às secretárias Rosi e Elizabeth (Beth), por sempre estarem disponíveis a ajudar.

Ao meu esposo Murillo que sempre me incentivou e me deu força para continuar, sem você não teria conseguido.

Aos membros da banca examinadora, pelas correções e sugestões na elaboração final deste trabalho.

Ao CNPq, CAPES e Fapemig pelo apoio financeiro.

BIOGRAFIA

FERNANDA MARA FERNANDES, filha de Waldemar Antônio Fernandes e Marlene do Carmo Bastos Fernandes, nasceu dia 21 de maio de 1981 em Cataguases – Minas Gerais.

Em 2005, graduou-se em Farmácia pela Faculdade Severino Sombra – RJ, em 2006, graduou-se em Farmácia - Bioquímica pela Universidade Federal de Juiz de Fora – MG. Em 2011 tornou-se Mestre em Medicina Veterinária na Universidade Federal de Viçosa-MG.

Em janeiro de 2012 iniciou o curso de Doutorado em Medicina Veterinária pelo Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa-MG, submetendo-se a defesa em setembro de 2015.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----|
| LISTA DE FIGURAS | vii |
| RESUMO | ix |
| ABSTRACT | xi |
| 1. INTRODUÇÃO GERAL | 01 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 02 |
| 2.1. Situação da bovinocultura | 02 |
| 2.2. Parasitoses gastrintestinais de bovinos..... | 03 |
| 2.3. Controle biológico..... | 03 |
| 2.4. Fungos nematófagos..... | 04 |
| 2.4.1. <i>Duddingtonia flagrans</i> | 05 |
| 2.4.2. <i>Pochonia chlamydosporia</i> | 06 |
| 2.4.3. <i>Arthrobotrys robusta</i> | 07 |
| 2.5. Parasitoses intestinais em seres humanos..... | 08 |
| 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 10 |
| 4. OBJETIVOS | 16 |
| CAPITULO 1. CONTROLE DE NEMATÓIDES PARASITAS GASTRINTESTINAIS DE BOVINOS PELA ASSOCIAÇÃO DE FUNGOS LARVICIDAS E OVICIDAS. | |
| Resumo..... | 18 |
| 1. Introdução..... | 19 |
| 2. Material e métodos..... | 20 |
| 2.1 Organismos e confecção dos péletes..... | 20 |

| | |
|---|----|
| 2.2 Ensaio experimental <i>in vitro</i> | 20 |
| 2.3 Ensaio experimental <i>in vivo</i> | 21 |
| 2.4 Colheita e processamento do material fecal..... | 21 |
| 2.5 Amostras de pastagem..... | 22 |
| 2.6 Dados climáticos..... | 22 |
| 2.7 Análise estatística..... | 22 |
| 3. Resultados..... | 23 |
| 4. Discussão..... | 24 |
| 5. Conclusão..... | 25 |
| Agradecimentos..... | 26 |
| 6. Referências Bibliográficas..... | 27 |
| 7. Anexos..... | 31 |

CAPÍTULO 2. PARASIToses INTESTINAIS EM HUMANOS NA ZONA DA MATA DE MINAS GERAIS.

| | |
|--|-----------|
| Resumo..... | 36 |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 37 |
| 2. METODOLOGIA..... | 38 |
| 2.1 Amostras parasitológica..... | 38 |
| 2.2 Critérios de inclusão..... | 38 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 38 |
| 4.REFERÊNCIAS..... | 43 |
| 5. Anexo..... | 46 |
| CONCLUSÕES..... | 47 |
| Parecer de aprovação do CEUA (Comitê de Ética)..... | 48 |

LISTA DE FIGURAS

Introdução geral

Fig. 1. Larva infectante capturada pelo fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* (Fonte: Silva et al., 2013).....6

Fig. 2. A – Hifas de *Pochonia chlamydosporia* (seta branca) colonizando o ovo de *Enterobius vermicularis* (seta preta); B – Destruição do ovo do nematoide pelo fungo aos 10 dias de interação (Microscopia óptica com aumento de 40x). (Fonte: Braga et al., 2009b).....6

Fig. 3: 1A/B – larvas infectantes (L3) de *Strongyloides venezuelensis* (seta branca) e armadilhas de fungos nematófagos (seta preta) aos sete dias (Fonte: Braga et al., 2011b).....7

Capítulo 1

Fig. 1: Médias mensais das contagens dos ovos por gramas de fezes (OPG) dos animais do grupo tratado com os fungos *Duddingtonia flagrans* (isolado AC001), *Pochonia chlamydosporia* (isolado VC1) e *Arthrobotrys robusta* (isolado I31) e dos animais do grupo controle, coletados no período de novembro de 2013 a maio de 2014 no sudeste do Brasil.....31

Fig. 2: Percentual (%) de redução das contagens de ovos por grama de fezes (OPG) dos animais grupo tratado com a associação fúngica de *Duddingtonia flagrans* (isolado AC001), *Pochonia chlamydosporia* (isolado VC1) e *Arthrobotrys robusta* (isolado I31) comparando com os animais do grupo controle no período de novembro de 2013 a maio de 2014 no sudeste do Brasil.....31

Fig. 3 A e B: Média mensal de larvas infectantes de nematóides parasitos gastrintestinais (*Haemonchus* sp., *Cooperia* sp. e *Oesophagostomum* sp.) recuperadas de coproculturas dos animais do grupo tratado com associação dos fungos *Duddingtonia flagrans* (isolado AC001), *Arthrobotrys robusta* (isolado I31) e *Pochonia chlamydosporia* (isolado VC1) (A) e do grupo controle (pellet sem fungo) (B) coletadas no período de novembro de 2013 à maio de 2014 no sudeste do Brasil.....32

Fig. 4 A e B: Média mensal do número de larvas infectantes (L3) de nematóides por Kg de matéria seca de pastagem coletados dos pastos dos animais dos grupos tratados com a associação fúngica *Duddingtonia flagrans* (isolado AC001), *Pochonia chlamydosporia* (isolado VC1) e *Arthrobotrys robusta* (isolado I31) e dos animais do grupo controle, nas distâncias de 0 a 20 cm (A) e de 20 a 40 cm do bolo fecal (B) avaliados no período de novembro de 2013 a maio de 2014 no sudeste do Brasil.....33

Fig. 5: Médias das temperaturas máximas (T Max °C) e mínimas (T Min °C) mensais e precipitações pluviais registradas nos meses de novembro de 2013 à maio de 2014, Viçosa no estado de MG, no sudeste do Brasil.....34

Capítulo 2

Quadro 1: Prevalência das parasitoses de 1832 pacientes atendidos em um Hospital da Zona da Mata de Minas Gerais, entre os meses de maio de 2007 à fevereiro de 2015.....39

RESUMO

FERNANDES, Fernanda Mara, D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2015. **CONTROLE BIOLÓGICO DE NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS DE BOVINOS POR MEIO DA ASSOCIAÇÃO DE FUNGOS HELMINTÓFAGOS E PESQUISA DE PARASITÓSES INTESTINAIS EM HUMANOS NA ZONA DA MATA DE MINAS GERAIS.** Orientador: Jackson Victor de Araújo. Coorientador: Fábio Ribeiro Braga.

O Brasil possui o segundo maior rebanho efetivo do mundo, com cerca de 200 milhões de cabeças. Porém, as helmintoses gastrintestinais de ruminantes são fatores de grande impacto na bovinocultura. O controle biológico utilizando fungos nematófagos surge como uma alternativa promissora no combate das helmintoses. Três isolados dos fungos nematófagos, *Duddingtonia flagrans* (AC001) *Pochonia chlamydosporia* (VC4) e *Arthrobotrys robusta* (I31) foram avaliados em condições laboratoriais quanto a capacidade de predação de larvas infectantes. Péletes foram confeccionados contendo os 3 isolados e separados em 2 grupos composto por 15 placas de Petri contendo AA2%. Foram adicionados 75 péletes, distribuídos sobre as placas e incubadas à 25° C. Cerca de 3000 larvas de *Haemonchus* sp, *Cooperia* sp. e *Oesophagostomum* sp. foram gotejadas sobre as placas, mantidas em estufa à 25° C e observadas diariamente, por 5 dias. Como controle, também foram gotejadas aproximadamente 3000 larvas infectantes dos mesmos nematóides em placas sem fungo. As larvas livres de predação foram recuperadas a partir do método de Baermann. Observou-se um percentual de redução na recuperação das larvas de 94 % no grupo tratado em relação ao grupo controle ($p < 0,01$), mostrando serem eficientes. Em seguida os mesmos isolados foram avaliados à campo. Doze animais foram utilizados, sendo previamente vermifugados com anti-helmíntico para bovinos e pesados, em seguida foram separados em dois grupos. No primeiro grupo, cada animal foi tratado com aproximadamente 2 g de péletes para cada 10 kg de animal, contendo os mesmos fungos associados, administrados 2 vezes por semana conjuntamente com ração comercial. No grupo controle cada animal recebeu 2 g de péletes sem micélio adicionados a ração. Durante todo período experimental, os animais do grupo tratado mantiveram contagem de ovos por gramas de fezes significativamente menor ($p < 0,01$) em relação aos animais do

grupo controle, com uma redução de 91,8%. A redução do número de larvas infectantes recuperadas das pastagens foi de 27,5 % na distância de 0-20 cm e de 26,7 % na distância de 0-40 cm dos bolos fecais. A associação de fungos nematófagos fornecida em matriz de alginato de sódio foi eficaz no controle dos nematoides *Haemonchus* sp., *Cooperia* sp. e *Oesophagostomum* sp. por diminuir a reinfecção devido a ação antagônica dos fungos sobre larvas infectantes disponíveis nas pastagens. Infecções parasitárias acometem não só animais como também seres humanos, tendo elevada prevalência em países subdesenvolvidos. Elas são responsáveis por quadros clínicos variáveis podendo estar associadas à diarreia crônica e à desnutrição, o que pode comprometer o desenvolvimento de indivíduos de diferentes faixas etárias. Este trabalho também tem por objetivo avaliar a prevalência de parasitoses intestinais em pacientes atendidos em um Hospital localizado na Zona da Mata de Minas Gerais no período de maio de 2007 a fevereiro de 2015. Os exames de fezes foram realizados através da técnica de Hoffman, Pons e Janer (HPJ). A prevalência das parasitoses intestinais de um total de 1.832 amostras foi de 13,85%. Entre as mulheres, 8,40% estavam parasitadas e 5,45% nos homens. Houve associação do número de parasitoses intestinais quando comparados com fatores socioeconômicos, sendo que 68,3% dos indivíduos positivos para alguma parasitose possuía renda mensal menor que um salário mínimo. A alta prevalência de enteroparasitoses no Brasil deve-se entre outros fatores, o difícil acesso ao saneamento básico e a falta de programas de educação sanitária.

ABSTRACT

FERNANDES, Fernanda Mara, D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, september, 2015. **BIOLOGICAL CONTROL OF GASTROINTESTINAL NEMATODES CATTLE THROUGH FUNGI HELMINTÓFAGOS ASSOCIATION AND INTESTINAL PARASITES RESEARCH IN HUMANS IN GENERAL MINES KILL ZONE.** Adviser: Jackson Victor de Araújo. Co-adviser: Fábio Ribeiro Braga.

Brazil has the second most effective herd in the world, with around 200 million heads. Since 2004, the country took the lead in exports, sales over 180 countries. However, the gastrointestinal helminths of ruminants are major impact on cattle factors. Biological control using nematophagous fungi appears as a promising alternative to combat the gastrointestinal helminth infections from ruminants. Three strains of fungi nematophagous, *Duddingtonia flagrans* (AC001), *Pochonia chlamydosporia* (VC4) and *Arthrobotrys robust* (I31)) were evaluated under laboratory conditions as the ability to avoid infective. Pellets were prepared containing the 3 isolated, which were separated in 2 groups consisting of 15 Petri plates containing AA2%. 75 pellets were added, distributed on the plates, incubated at 25 °C. Approximately 3000 larvae of *Haemonchus* sp., *Cooperia* sp. and *Oesophagostomum* sp. were dripped onto the plates, kept in an oven at 25 °C and observed daily for 5 days. As a control technique, it was also dripped about 3000 infective larvae of nematodes in plates without fungus. The free predation larvae were recovered from the Baermann method. There was a reduction in the percentage recovery of the larvae of 94% in the treated group compared to the control group ($p < 0.01$), showing efficient. Then, the same isolates were evaluated in field. Twelve animals were used, previously vaccinated with anthelmintic, weighed and then separated into two groups. Each animal in the first group was treated with approximately 2 grams of pellet per 10 kg of body, containing the administered fungi associated twice a week, together with the commercial feed. Each animal in the control group received 2 grams of mycelium pellets without the fungi association added to feed. Throughout the test period, the animals of the treated group remained egg counts per gram of feces significantly lower ($p < 0.01$) compared to the control group animals, reduction of 91.8%. The reduction in the number of infective larvae recovered from pasture was 27.5% at a

distance of 0-20 cm and 26.7% at the distance of 0-40 cm from the stool bulk. The animals of the treated group with the combination of fungi had a weight gain of approximately 26.9% compared to the control group animals. The association nematophagous fungi provided by sodium alginate matrix was effective in controlling nematodes *Haemonchus* sp., *Cooperia* sp. and *Oesophagostomum* sp. by reducing reinfection due to its antagonistic action of fungi on infective larvae on pastures available. However, the parasitic infection affects not only animals but also human, with high prevalence in developing countries. They are responsible for different cases, being associated with chronic diarrhea and malnutrition, which can jeopardize the development of different age groups. This work also aims to evaluate the occurrence of intestinal parasites of patients treated in a hospital located in Minas Gerais, Zona da Mata region, in the period from May of 2007 to February of 2015. The stool tests were performed by technique Hoffman, Pons and Janer (HPJ). The prevalence of intestinal parasites was 13.85% of all samples (1832 in total). About gender, 8.40% women were parasitized, against to 5.45% of men. There was an association of the number of intestinal parasites compared to socioeconomic factors, where 68.3% of all infections were observed in population receiving less than the minimum salary. The high prevalence of enteroparasitosis in Brazil, among other, is due to the difficult access to basic sanitation and lack of health education programs.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil tem o maior rebanho bovino comercial do mundo, sendo de grande relevância socioeconômica. De acordo com a Food and Agriculture Organization (FAO, 2014), o continente americano é responsável por cerca de 36 % do rebanho bovino produzido no mundo. O Brasil e a Índia possuem os maiores rebanhos, sendo que o Brasil encontra-se em primeiro lugar na produção. Já os Estados Unidos e China ocupam o terceiro e quarto lugares respectivamente.

O sistema de produção brasileiro favorece a infecção frequente de animais com nematoides gastrointestinal, especialmente os mais jovens, pois apresentam maior suscetibilidade, o que representa um dos principais obstáculos para a produção de bovino (AMARANTE, 2009).

De acordo com Anualpec (2003) grande parte da criação ainda é feita em regime de pasto, levando a constantes infecções por parasitos presentes nas pastagens, causando grande impacto na produção de carne e leite e a altos custos nas medidas de controle, levando a perda econômica mundial estimada em milhões de dólares. As condições ambientais são fatores que influenciam diretamente nas condições na pastagem oferecendo condições favoráveis para que os estádios de vida livre dos helmintos gastrintestinais alcancem o estágio infectante. As nematodioses gastrintestinais têm sido entrave à produção desses animais, principalmente os destinados ao consumo, e tem sido referenciada como sério obstáculo para a criação, não somente no Brasil, mas, em todo o mundo (AMARANTE et al., 1996; ARAÚJO et al., 1998).

Estratégias de controle sugerem que as vermifugações sejam realizadas na maioria das vezes com anti-helmínticos. Porém, essas drogas não têm sido totalmente eficazes, uma vez que a resistência parasitária que tem sido observada (AMARANTE et al., 2004; ARAÚJO et al., 2007).

Dessa forma, medidas alternativas que possam ajudar nesse controle têm sido cada vez mais entendidas como importantes, e nesse sentido, uma delas é a utilização de fungos nematófagos ou helmintófagos que tem sido eficaz na descontaminação ambiental e com isso diminuindo as recidivas das infecções helmínticas (ARAÚJO et al., 2008; BRAGA et al., 2011a).

Os fungos nematófagos pertencentes ao grupo dos predadores têm sido utilizados com sucesso no controle de nematodioses de animais em condições

laboratoriais. A utilização de formulações contendo massa micelial desses fungos tem se mostrado como uma ferramenta interessante a ser empregada no controle estratégico das verminoses (SILVA et al., 2009; SILVA et al., 2010).

Existem trabalhos que demonstram a eficácia destes fungos sobre formas evolutivas de parasitas que acometem seres humanos. No trabalho de Araujo (2008) foi testado a ação dos fungos *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium*, *Pochonia chamydosporia* e *Paecilomyces lilacinus* sobre ovos de *Taenia saginata*. Já no trabalho desenvolvido por Braga et al., (2007) os autores testaram a ação de isolados fúngicos sobre ovos de *Ascaris lumbricoides*, os resultados do trabalho demonstraram principalmente a ação ovicida dos isolados fúngicos, os autores observaram que houve um aumento de forma crescente desta ação. Ainda de acordo com Braga et al., (2007) a importância de estudos como estes se dá pelo fato de que a transmissão de *Ascaris lumbricoides* ocorre principalmente através do ambiente contaminado e os fungos poderiam ser utilizados como ferramenta para a descontaminação ambiental por ovos de nematoides.

As parasitoses intestinais apresentam altos índices de prevalência em seres humanos, constituindo um sério problema de saúde pública em vários países, especialmente naqueles em processo de desenvolvimento. Grande parte dos casos acometem populações de níveis socioeconômicos mais baixos e com precárias condições sanitárias (MACEDO, 2005). A transmissão e a manutenção de uma doença na população humana são resultantes do processo interativo entre o agente, o meio ambiente e o hospedeiro humano (NEVES, 2005). De acordo com Melo et al. (2010) para que ocorra uma diminuição da prevalência das enteroparasitoses, seria necessário o governo não apenas disponibilizar o tratamento medicamentoso, mas que também tivesse um investimento em medidas profiláticas, através da conscientização da população para os bons hábitos de higiene e através da disponibilização de saneamento básico para as comunidades mais carentes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Situação da bovinocultura

A bovinocultura é um dos principais destaques do agronegócio brasileiro no cenário mundial. O rebanho bovino brasileiro proporciona o desenvolvimento de dois

segmentos lucrativos: as cadeias produtivas da carne e leite. O valor bruto da produção desses dois segmentos, estimado em R\$ 67 bilhões, aliado a presença da atividade em todos os estados brasileiros, evidenciam a importância econômica da bovinocultura em nosso país. O Brasil possui o segundo maior rebanho efetivo do mundo, com cerca de 200 milhões de cabeças. Desde 2004, o país assumiu a liderança nas exportações, com um quinto da carne comercializada internacionalmente e vendas em mais de 180 países. A expectativa é que a produção nacional de carne bovina suprirá 44,5% do mercado mundial, essa estimativa indica que o Brasil manterá posição de primeiro exportador mundial de carne bovina (MAPA, 2014).

As helmintoses gastrintestinais de ruminantes são fatores de grande impacto na bovinocultura. Os prejuízos causados por essas infecções envolvem queda da produção, retardo no crescimento do animal, custos com tratamentos e até a morte dos animais (MOTA et al., 2003).

2.2. Parasitoses gastrintestinais de bovinos

Dentre os parasitos gastrointestinais, no sudeste do Brasil, *Cooperia* e *Haemonchus*, são os nematoides mais prevalentes em bovinos, seguidos pelo gênero *Oesophagostomum*, que aparece em terceiro lugar (ARAÚJO et al., 1998).

Haemonchus placei é considerado um dos parasitos de maior ocorrência no Brasil, com altas taxas de morbidade. Trata-se de um parasito hematófago que produz lesões na mucosa do abomaso e pode causar perdas de sangue e plasma para a luz intestinal. Infecções maciças podem levar a hipoproteïnemia e anemia aguda em animais jovens, causando a morte (NISHI et al., 2002).

2.3. Controle biológico

Nas pesquisas de novas alternativas para o controle das helmintoses de bovinos, destacam-se o desenvolvimento de vacinas, manejo de pastagens, seleção de animais geneticamente resistentes e o controle biológico, onde antagonistas naturais atuam na redução de uma população de pragas que causam perdas econômicas significativas (ARAÚJO e RIBEIRO, 2003).

Dentre os mais variados antagonistas de nematóides, encontram-se organismos como fungos, bactérias, protozoários, vírus, entre outros. Sendo os fungos nematófagos aqueles que apresentam melhores desempenhos em pesquisa de controle biológico de helmintos (MACIEL et al., 2006), destacando-se dentre eles os fungos predadores dos gêneros *Arthrobotrys*, *Duddingtonia* e *Pochonia* (ARAÚJO et al., 2004a).

Desta forma, o controle biológico utilizando fungos nematófagos ou helmintófagos surge como uma alternativa promissora no combate as helmintoses gastrointestinais de ruminantes, sendo capaz de predação os estágios de vida livre dos nematoides, reduzindo assim a quantidade de larvas disponíveis no ambiente em que os animais se alimentam e conseqüentemente sua reinfecção (ARAÚJO et al., 2004a; BRAGA et al., 2011a).

O uso desses fungos não busca abolir a utilização de anti-helmínticos, mas, sim realizar o controle de maneira sinérgica (LARSEN, 1999). De acordo com Mendoza-de-Gives (1999) a maioria dos organismos estudados permanece como curiosidades e somente algumas espécies de fungos e bactérias demonstram ter um potencial para a utilização no controle biológico.

2.4 Fungos Nematófagos

Fungos nematófagos são cosmopolitas, ocorrendo em forma saprófita em solos naturais ou agricultáveis e em todo tipo de matéria orgânica em decomposição (SILVA et al., 2010). De acordo com Mota et al. (2003) a administração de fungos nematófagos aos animais domésticos é considerada uma proposta promissora, pois a utilização desses fungos tem apresentado como uma oportunidade de controle dos estágios de vida livre de nematoides, reduzindo assim as reinfestações. Estes fungos também são chamados de fungos destruidores de nematoides, são divididos em grupos e estão catalogados em mais de 150 espécies. Podem ser classificados em quatro grupos: endoparasitas, predadores, oportunistas (parasitos de ovos) e produtores de metabólitos tóxicos (BRAGA, 2008).

Os fungos predadores, constituem o maior grupo, caracterizando-se pela produção de um sistema de hifas que formam uma "rede" ou "armadilha", onde capturam as larvas vivas de nematoides parasitas com uma fase exógena de desenvolvimento na pastagem. Posteriormente, expansões destas "armadilhas" ou

"redes" penetram nas larvas, crescem e absorvem o conteúdo das larvas infectantes de diversos nematoides parasitas gastrintestinais dos animais domésticos (BIRD e HERD, 1994). Mesmo com grande número de espécies de fungos, grande parte dos estudos com fungos nematófagos tem se concentrado em espécies pertencentes ao grupo dos predadores (LARSEN, 2000).

Estes fungos são organismos amplamente estudados no controle biológico de nematoides parasitos de animais domésticos, na maioria sua ação é efetivamente na redução da população destes parasitos em condições laboratoriais como também nas pastagens (ASSIS e ARAÚJO, 2003). Controladores biológicos atuam sobre os hospedeiros intermediários, vetores e estágios larvais de vida livre diminuindo dessa forma a fonte de infecção aos hospedeiros finais, causando assim menos efeitos negativos no meio ambiente quando comparado aos métodos químicos (ARAÚJO et al., 2004b).

As espécies de fungos nematófagos *Duddingtonia flagrans*, *Arthrobotrys robusta* são identificadas como predadoras e têm sido estudadas como agentes controladores biológicos de nematoides potencialmente zoonóticos, entretanto, podem existir diferenças no mecanismo de ação desses fungos sobre os distintos gêneros de nematoides (BRAGA et al., 2009b). Já o *Pochonia chlamydosporia* trata-se de um fungo predador de ovos de nematóides que formam um aprisionamento através de suas hifas indiferenciadas que colonizam a parede dos ovos e penetram através de uma pressão física e mecânica além de atividade enzimática (LÓPEZ-LLORCA e ROBERTSON, 1992).

2.4.1 *Duddingtonia flagrans*

No grupo dos fungos predadores a espécie *Duddingtonia flagrans* é a mais estudada e que tem apresentado melhor resultado no controle biológico das helmintoses gastrintestinais de animais domésticos (BRAGA et al., 2013).

De acordo com Larsen et al., (1992) este fungo possui grande capacidade de produzir clamidósporos, que permanecem viáveis depois de ingeridos e eliminados pelas fezes dos animais, colonizando-as logo após a sua deposição no solo e predando os nematódeos por meio de hifas adesivas. Estas estruturas suportam condições adversas, desta forma estão sendo amplamente utilizados na alimentação

de bovinos, ovinos, caprinos, equinos e suínos, germinando no solo e formando armadilhas (SILVA et al., 2010).

O aprisionamento do nematódeo às redes tridimensionais é seguido pela penetração de suas hifas na cutícula do nematódeo, ocorrendo dentro da larva, a digestão dos conteúdos internos (MOTA et al., 2003). Estes fungos apresentam conídios com formato variando entre elíptico e ovóide, e septo de tamanho médio, que predam nematoides por meio de hifas adesivas (figura 1), produzem conídios com morfologia de 25-50 μm de largura (COOKE e GODFREI, 1964).

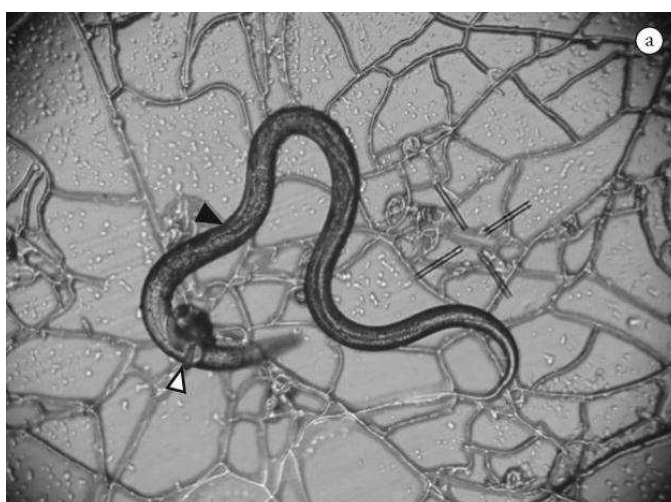


Figura 1: Larva infectante capturada pelo fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* (seta branca) armadilhas do isolado fúngico (seta preta) (Fonte: Silva et al., 2013).

2.4.2 *Pochonia chlamydosporia*

No grupo dos fungos ovicidas há um destaque para a espécie *Pochonia chlamydosporia* (figura 2) que produz enzimas extracelulares do tipo serino proteases que desenvolvem papel importante na infecção e na destruição de ovos de geohelmintos (BRAGA, 2008). De acordo com Esteves et al., (2009) diversos estudos demonstram que isolados deste fungo através destas enzimas ativam vários tipos de substratos, como polissacarídeos, proteínas e lipídios. Uma das vantagens deste fungo deve-se à produção de clamidósporos, que são estruturas de resistência e sobrevivência preferencialmente utilizadas como inóculo (KERRY e BOURNE, 2002).

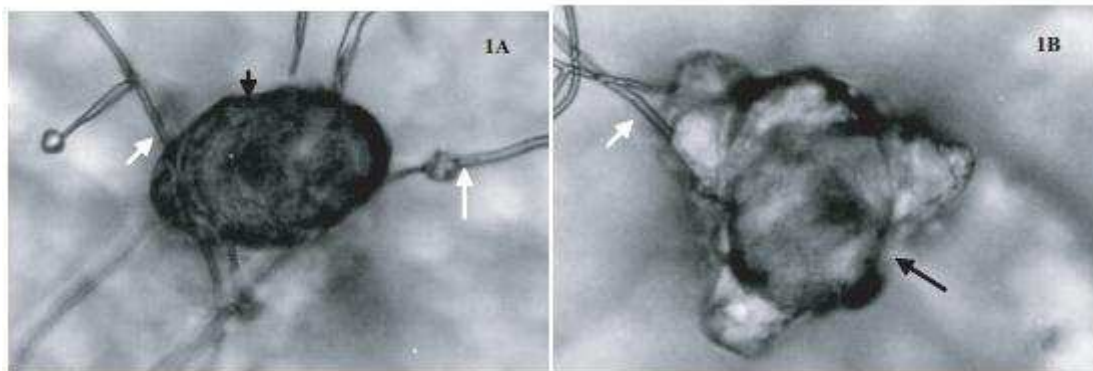


Figura 2: A – Hifas de *Pochonia chlamydosporia* (seta branca) colonizando o ovo de *Enterobius vermicularis* (seta preta); B – Destruição do ovo do nematoide pelo fungo aos 10 dias de interação (Microscopia óptica com aumento de 40x). (Fonte: Braga et al., 2009a).

2.4.3 *Arthrobotrys robusta*

A maioria dos gêneros de *Arthrobotrys* spp. produz armadilhas em forma de redes adesivas simples ou tridimensionais que promovem a adesão (figura 3), imobilização, penetração e conseqüentemente destruição das larvas (NORDBRINGHERTZ et al., 2006).

No Brasil estudos com bovinos à campo demonstraram que a administração oral de conídios deste fungo aplicado 2 vezes por semana durante 4 meses foi capaz de reduzir o OPG (ovos por gramas de fezes) e a quantidade de vermes (ARAÚJO et al., 1998).

De acordo com Van Oorschot (1985) a espécie possui conidióforo ereto, podendo se apresentar ramificado, com cerca de 300 μm de comprimento, com a extremidade do conidióforo aumentada de tamanho, normalmente carregando 6 conídios de formato ovóide, hialino, septado próximo a região mediana, com 18-27 μm de comprimento por 8-12 μm de largura. Produzem redes adesivas com capacidade de predação de nematoides.

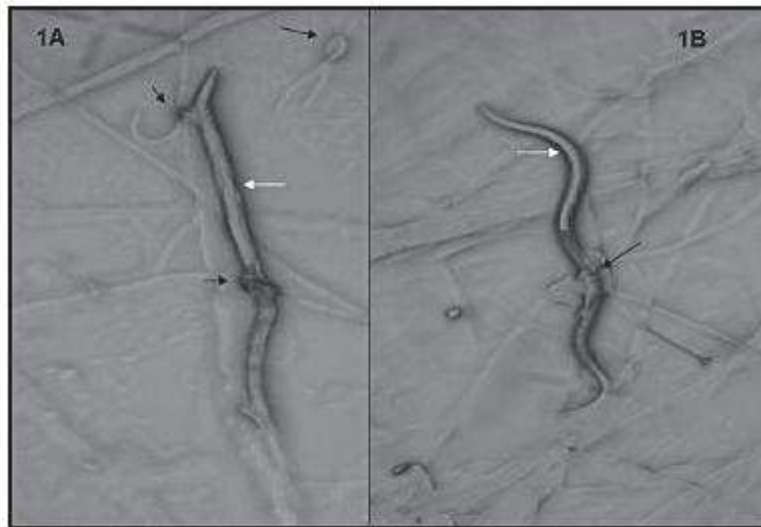


Figura 3: 1A/B – larvas infectantes (L3) de *Strongyloides venezuelensis* (seta branca) e armadilhas de fungos nematófagos (seta preta) aos sete dias (Fonte: Braga et al., 2011b).

2.5. Parasitoses intestinais em seres humanos

A parasitologia pode ser definida como uma ciência que atua no estudo dos organismos que vivem no interior ou exterior de um hospedeiro, que fornece alimento e abrigo, resultando em uma associação que poderá causar danos ao hospedeiro. Este estudo é de fundamental importância, uma vez que, esse tipo de infecção é muito frequente na população mundial (CIMERMAN & CIMERMAN, 2010).

Existem diferentes tipos de parasitoses, dentre estas há um destaque para as enteroparasitoses, conhecidas também como parasitoses intestinais, que são provocadas por parasitas que habitam normalmente o intestino do hospedeiro. Entre as principais enteroparasitoses que acometem o homem estão a: ascaridíase, enterobíase, esquistossomose, tricuriíase, necatoríase e ancilostomíase, amebíase e giardíase. Ambas possuindo peculiaridades que as caracterizam (ZAIDEN, 2006; ORO et al., 2010).

De acordo com Gonçalves et al. (2003), a contaminação humana por enteroparasitoses é uma ocorrência de milhares de anos. Pesquisas realizadas na América do Sul em estudos arqueológicos demonstraram a presença de Ancilostomídeos, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Enterobius vermicularis*,

Entamoeba sp., *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium parvum* dentre outros em múmias incaicas de mais de 500 anos.

As enteroparasitoses vêm apresentando altos índices de prevalência, constituindo um sério problema de saúde pública em vários países, especialmente naqueles em processo de desenvolvimento. Grande parte dos casos acometem a população de níveis sócio-econômicos mais baixos e com precárias condições sanitárias (MACEDO, 2005). A alta prevalência de enteroparistoses no Brasil se deve ao difícil acesso ao saneamento básico e à falta de programas de educação sanitária para a população mais carente, resultando em altos índices de morbidade e associando-se frequentemente a quadros de diarreia crônica e desnutrição, comprometendo o desenvolvimento físico e intelectual, particularmente de crianças em idade escolar, sendo estas as mais acometidas (MELO et al., 2010). Essas doenças apresentam uma baixa taxa de mortalidade, porém altos índices de morbidade, sendo consideradas endêmicas em países do terceiro mundo, se tornando deste modo um problema de Saúde Pública (FONSECA e SILVEIRA, 2009).

Helmintos e protozoários estão entre os patógenos mais frequentemente encontrados no Brasil, se tornando um agravo importante à saúde por ocasionarem severos danos ao indivíduo. Deve-se observar que, as enfermidades parasitárias, são indicadores do desenvolvimento socioeconômico de um país, visto que suas consequências vão além de problemas gastrointestinais tratados no campo da medicina (NEVES et al., 2005).

Mediante os diversos fatores, é possível observar que há um grande descaso pelas medidas profiláticas. Desta maneira, a prevenção, a qualidade e a manutenção da saúde da população devem ser vista com maior respaldo pelo governo brasileiro, pois se trata de uma endemia, conseqüentemente, não podendo ser desconsiderada (MARQUES et al., 2005).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARANTE, A.F.T.; PADOVANI, C.R.; BARBOSA, M.A. Contaminação de pastagens por larvas de nematoides gastrintestinais parasitos de bovinos e ovinos em Botucatu-SP. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.5, p. 65-73, 1996.

AMARANTE, A. F. T. Controle integrado de helmintos de bovinos e ovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, p.68-71, 2004.

AMARANTE, A.F.T. Nematoides gastrintestinais em ovinos. In: Cavalcante, A.C.; Vieira, L.S.; Chagas, A.C.S.; Molento, M.B. (eds). Doenças parasitárias de caprinos e ovinos epidemiologia e controle. Brasília. **Embrapa Informação Tecnológica**, p.17-62, 2009.

ANUALPEC: **Anuário estatístico da produção animal**. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, p.380, 2003.

ARAUJO, J.M. Ação in vitro dos fungos das espécies *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium*, *Pochonia chamydosporia* e *Paecilomyces lilacinus* sobre cápsulas ovígeras de *Dipylidium caninum* e ovos de *Taenia saginata* Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), 2008.

ARAÚJO, J. V.; GOMES, A.P.S.; GUIMARÃES, M.P. Biological control of bovine gastrointestinal nematodes parasites in southern Brazil by the nematode trapping fungus *Arthrobotrys robusta*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 7, p.117-122, 1998.

ARAÚJO, J.V.; RIBEIRO, R.R. Atividade predatória sobre larvas de tricostrongilídeos (nematoda: Trichostrongyloidea) de isolados fúngicos do gênero *Monacrosporium* após a passagem pelo trato gastrintestinal de bovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.12, p.76-81, 2003.

ARAÚJO, J.V.; ASSIS, R.C.L.; CAMPOS, A.K.; MOTA, M.A. Atividade *in vitro* dos fungos nematófagos dos gêneros *Arthrobotrys*, *Duddingtonia* e *Monacrosporium* sobre nematóides parasitos gastrintestinais de bovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, p. 65-71, 2004a.

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, suplemento 1, 2004b.

ARAÚJO, 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*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 1177-1181, 2007.

ARAÚJO, J V.; STEPHANO, M. A.; SAMPAIO, W. M. Effects of temperature, mineral salt and passage through the gastrointestinal tract of calves on sodium alginate formulation of *Arthrobotrys robusta* - a nematode-trapping fungus. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n. 1, p. 55-60, 2008.

ASSIS, R.C.L.; ARAÚJO, J.V. Avaliação da viabilidade de duas espécies de fungos predadores do gênero *Monacrosporium* sobre ciastostomíneos após a passagem pelo trato gastrintestinal de equinos em formulação de alginato de sódio. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.12, n.3, p.109-113,2003.

BIRD, J.; HERD, R.P. Nematophagous fungi for the control of equine cyathostomes. Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian. **The Compendium, Equine**, v.16, n.5, p. 658-665, 1994.

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; CAMPOS, A. K. CARVALHO, R. O.; SILVA, A. R.; TAVELA, A. O.; MACIEL, A. S. Observação *in vitro* da ação dos isolados fúngicos *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Verticillium chlamydosporium* sobre ovos de *Ascaris lumbricoides* (Lineu, 1758). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, vol.40, n 3, 2007.

BRAGA, F. R. Ação *in vitro* de fungos das espécies *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium sinense* e *Pochonia chlamydosporia* sobre ovos de *Fasciola hepatica* e *Schistosoma mansoni*. Viçosa: Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), 2008.

BRAGA, F. R.; SILVA, A. R.; ARAUJO, J. M.; FERREIRA, S. R.; ARAÚJO, J. V.; FRASSY, L. N. Ação ovicida do fungo *Pochonia chlamydosporia* sobre ovos de *Enterobius vermicularis*. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, p.318-321, 2009a.

BRAGA, F.R.; CARVALHO, R.O.; ARAUJO, J.M.; SILVA, A.R.; ARAÚJO, J.V.; LIMA, W.S.; et al. Predatory activity of the fungi *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium*, *Monacrosporium sinense* and *Arthrobotrys robusta* on *Angiostrongylus vasorum* first-stage larvae. **Journal of Helminthology**, v.83, p.303-308, 2009b.

BRAGA, F.R.; ARAÚJO, J. V.; SOARES, F. E. F.; ARAUJO, J. M.; GENIÊR, H.L.A ; SILVA, A.R. ; CARVALHO, R.O ; QUEIROZ, J.H ; FERREIRA, S.R. Optimizing protease production from an isolate of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* using response surface methodology and its larvicidal activity on horse cyathostomin. **Journal of Helminthology**, v. 85, p.164-170, 2011a.

BRAGA, F. R.; ARAUJO, J, M.; SILVA, A.R.; ARAÚJO, J. V.; CARVALHO, R. O.; TAVELA, A. O.; SILVA, M. E.; FERNANDES, F. M.; MELO, A. L. Destruição de larvas infectantes de *Strongyloides venezuelensis* pelos fungos *Duddingtonia flagrans*, *Arthrobotrys robusta* e *Monacrosporium sinense*. **Revista da Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, v.44 n.3, 2011b.

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; SOARES, F. E. F.; ARAUJO, J. M.; Ferreira, S. R.; TAVELA, A. O.; Silveira, W. F.; Queiroz, J. H. Proteolytic action of the crude extract *Duddingtonia flagrans* on Cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) in coprocultures. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, p. 143-146, 2013.

CIMERMAN, B.; CIMERMAN, S. **Parasitologia humana e seus fundamentos gerais**. 2º ed, São Paulo, Editora: Atheneu, 2010.

COOKE, R.C.; GODFREY, B.E.S. A key of nematode-destroying fungi. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 47, n.1, p.61-74, 1964.

ESTEVEZ, I., PETEIRA, B., ATKINS, S.D., MAGAN, N., KERRY, B. Production of extracellular enzymes by different isolates of *Pochonia chlamydosporia*. **Mycological Research**, v.113, p.867–876, 2009.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). Disponível em: <<http://www.fao.org/home/en/>>. Acesso em: 03 nov. 2014.

FONSECA, K. C. L. E.; SILVEIRA, L. V. P. C. Estudos das parasitoses gastrointestinais em crianças de 0 a 12 anos atendidas pelo laboratório central do município de Anápolis. **Anuário da Produção de Iniciação Científica Discente**. v.12, n.4, p.77-95, 2009.

GONÇALVES, M. L. C.; ARAÚJO, A.; FERREIRA, L.F. Human intestinal parasites in the past: new findings and a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v.98, p.103-118, 2003.

LARSEN, M. Biological control of helminthes. **Internacional Journal for Parasitology**, v.29, p.139-146, 1999.

KERRY, B.R.; BOURNE, J.M. A. Manual for research on *Verticillium chlamydosporium*, a potencial biological control agent for root-knot nematodes, 84p, 2002.

LARSEN, M. et al. *In vivo* passage through calves of nematophagous fungi selected for biocontrol of parasitic nematodes. **Journal of Helminthology**, v. 66, n.2, p.137-141, 1992.

LARSEN, M. Prospects for controlling animal parasitic nematodes by predacious microfungi. **Parasitology**, v. 120, n.1. p. 121-131, 2000.

LÓPEZ-LLORCA, L.V.Y ROBERTSON, W.N. Immunocytochemical localization of a 32-kDa protease from the nematophagous fungus *Verticillium suchlasporium* in infect nematode eggs. **Experimental Mycology**, v.16, p.261-267, 1992.

MACEDO, H. S. Prevalência de parasitos e comensais intestinais em crianças de escolas da rede pública municipal de Paracatu (MG). **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v.37, n.4, p.209-213, 2005.

MACIEL, A.S.; ARAÚJO, J.V.; CECON, P.R. Atividade predatória in vitro dos fungos *A. robusta*, *D. flagrans* e *M. thaumasium* sobre larvas infectantes de *Ancylostoma* spp. de cães. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, 2, p. 71-75, 2006.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento do Brasil. Disponível em: <www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 10 mar. 2014.

MARQUES, S. M. T.; BANDEIRA, C.; QUADROS, R.M. Prevalência de enteroparasitoses em Concórdia, Santa Catarina, Brasil. **Parasitologia Latinoamericana**. v. 60, p.78-81, 2005.

MENDOZA-de-GIVES, P. Interaction between nematodes and biocontrol agentes with potential for use in biomanagement systems. Nottingham: University of Nottingham (Doctor of Philosophy Thesis), 219p,1999.

MELO, E. M.; FERRAZ, F. N.; ALEIXO, D. L. Importância do estudo da prevalência de parasitos intestinais de crianças em idade escolar. **Revista Saúde e Biologia**, v.5, n.1, p.43-47, 2010.

MOTA, M.A; CAMPOS, A.K; ARAÚJO, J.V. Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 23, 3, p.93-100, 2003.

NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 11^a ed. São Paulo: Atheneu; 2005.

NISHI, S.M.; RICHTIZENHAIN, L.J.; GENNARI, S.M. Níveis de IgG séricos em bezerros experimentalmente infectados pelo *Haemonchus placei*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n.2, p.107-110, 2002.

NORDBRING-HERTZ, B.; JANSSON, H. B.; TUNLID, A. Nematophagous Fungi. En: Encyclopedia of Life Science(c). Weinheim: Macmillan Publishers Ltd. **Nature Publishing**, p. 1-11. 2006.

ORO, D.; JOPROSKI, G.K.; ORO, N.A.; SBARDELOTTO, C.; SEGER, J. Prevalência de parasitas intestinais em crianças de Descanso – Santa Catarina – Brasil. **Unoesc e Ciência**, v.1, n.2, p.151-156, 2010.

SILVA, A. R.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; CARVALHO, R. O. ; TAVELA, A. O.; FRASSY, L. N.; CASTEJON, F.V. Biological control of sheep gastrointestinal nematodiosis in a tropical region of the southeast of Brazil with the nematode predatory fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium*. **Parasitology Research**, v. 105, p. 1707-1713, 2009.

SILVA, B. F.; CARRIJO-MAUAD, J. R.; BRAGA, F. R.; CAMPOS, A. K.; ARAÚJO, J. V.; Amarante, A. F. T. Efficacy of *Duddingtonia flagrans* and *Arthrobotrys robusta* in controlling sheep parasitic gastroenteritis. **Parasitology Research**, v. 106, p. 1343-1350, 2010.

SILVA, M. E.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; SOARES, F. E. F.; RODRIGUES, D. S. Control of infective larvae of gastrointestinal nematodes in heifers using different isolates of nematophagous fungi. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22 n.1, Jaboticabal, 2013.

VAN OORSCHOT, C.A.N. Taxonomy of the Dactylaria complex. A review of cell-cell interactions in capture organs of the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora*. **Microbiology Letters**, v.30, p.93-98, 1985.

ZAIDEN, M. F. Enteroparasitoses em crianças de 0 a 6 anos de creches municipais de Rio Verde – GO e sua interface com o meio ambiente. Dissertação (Mestre em Promoção de Saúde) – Universidade de Franca. 77p. 2006.

4. OBJETIVO

Objetivo geral

- Avaliar a atividade dos fungos *Duddingtonia flagrans*, *Pochonia chlamydosporia* e *Arthrobotrys robusta* sobre larvas infectantes de nematoides gastrointestinais de bovinos.
- Verificar a prevalência de parasitas intestinais em um grupo de pacientes atendidos em um Hospital de Muriaé - Minas Gerais.

Objetivos específicos

- Testar *in vitro* a associação dos fungos *Duddingtonia flagrans*, *Pochonia chlamydosporia* e *Arthrobotrys robusta* sobre larvas infectantes de nematoides gastrointestinais de bovinos.
- Avaliar se houve redução na recuperação de larvas infectantes e do número de ovos por grama de fezes (OPG);
- Realizar a contagem de larvas infectantes por quilograma de matéria seca recuperadas da pastagem nos grupos controle e tratado;
- Observar qual parasita foi o mais prevalente em seres humanos.

CAPÍTULO 1

Controle de nematoides parasitas gastrintestinais de bovinos pela associação de fungos larvicidas e ovicidas

Resumo

As helmintoses constituem um dos principais fatores limitantes a criação de bovinos, nesse sentido algumas estratégias de controle estão sendo estudadas em todo o país. Dessa forma, foram avaliados os efeitos dos isolados dos fungos nematófagos, *Duddingtonia flagrans* (isolado AC001), *Pochonia chlamydosporia* (isolado VC4) e *Arthrobotrys robusta* (isolado I31) associados em uma formulação peletizada em alginato de sódio no controle de nematoides gastrintestinais. A viabilidade dos péletes em germinar e a atividade predatória dos fungos após o encapsulamento foram avaliadas *in vitro*. No teste *in vivo* dois grupos de seis bezerros cada, mestiços holandês x zebu, de seis a nove meses de idade, foram colocados em pastagem de *Brachiaria decumbens* em propriedade rural localizada no município de Viçosa-MG, Brasil. Em um dos grupos cada animal recebeu 2 g de péletes em matriz de alginato de sódio contendo massa micelial dos fungos *Duddingtonia flagrans* (isolado AC001), *Pochonia chlamydosporia* (isolado VC4) e *Arthrobotrys robusta* (isolado I31) via oral, 2 vezes por semana, durante 6 meses. No outro grupo, controle, os bezerros receberam 2 g de péletes sem os fungos. A porcentagem de péletes com cultivo positivo para o fungo foi de 100%, e o percentual de redução de larvas infectantes *in vitro* foi de 94% ($p < 0,01$), já no teste *in vivo* os animais do grupo tratado com o fungo mantiveram contagem de ovos por gramas de fezes menor ($p < 0,01$) em relação aos animais do grupo controle, com redução de 91,8 %. Foram observados os seguintes gêneros de nematoides: *Haemonchus* sp., *Cooperia* sp. e *Oesophagostomum* sp. durante todo o experimento. A redução do número de larvas infectantes recuperadas das pastagens foi de 27,5 % na distância de 0-20 cm e de 26,7 % na distância de 20-40 cm dos bolos fecais. A associação de fungos nematófagos utilizada foi eficaz no controle dos nematoides *Haemonchus* sp., *Cooperia* sp. e *Oesophagostomum* sp.

Palavras chave: Controle biológico; *Duddingtonia flagrans*; *Pochonia chlamydosporia*; *Arthrobotrys robusta*; Fungos Predadores.

1. Introdução

O Brasil tem o maior rebanho comercial do mundo e, no 1º trimestre de 2014, foram abatidas 8,367 milhões de cabeças de bovinos. Esse valor foi 2,9% superior ao registrado no 1º trimestre de 2013, de 8,128 milhões de cabeças (IBGE, 2013). Existe a constante preocupação do aumento desta produtividade e, nesse sentido algumas estratégias estão sendo avaliadas experimentalmente em todo o país com essa finalidade.

As helmintoses constituem um dos principais fatores limitantes a criação de bovinos e o uso de antihelmínticos foi um modo eficaz para controlar o parasitismo de nematóides, mas estirpes resistentes a antihelmínticos disponíveis surgiram. Além do problema da resistência que tem sido observada, não somente no Brasil, mas também em todo o mundo, há uma crescente preocupação mundial em relação a contaminantes químicos na carne bovina, bem como o risco de contaminação ambiental (AMARANTE, 2004; ARAÚJO, 2007; SUTHERLAND E LEATHWICK, 2011).

Pesquisas apontam para a utilização de agentes biológicos naturais do ambiente e, nesse contexto, a utilização de fungos nematófagos tem sido destaque há muito tempo (DIAS, et al., 2007). O que se pretende é diminuir o número de nematóides livres no ambiente e com isso se evitar recidiva de infecção helmíntica, o que sem dúvida acontece durante todo o período do ano (ARAÚJO, 2007).

Atualmente tem sido estudada formulação peletizada contendo um ou mais isolados de fungos nematófagos (ASSIS et al., 2013). Contudo, na maioria dos estudos era utilizada uma formulação a base de um único isolado. Nos últimos anos a associação de dois ou três isolados fúngicos tem sido utilizada com sucesso, porém devido à carência de trabalhos na área, sugerem-se mais trabalhos que busquem avaliar qual a melhor dose de inoculação de cada isolado fúngico ao longo da confecção dos péletes (BRAGA, ARAÚJO, 2014; SILVA, et al., 2010). Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a viabilidade de uma formulação peletizada em matriz de alginato de sódio dos fungos predadores de nematóides, *Duddingtonia flagrans* (isolado AC001), *Pochonia chlamydosporia* (isolado VC4) e *Arthrobotrys robusta* (isolado I31) e verificar sua eficácia no controle das nematodioses gastrintestinais de bovinos de corte.

2. Material e Métodos

2.1. Organismos e confecção dos péletes

Três isolados de fungos nematófagos, sendo *Duddingtonia flagrans* (isolado AC001), *Pochonia chlamydosporia* (isolado VC4) e *Arthrobotrys robusta* (isolado I31) armazenados na micoteca do Laboratório de Parasitologia do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, onde eram mantidos a 4 °C, ao abrigo da luz em tubos de ensaio contendo corn-meal-ágar 2 %, foram utilizados. Uma parte destes foi repicada para placas de Petri de 9 cm de diâmetros contendo meio ágar-água 2 % onde o fungo cresceu por sete dias. Para induzir a formação de micélio fúngico, fragmentos de ágar de aproximadamente 5 mm contendo micélio e esporos dos fungos foram transferidos para frascos Erlenmeyer de 250 mL, contendo 150 mL de meio líquido GPY (glicose, peptona, levedura), pH 6,5 sob agitação de 120 rpm, no escuro em temperatura de 26 °C e por 10 dias.

Após este período, o material fúngico cultivado foi retirado com a ajuda de uma alça de platina estéril. Os resíduos do meio de cultivo foram retirados com auxílio de papel filtro qualitativo e a massa micelial pesada para ser empregada na confecção de péletes em matriz de alginato de sódio na proporção de 5.7 g de cada fungo seguindo metodologia descrita por Walker e Connick, (1983) e modificado por Lackey et al.,(1993).

2.2. Ensaio experimental *in vitro*

Para avaliação da germinação dos fungos foram utilizadas 30 placas de Petri de 9cm de diâmetro contendo 20 ml de ágar-água, contendo 5 péletes distribuídos em cada placa, que foram incubados à 25° C por 7 dias. Após este período foi calculado o percentual de péletes a partir dos quais houve formação de colônias.

Já para a avaliação da atividade predatória foram separados 2 grupos, um grupo tratado composto por 15 placas de Petri de 9 cm de diâmetro e contendo 20 ml de ágar-água, e um grupo controle, composto por 15 placas contendo o mesmo meio de cultura. No grupo tratado foi adicionado no momento da confecção dos péletes os 3 isolados fúngicos, já no grupo controle os péletes também foram confeccionados contendo os fungos que posteriormente foram autoclavados à 120 ° C por 15

minutos. Foram distribuídos 5 péletes por placa, em ambos os grupos. As placas foram incubadas em câmara incubadora à 25° C, e o crescimento do fungo a partir de cada péletes foi observado durante 5 dias.

Três mil larvas de *Haemonchus* sp. (72%), *Cooperia* sp. (25%) e *Oesophagostomum* sp. (3%) foram gotejadas sobre as placas dos grupos. Essas foram mantidas em câmara incubadora à 25° C. As larvas livres de predação foram recuperadas a partir das placas de Petri utilizando o método de Baermann.

O percentual de redução de larvas do grupo tratado em relação ao controle foi calculado de acordo com a fórmula abaixo:

$$\% \text{ redução} = \frac{\text{média de larvas do controle} - \text{médias de larvas do tratamento}}{\text{média de larvas do controle}} \times 100$$

2.3 Ensaio experimental in vivo

O experimento foi conduzido em uma fazenda localizada no município de Viçosa, estado de Minas Gerais, sudeste do Brasil latitude 20° 45' 20" S, longitude 42° 52' 40" W, entre os meses de novembro de 2013 à maio de 2014.

Doze bovinos, mestiços holandês x zebu com idade média de 12 meses e peso médio de 200 Kg, foram vermifugados com anti-helmíntico (albendazol 10% 7,5mg/Kg). Vinte dias após o tratamento com o anti-helmíntico, foi feito o OPG de todos animais e foi dividido aleatoriamente em dois grupos com 6 animais cada e distribuídos em dois piquetes com 7,0 hectares cada de *Brachiaria decumbens* com histórico de pastejo por animais naturalmente infectados por nematóides parasitos gastrintestinais de bovinos.

No primeiro grupo cada animal foi tratado com aproximadamente 2 g de péletes para cada 10 kg de animal, contendo os fungos associados (AC001 + VC4 + I31) administrados 2 vezes por semana conjuntamente com ração comercial. Já no grupo controle cada animal recebeu 2 g de péletes sem micélio adicionado a ração.

2.4. Colheita e processamento do material fecal

Semanalmente, após a introdução dos animais nos pastos amostras de fezes de todos os animais de cada grupo foram coletadas diretamente do reto. Nessas

amostras foram determinadas as contagens de ovos por grama de fezes (OPG) descrita segundo a técnica Gordon e Whitlock (1939) e modificada por Ueno e Gonçalves (1998). A cada 15 dias, coproculturas foram realizadas com 20 g de fezes misturadas com vermiculita e levadas a câmara incubadora à 26 °C durante 8 dias para obtenção de larvas infectantes, que posteriormente foram identificadas conforme Keith (1953).

2.5. Amostras de pastagem

A cada 15 dias, duas amostras de pastagem (0-20 e 20-40 cm de distância do bolo fecal) foram coletadas dos piquetes dos grupos tratados e controle em (W) a partir de seis pontos alternados, de acordo com Raynaud e Gruner (1982). Amostras de 500 g de pastagem foram utilizadas, para recuperar as larvas infectantes (L3) seguindo a metodologia descrita por Lima (1989) e posteriormente foram contadas e identificadas segundo critérios estabelecidos por Keith (1953). As amostras de pastagem foram colocadas em estufa a 100° C até atingir peso constante. Os dados obtidos foram transformados no número de larvas por quilograma de matéria seca.

2.6. Dados climáticos

Os dados climáticos referentes às médias de temperaturas máximas e mínimas mensais e precipitações pluviárias mensais foram registradas diariamente em uma estação meteorológica especializada no Campus da Universidade Federal de Viçosa-MG, Brasil.

2.7. Análise estatística

Os dados obtidos no ensaio experimental foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, posteriormente, ao teste de Tukey com 1% de probabilidade utilizando o software Bioestat 5.3.

As médias das contagens de ovos por gramas de fezes (OPG), dos nematoides recuperados nas coproculturas e das L3 das pastagens dos grupos de animais, durante os seis meses de experimento, foram convertidos para médias mensais. Posteriormente os dados foram transformados para $\log(x+1)$ e em seguida os

resultados foram analisados por análise de variância (teste F) a 1 e 5 % de probabilidade. Todas as análises foram realizadas utilizando o software BioEstat 3.0.

3 Resultados

Os isolados fúngicos usados no presente trabalho mostraram-se eficazes na predação de larvas infectantes de nematóides de terceiro estágio (L3) em condições laboratoriais, durante o período experimental. As placas do grupo tratado (AC001 + I31 + VC4) mantiveram recuperação de larvas menor ($p < 0,01$) que as placas do grupo controle (sem fungo). O percentual de redução no número de larvas foi de 94% nas placas do grupo tratado em relação ao grupo controle. Nas placas inoculadas com os péletes com fungos, foi observada a esporulação dos fungos predadores.

Durante o período experimental, os animais do grupo tratado mantiveram OPG menor ($p < 0,01$) que os animais do grupo controle (figura 1). A média de redução do OPG de todos os meses nos animais do grupo tratado em relação ao grupo controle foi de 91,8 %. O primeiro mês experimental (novembro/2013) foi marcado por um percentual de redução de OPG de 83,6 % nos animais tratados com a formulação. As maiores diferenças foram observadas nos meses de fevereiro (96,4 %), março (96,4 %) e abril (97,1 %) (figura 2).

Nas coproculturas dos animais dos grupos tratados e controle (Figura 3 A e B) foi observado a recuperação de larvas infectantes, com diferenças ($p < 0,01$) durante todo o experimento. No grupo de animais tratado com a associação fúngica (AC001+VC4+I31) os gêneros com maior prevalência foram *Haemonchus* sp. (60,5 %) seguido pelos gêneros *Cooperia* sp. (33,0 %) e *Oesophagostomum* sp. (6,5 %). O grupo controle (sem tratamento fúngico) os gêneros observados também foram *Haemonchus* sp. (59,4 %) seguido pelos gêneros *Cooperia* sp. (35,2 %) e *Oesophagostomum* sp. (5,4 %).

Na figura 4 são demonstrados os resultados do número de L₃ recuperadas das pastagens. O percentual de redução do número de larvas na distância de 0-20 cm entre os grupos foi de 27,5 % e na distância de 20-40 cm foi de 26,7 %. Porém, não houve diferença ($p > 0,05$) no número de larvas infectantes recuperadas por quilograma de matéria seca recuperadas da pastagem entre os grupos. O número de L₃ recuperadas nas distâncias de 0-20 cm e de 20-40 cm do bolo fecal para o

grupo de animais tratado foi menor quando comparado com o do grupo controle, sendo que o maior número de larvas infectantes foi recuperado na distância de 0-20 cm do bolo fecal.

Em relação ao clima observado durante o período experimental as médias mensais de temperatura e precipitação pluvial estão representadas na figura 5. A temperatura média durante o período experimental foi de 21,6 °C, a mínima de 17,5 °C e a máxima de 28,3 °C.

4 Discussão

Este trabalho é o primeiro relato da associação de *D. flagrans* (AC001), *A. robusta* (I31) e *P. chlamydosporia* (VC4) em uma formulação peletizada.

A germinação de estruturas reprodutivas foi observada somente nos fungos predadores, o que pode estar relacionado à fungistase, que pode atuar impedindo o crescimento e desenvolvimento de alguns fungos (BONONI, 1998).

No trabalho realizado por Ayupe (2014) o autor observou uma incompatibilidade dos isolados I31 de *A. robusta* e AC001 de *D. flagrans* avaliados em conjunto, sendo que o primeiro apresentou um desenvolvimento superior ou inibiu o crescimento do outro. Os autores discutem que quando aplicados associados podem ser de utilização limitada. Porém, a formulação aqui testada continha além dos isolados citados por Ayupe (2014) o *P. chlamydosporia* (VC4), desta forma este tipo de interação e condição até então não havia sido testada.

De acordo com Araújo et al., (2004) para se escolher um fungo nematófago deve-se levar em consideração não só testes *in vitro*, mas também testes a campo. Silva et al., (2014) avaliaram a eficácia do *D. flagrans* (AC001) e do *Monacrosporium thaumasium* (NF34a), administrados na mesma formulação aqui testada. Os animais tratados apresentaram uma redução no número de ovos e de larvas infectantes ($p < 0,05$).

No teste à campo, o percentual de redução do OPG foi observado no primeiro mês de tratamento, demonstrando dessa forma que o associado fúngico foi possivelmente mais eficaz quando comparado com apenas um fungo.

Já no trabalho realizado por Luns (2013) onde os autores testaram a associação de *D. flagrans* e *M. thaumasium* em vacas, o número de ovos por grama de fezes (OPG) não diferiu ($p > 0,05$) entre os grupos controle e tratado. O presente trabalho

está em acordo com os resultados registrados por Guimarães (1977) no qual verificaram redução de OPG superior a 70 % em animais do grupo tratado, porém, a associação utilizada por eles foi somente entre os fungos *D. flagrans* e *M. thaumasium*.

Em relação ao percentual de larvas infectantes verificadas nas fezes, os resultados do presente trabalho concordam com os de Dias et al., (2007) que obtiveram resultados semelhantes com bovinos no sudeste do Brasil. Já no trabalho realizado por Assis et al., (2013), foi possível observar que a formulação utilizada contendo o *D. flagrans* foi eficaz no controle de *Trichostrongylus* sp., com percentual de redução no OPG de 56,7 % e um percentual significativo na redução de larvas nas pastagens. No mesmo trabalho de Assis et al., (2013), as larvas recuperadas foram as mesmas aqui encontradas, sendo *Cooperia* sp., *Haemonchus* sp. e *Oesophagostomum* sp., com diferença entre os resultados dos animais tratados com o fungo e os do grupo controle, desta forma os dados são correspondentes. De acordo com Lima et al., (1985), os gêneros *Cooperia* sp. *Haemonchus* sp. e *Oesophagostomum* sp. são os nematoides mais prevalentes no sudeste do Brasil, sendo os mesmos aqui observadas.

Em relação ao número de larvas recuperadas nas pastagens, o resultado está de acordo com o trabalho de Assis et al., (2013), que relataram maior número de larvas recuperadas dentro da distância de 0-20 cm confirmando que poucas larvas migram das fezes nas distâncias de 20-40 cm.

Em relação às variações climáticas de acordo com Guimarães (1977) e Lima et al., (1985) as temperaturas médias de 16 a 20 °C são adequadas para o desenvolvimento de larvas de nematoides parasitas de bovinos. Segundo Boom e Sheath (2008) a precipitação mínima necessária para o desenvolvimento de larvas no ambiente é de 50 mm. O mês de maio foi marcado pelo menor valor de precipitação pluvial, sendo de 8,4 mm³. Consequentemente houve menor número de larvas recuperadas nas distâncias de 0-20 cm e 20-40 cm dos bolos fecais.

5. Conclusão

O tratamento dos animais com o associado fúngico em péletes de alginato de sódio contendo os fungos *Duddingtonia flagrans* (isolado AC001), *Pochonia chlamydosporia* (isolado VC4), *Arthrobotrys robusta* (I31) foi eficaz na redução de

infecções parasitárias ocasionadas por *Haemonchus* sp., *Cooperia* sp. e *Oesophagostomum* sp.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Universidade Federal de Viçosa, ao CEUA (Comissão de ética no uso de animais), ao CNPq, CAPES e Fapemig pelo apoio financeiro.

6. Referências Bibliográficas

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Indicadores IBGE, Estatística da Produção Pecuária, dezembro de 2013. Disponível em: <www.ibge.gov.br>, 2013.

A. F. T. Amarante, “Controle integrado de helmintos de bovinos e ovinos,” XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & I Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses, Ouro Preto, MG, 2004.

J. V. Araújo, M. L. A. Rodrigues, W. W. Silva, L. S. Vieira, “Controle biológico de nematóides gastrintestinais de caprinos em clima semiárido pelo fungo *Monacrosporium thaumasium*,” *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, vol. 42, 5 pages, 2007.

I. A Sutherland and D. M. Leathwick, “Anthelmintic resistance in nematode parasites of cattle: a global issue?,” *Trends Parasitology*, vol. 27, 6 pages, 2011.

A. S. Dias, J. V. Araújo, A. K. Campos, F. R. Braga, T. A. Fonseca, “Application of a formulation of the nematophagous fungus *D. flagrans* in the control of cattle gastrointestinal nematodiosis,” *World Journal of Microbiology Biotechnology*, vol. 23, 8 pages, 2007.

R. C. L. Assis, F. D. Luns, J. V. Araújo, F. R. Braga, R. L. Assis, J. L. Marcelino, P. C. Freitas, M. A. S. Andrade, “Comparison between the action of nematode predatory fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* in the biological control of bovine gastrointestinal nematodiasis in tropical southeastern Brazil,” *Veterinary Parasitology*, vol. 193, 7 pages, 2013.

A. O. Tavela, J. V. Araújo, F. R. Braga, W. F. Silveira, V. H. D. Silva, M. C. Júnior, L. A. Borges, J. M. Araujo, L. A. Benjamin, G. R. Carvalho, A. T. Paula, “Coadministration of sodium alginate pellets containing the fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* on cyathostomin infective

larvae after passing through the gastrointestinal tract of horses,” *Research in Veterinary Science*, vol. 94, 5 pages, 2013.

F. R. Braga and J.V. Araújo, “Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals,” *Applied Microbiology Biotechnology*, vol. 98, 12 pages, 2014.

B. F. Silva, J. R. Carrijo-Mauad, F. R. Braga, A. C. Campos, J. V. Araújo, A.F.T. Amarante, “Efficacy of *Duddingtonia flagrans* and *Arthrobotrys robusta* in controlling sheep parasitic gastroenteritis,” *Parasitology Research*, vol. 106, 8 pages, 2010.

H. L. Walker and W. J. Connick, “Sodium alginate for production and formulation of mycoherbicides,” *Weed Science*, vol. 31, 6 pages, 1983.

B. A. Lackey, A. E. Muldoon, B. A. Jaffe, “Alginate pellet formulation of *Hirsutiella rossiliensis* for biological control of plant-parasitic nematodes,” *Biological Control*, vol. 3, 6 pages, 1993.

H. M. Gordon and H. V. Whitlock, “A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces,” *Journal of Council Scientific and Industrial Research*, vol. 12, 2 pages, 1939.

H. Ueno and P. C. Gonçalves, “Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes,” 4.ed. JICA, 166 pages, 1998.

R. K. Keith, “The differentiation on the infective larvae of some common Nematode parasites of cattle,” *Australian Journal of Zoology*, vol. 1, 13 pages, 1953.

J. P. Raynaud and L. Gruner, “Feasibility of herbage sampling in large extensive pastures and availability of cattle nematode infective larvae in mountain pastures,” *Veterinary Parasitology*, vol. 10, 8 pages, 1982.

W. S. Lima, “Dinâmica das populações de nematóides parasitos gastrintestinais em bovinos de corte, alguns aspectos da relação parasito-hospedeiro e do comportamento dos estádios de vida livre na região do Vale do Rio Doce, MG, Brasil,” Teses (Doutorado) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. 178 pages, 1989.

V. L. R. Bononi, “Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas,” São Paulo: Instituto de Botânica, Secretaria de Estado e Meio Ambiente, 184 pages, 1998.

T. H. Ayupe, “Compatibilidade dos fungos nematófagos *Arthrobotrys robusta* e *Duddingtonia flagrans* no controle biológico dos nematóides gastrintestinais de bezerros,” Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), 2014.

J. V. Araújo, M. A. Mota, A. K. Campos, “Controle biológico de helmintos parasitos de animais por fungos nematófagos,” *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, vol. 13, 8 pages, 2004.

M. E. Silva, F. R. Braga, L. A. Borges, J. M. Oliveira, W. S. Lima, M. P. Guimarães, J. V. Araújo, “Evaluation of the effectiveness of *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* in the biological control of gastrointestinal nematodes in female bovines bred in the semiarid region,” *Veterinary Research Communications*, vol. 38, 6 pages, 2014.

F. D. Luns, “Avaliação da interação entre os isolados fungicos *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Arthrobotrys robusta* no Controle Biológico de nematóides gastrintestinais de bovinos leiteiros a campo,” Dissertação (Mestrado) Universidade federal de Viçosa, Viçosa, MG. 39 pages, 2013.

M. P. Guimarães, “Desenvolvimento das helmintoses gastrintestinais em bovinos de corte em pastagem de cerrado,” 81f. Tese (Doutorado), Instituto de Ciências

Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 81 pages, 1977.

W.S. Lima, M. P. Guimarães, A. C. R. Leite, “Custo benefício de diferentes dosificações anti-helmínticas em relação ao ganho de peso de bezerros de corte,” *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, vol.20, 3 pages, 1985.

C. J. Boom and G. W. Sheath, “Migration of gastrointestinal nematode larvae from cattle faecal pats onto grazable herbage,” *Veterinary Parasitology*, vol. 157, 7 pages, 2008.

7. Anexos

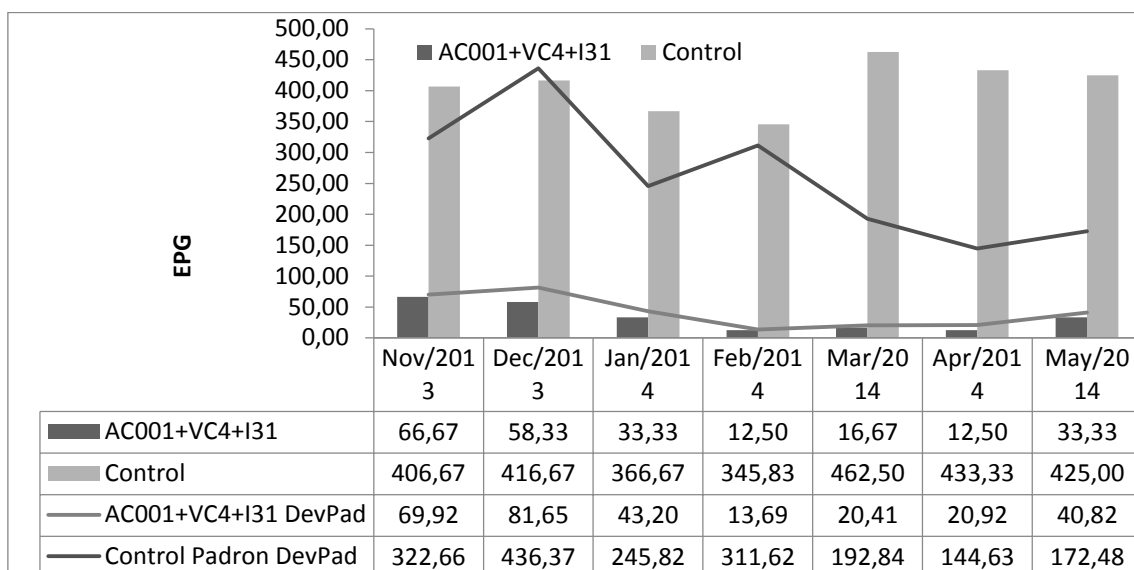


Figura 1: Médias mensais das contagens dos ovos por gramas de fezes (OPG) dos animais do grupo tratado com os fungos *Duddingtonia flagrans* (isolado AC001), *Pochonia chlamydosporia* (isolado VC4) e *Arthrobotrys robusta* (isolado I31) e dos animais do grupo controle, coletados no período de novembro de 2013 a maio de 2014 no Brasil.

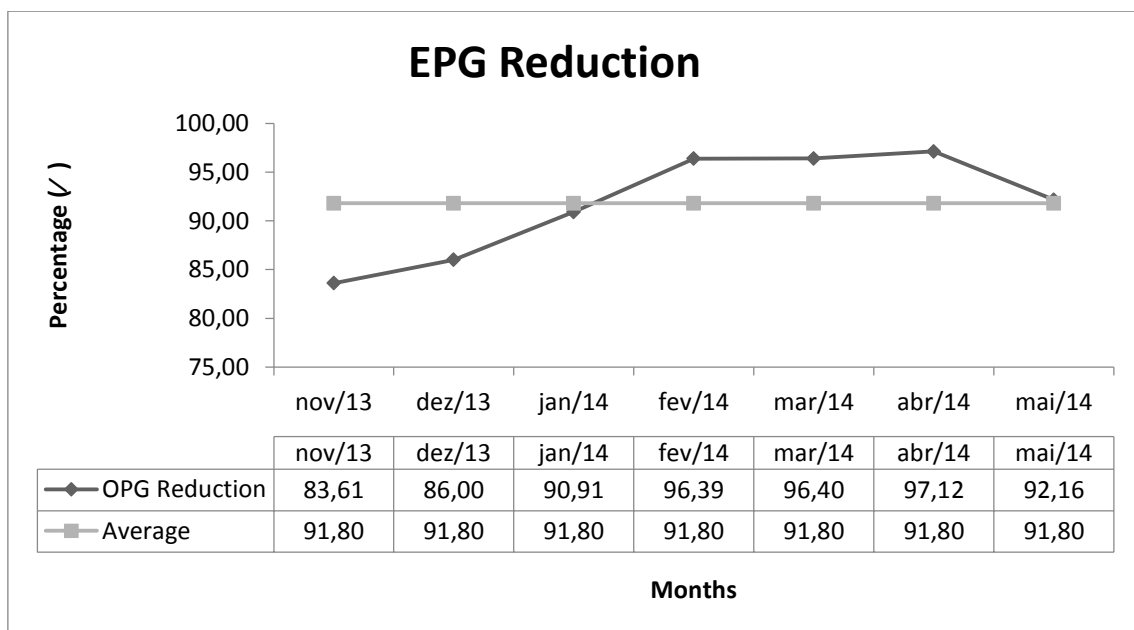
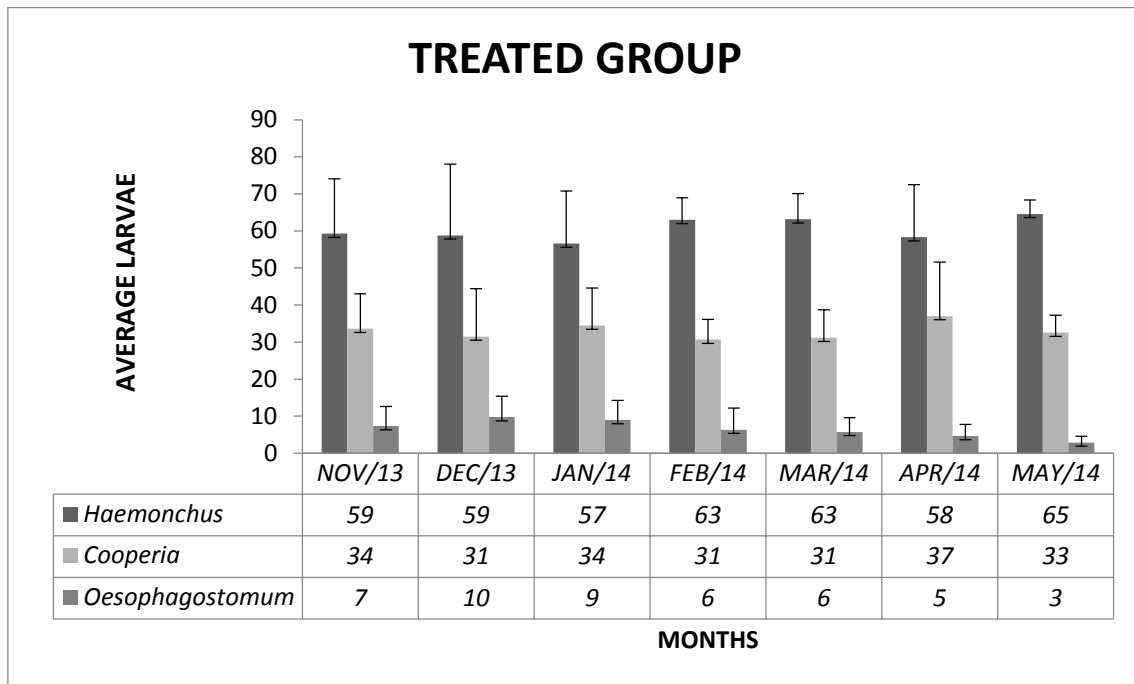


Figura 2: Percentual (%) de redução das contagens de ovos por grama de fezes (OPG) dos animais grupo tratado com a associação fúngica de *Duddingtonia flagrans* (isolado AC001), *Pochonia chlamydosporia* (isolado VC4) e *Arthrobotrys robusta* (isolado I31) comparando com os animais do grupo controle no período de novembro de 2013 a maio de 2014 no Brasil.

A



B

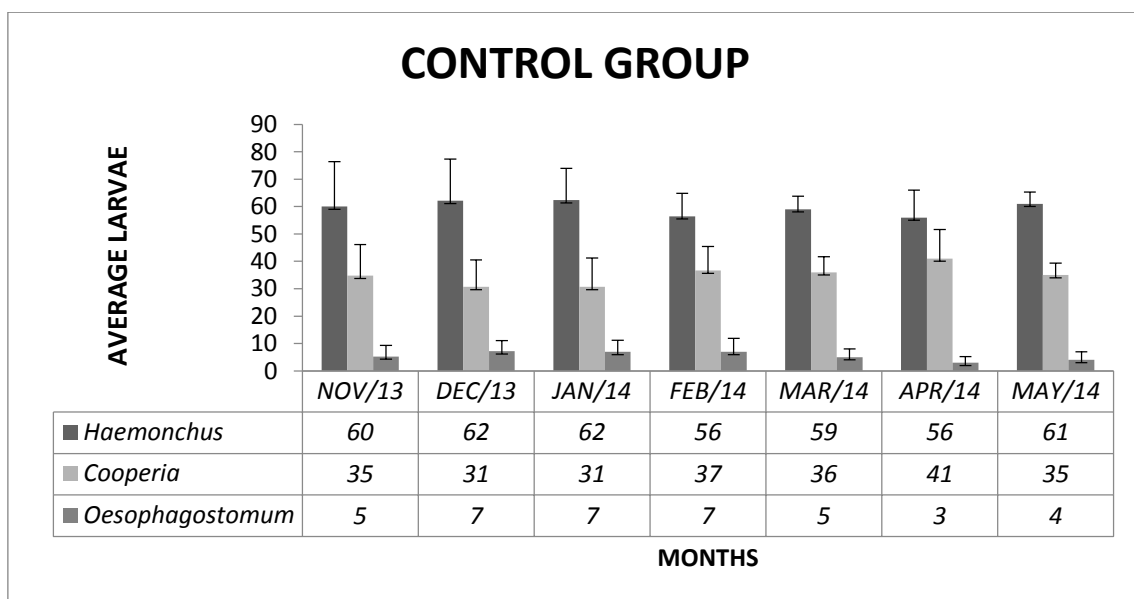
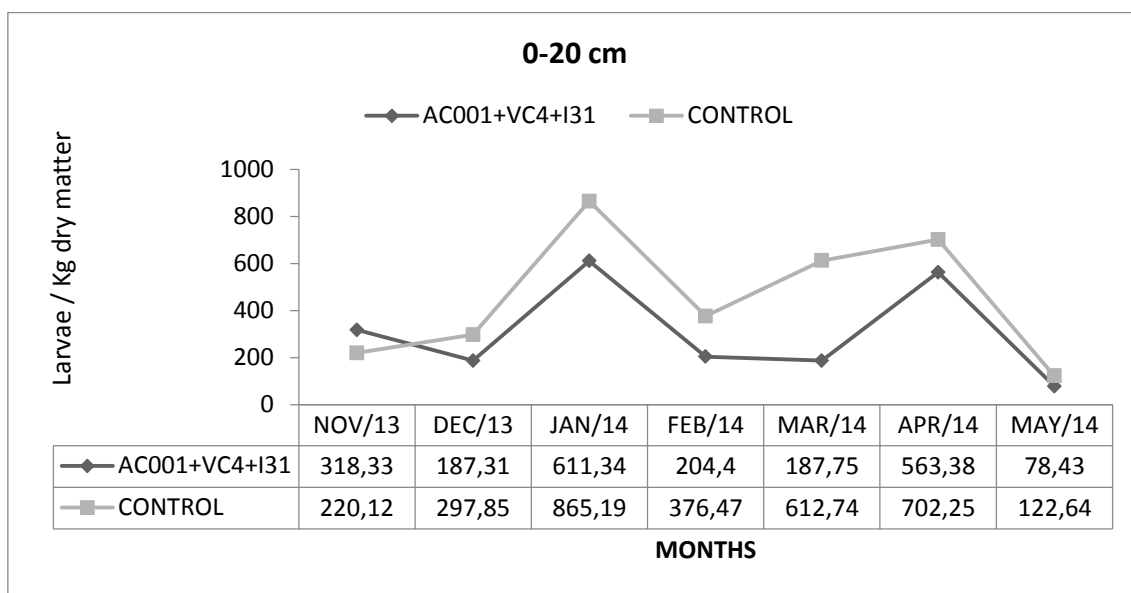


Figura 3 A e B: Média mensal de larvas infectantes de nematóides parasitos gastrintestinais (*Haemonchus* sp., *Cooperia* sp. e *Oesophagostomum* sp.) recuperadas de coproculturas dos animais do grupo tratado com associação dos fungos *Duddingtonia flagrans* (isolado AC001), *Arthrobotrys robusta* (isolado I31) e *Pochonia chlamydosporia* (isolado VC4) (A) e do grupo controle (péletes sem fungo) (B) coletadas no período de novembro de 2013 à maio de 2014 no Brasil.

A



B

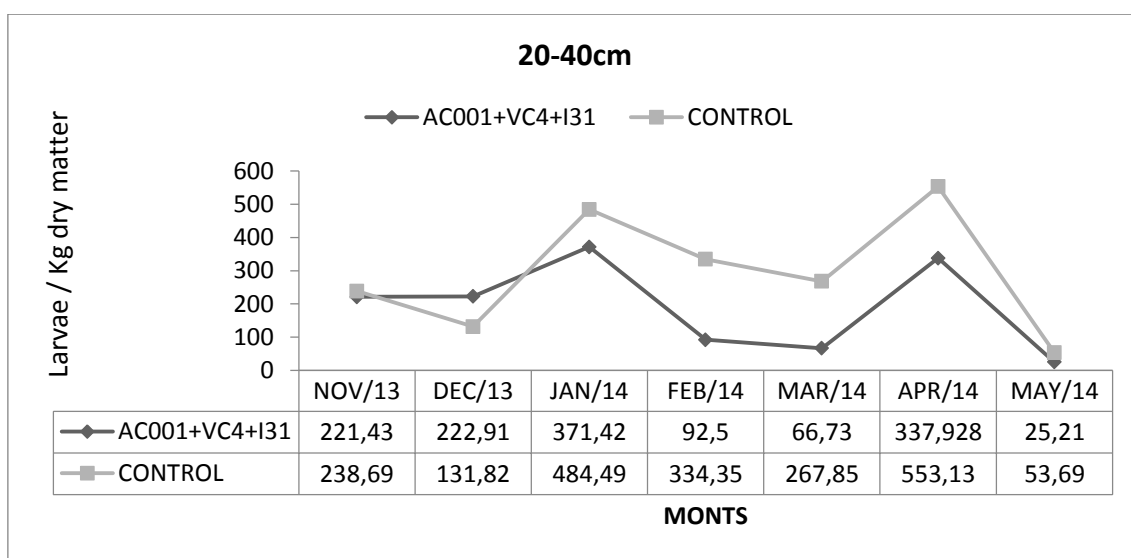


Figura 4 A e B: Média mensal do número de larvas infectantes (L3) de nematóides por Kg de matéria seca de pastagem (*Brachiaria decumbens*) coletados dos pastos dos animais dos grupos tratados com a associação fúngica *Duddingoniia flagrans* (isolado AC001), *Pochonia chlamydosporia* (isolado VC4) e *Arthrobotrys robusta* (isolado I31) e dos animais do grupo controle, nas distâncias de 0 a 20 cm (A) e de 20 a 40 cm do bolo fecal (B) avaliados no período de novembro de 2013 a maio de 2014 no Brasil.

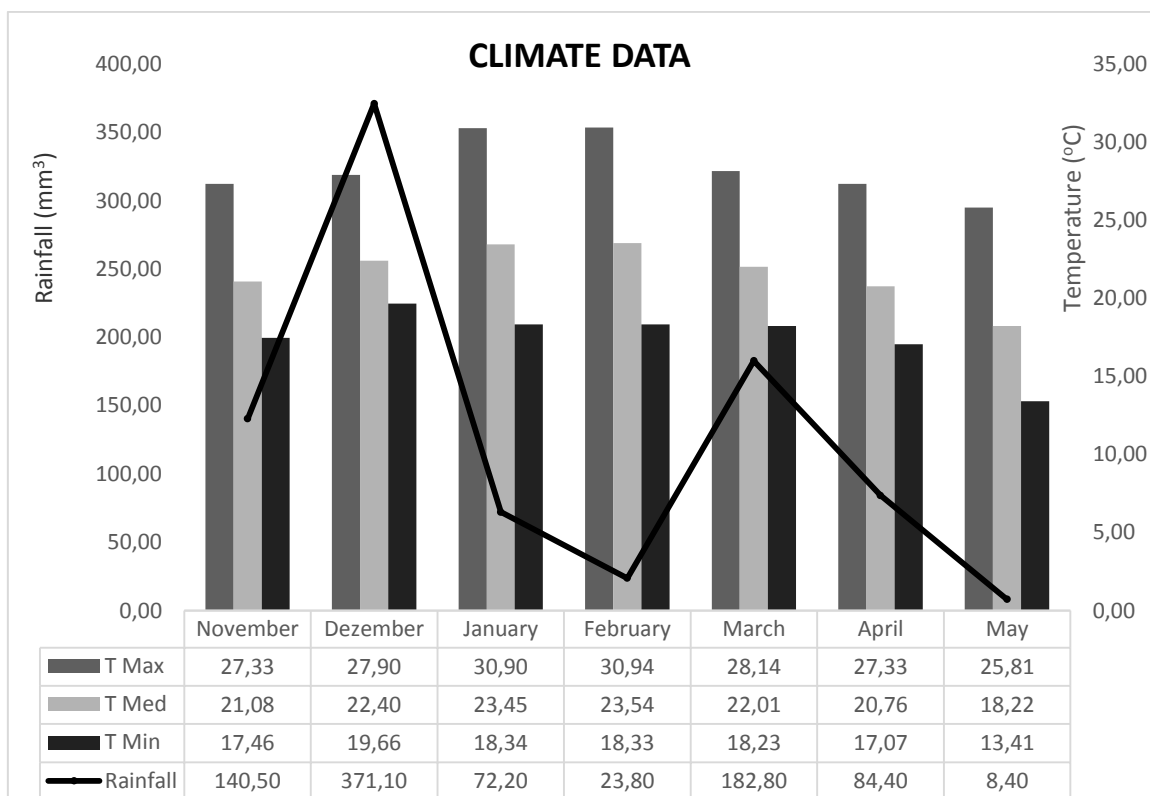


Figura 5: Médias das temperaturas máximas (T Max °C) e mínimas (T Min °C) mensais e precipitações pluviais registradas nos meses de novembro de 2013 à maio de 2014, Viçosa no estado de MG, no Brasil.

CAPÍTULO 2

Parasitoses intestinais em humanos na Zona da Mata de Minas Gerais

Resumo

A elevada prevalência de parasitoses intestinais em países subdesenvolvidos é responsável por quadros clínicos variáveis. Frequentemente essas parasitoses se encontram associadas à diarreia crônica e à desnutrição podendo comprometer o desenvolvimento de indivíduos de diferentes faixas etárias. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a ocorrência de parasitoses intestinais em pacientes atendidos em um Hospital localizado na Zona da Mata de Minas Gerais, no período de maio de 2007 a fevereiro de 2015. Os exames de fezes foram realizados através da técnica de Hoffman, Pons e Janer (HPJ). A prevalência das parasitoses intestinais de um total de 1.832 amostras foi de 13,85%. Entre os helmintos mostraram-se mais prevalentes: *Strongyloides stercoralis* (0,49%), *Ascaris lumbricoides* (0,33%), *Ancylostoma* sp. (0,27%), *Taenia* sp. (0,11%), *Hymenolepis nana* (0,11%) e *Enterobius vermiculares* (0,05%). Em relação aos protozoários *Giardia lamblia* (5,29%) foi o mais observado, seguido por *Endomilax nana* (3,49%), *Entamoeba coli* (3,33%), *Entamoeba histolytica* (0,38%). Entre as mulheres 8,40% estavam parasitadas, já em relação aos homens, foi observado um total de 5,45% de infectados. É importante ressaltar a importância de medidas preventivas com o objetivo de diminuir a disseminação das enteroparasitoses.

Palavras chave: Enteroparasitoses; Protozoários; Minas Gerais - Brasil.

1. Introdução

Entre as principais parasitoses que acometem seres humanos destacam-se a ascaridíase, enterobíase, esquistossomose, tricuriíase, ancilostomíase, amebíase e giardíase (ZAIDEN, 2006; ORO et al., 2010). De acordo com Gonçalves et al., (2003) a contaminação humana por enteroparasitas é uma ocorrência de milhares de anos.

As enteroparasitoses apresentam baixa taxa de mortalidade, porém altos índices de morbidade e são consideradas endêmicas em países em desenvolvimento, se tornando deste modo um problema de Saúde Pública (FONSECA; SILVEIRA, 2009). A alta prevalência no Brasil se deve ao difícil acesso ao saneamento básico e à falta de programas de educação sanitária para a população mais carente, resultando em altos índices de morbidade e associando-se frequentemente a quadros de diarreia crônica e desnutrição, podendo comprometer o desenvolvimento físico e intelectual (MELO et al., 2010). Representam um dos mais sérios problemas de saúde pública, em razão do grande número de pessoas acometidas e das diversas alterações orgânicas que podem ocasionar. As precárias condições socioeconômicas e higiênicas sanitárias são fatores importantes que contribuem para sua elevada prevalência no Brasil (BARÇANTE et al., 2008).

A relevância de estudos como este se dá por constituir-se como um importante instrumento na promoção e proteção à saúde. Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo verificar a prevalência de parasitoses em pacientes atendidos em um Hospital localizado no município de Muriaé-MG, Zona da Mata de Minas Gerais.

2. Metodologia

2.1 Amostras parasitológicas

A amostragem foi realizada no período de maio de 2007 a fevereiro de 2015, com pacientes atendidos em um Hospital localizado no município de Muriaé/ Minas Gerais Brasil, latitude 21° 07' 50" S, longitude 42° 21' 59" W. Esse Hospital recebe pacientes de todos municípios da Zona da Mata de Minas Gerais. Os dados foram obtidos pelo setor administrativo após a assinatura de um termo de livre consentimento esclarecido (ANEXO), e as informações foram obtidas através do Banco de Dados Oracle versão 10G com Ferramenta de Manipulação de Banco SQL Tools 1.6.

2.2 Critério de inclusão

Todos os exames parasitológicos de fezes que foram executados no hospital durante o referido período foram incluídos. Desta forma a amostra ficou formada por 1.832 pacientes.

Os procedimentos de identificação das amostras foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital utilizando técnicas de sedimentação espontânea (Hoffman Pons e Janer - HPJ) de acordo com metodologia descrita por Lutz (1919) e aperfeiçoada por Hoffmann, Pons e Janer (1934).

As amostras foram colhidas em recipiente plástico contendo solução conservante MIF (Mercúrio, Iodo e Formol) e os pacientes foram considerados positivos quando era verificada a presença de qualquer enteroparasita (helmintos ou protozoários).

3. Resultados e Discussão

Dos 1.832 exames parasitológicos de fezes provenientes de pacientes atendidos (internos e externos) no Hospital de Muriaé-MG de maio de 2007 a fevereiro de 2015, a prevalência das parasitoses intestinais nas amostras analisadas foi de 13,85%. Os helmintos mostraram prevalência de *Strongyloides stercoralis* (0,49%), *Ascaris lumbricoides* (0,33%), *Ancylostoma* sp. (0,27%), *Taenia* sp. (0,11%),

Hymenolepis nana (0,11%) e *Enterobius vermicularis* (0,05%). Em relação aos protozoários, *Giardia lamblia* (5,29%) foi o mais prevalente, seguido por *Endolimax nana* (3,49%), *Entamoeba coli* (3,33%) e *Entamoeba histolytica* (0,38%), como pode ser observado na Tabela 1:

Quadro 1. Prevalência das enteroparasitoses de pacientes atendidos em um Hospital da Zona da Mata de Minas Gerais, entre os meses de maio de 2007 a fevereiro de 2015.

| Descrição | Quantidade de amostras | Porcentagem |
|----------------------------------|------------------------|-------------|
| Exames Positivos | 254 | 13,85% |
| Exames Negativos | 1578 | 86,15% |
| Total de Exames | 1832 | 100,00% |
| <i>Giardia lamblia</i> | 97 | 5,29% |
| <i>Endolimax nana</i> | 64 | 3,49% |
| <i>Entamoeba coli</i> | 61 | 3,33% |
| <i>Strongyloides stercoralis</i> | 9 | 0,49% |
| <i>Entamoeba histolytica</i> | 7 | 0,38% |
| <i>Ascaris lumbricoides</i> | 6 | 0,33% |
| <i>Ancylostoma</i> sp. | 5 | 0,27% |
| <i>Hymenolepis nana</i> | 2 | 0,11% |
| <i>Taenia</i> sp. | 2 | 0,11% |
| <i>Enterobius vermicularis</i> | 1 | 0,05% |

No presente trabalho, a maior prevalência foi observada para protozoários, o que pode indicar uma deficiência no tratamento da água utilizada para consumo humano, uma vez que grande parte desses podem resistir a determinados tratamentos deficientes. A legislação brasileira, reconhece o impacto desses agentes e recomenda através da Portaria 518/2004 a pesquisa de *Cryptosporidium* e *Giardia* em águas que são utilizadas para o abastecimento público.

De acordo com os resultados, o parasita que apresentou uma maior prevalência foi *Giardia lamblia*, com 97 casos positivos (5,29%). O alto índice de infecção por *G. lamblia* pode indicar as condições socioeconômicas pelas quais estes pacientes vivem, uma vez que o protozoário apresenta como via de transmissão a fecal-oral. Outro importante ponto é o fato de que alguns animais podem hospedar a *G. lamblia*, podendo ocorrer a contaminação da água por fezes desses, sendo assim uma outra forma de transmissão para seres humanos. O exame parasitológico de fezes constitui a melhor maneira de estabelecer o

diagnóstico da giardíase, por ser um método não invasivo, de fácil execução, baixo custo e por utilizar equipamentos de fácil disponibilidade. A giardíase é uma infecção intestinal de distribuição universal, afetando tanto países desenvolvidos como subdesenvolvidos (BRITO e BASTOS, 2006).

Cimerman e Cimerman (2003) discutem que a prevalência mundial da giardíase é elevada, revelando 40% no Peru, 35% no Egito, 32,5% na Austrália, 21% na Tailândia, 20% na Índia, Guatemala e Cuba, 16% nos Estados Unidos e 28,5% no Brasil.

A prevalência das parasitoses intestinais encontrada no presente trabalho foi inferior quando comparada a outros estudos, todavia os estudos diferem em relação à idade dos pacientes. Como no trabalho realizado em uma creche da rede municipal de São Paulo, onde os autores concluíram que de 147 crianças estudadas, 93 (63,3%) apresentaram cistos de *G. lamblia* nas fezes. Trabalhos desenvolvidos com crianças podem apresentar um maior número de parasitoses, isso pode ser justificado principalmente pelo hábito de recreação (GUIMARÃES; SOGAYAR, 2001). Outro estudo realizado no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da PUCRS, foi diagnosticado a prevalência de parasitos intestinais, cujos valores para *G. lamblia* foram de 39,06% (FIGUEIREDO, et al., 2011).

O segundo agente mais encontrado no grupo estudado foram cistos de *Endolimax nana*, totalizando 64 (3,49%) pacientes positivos. Em um trabalho realizado por Lodo et al., (2010) em que os autores verificaram a prevalência de enteroparasitoses no interior paulista, relataram positividade para casos de protozoários não patogênicos, entre eles a *Endolimax nana* (44,7%). Os resultados do trabalho corroboram com os encontrados no presente trabalho.

Cistos de *Entamoeba coli* apresentaram 3,33% de positividade. A prevalência de protozoários foi superior à de helmintos, o que tem sido demonstrado em outros trabalhos, como o de Belo et al., (2012) e de Maia et al., (2014).

De acordo com Menezes e t al., (2013) *Endolimax nana* e *Entamoeba coli* são considerados organismos comensais, podendo ser indicadores de precariedade dos serviços de saneamento básico, devido sua transmissão ser fecal-oral, mesma forma de contaminação de outros parasitos, como a *G. lamblia*. O fato da *G. lamblia* ter sido o protozoário com maior prevalência (5,29%) pode ser justificado por uma

possível deficiência no tratamento de água da região. Desta forma este dado pode ser usado como um forte indicador de contaminação fecal da água consumida.

Em relação aos helmintos, *Strongyloides stercoralis* (0,49%) foi o mais prevalente, seguido por *Ascaris lumbricoides* (0,33%), *Ancylostoma* sp. (0,27%), *Taenia* sp. (0,11%), *Hymenolepis nana* (0,11%) e *Enterobius vermiculares* (0,05%). *Strongyloides stercoralis* é um nematódeo intestinal cuja prevalência pode variar bastante. Normalmente a infecção pode ser assintomática, porém em alguns casos pode-se manifestar com extrema gravidade associada a mortalidade (VADLAMUDI et al., 2006).

A prevalência de *A. lumbricoides* está associada a precárias condições sanitárias, sendo um importante indicador do estado de saúde de uma população. Alguns fatores são capazes de interferir em sua prevalência, tais como: área geográfica estudada, tipo de comunidade, nível socioeconômico, acessibilidade a bens e serviços, estado nutricional, idade e ocorrência de predisposição à infecção parasitária (COSTA et al., 1998).

Já a baixa prevalência de *Enterobius vermiculares* (0,05%) pode ser justificada pelo método que foi utilizado para o diagnóstico e a faixa etária do grupo pesquisado. Uma vez que o método de sedimentação espontânea não é de grande sensibilidade nos casos de suspeita de enterobíase e a faixa etária mais acometida por esta parasitose são crianças com idade de 5 a 14 anos de idade (NEVES, 2005).

Um trabalho desenvolvido no município de Piau, em Minas Gerais, demonstrou uma predominância dos mesmos parasitas aqui encontrados, sendo os Ancilostomídeos e *Giardia* os mais prevalentes, ambos com 13,7 % (MARINHO, 2008).

Em relação ao sexo dos pacientes, 1.172 (64%) eram constituídos por mulheres, sendo 32% com idade de 28-40 anos e 68% com idade entre 40-68 anos. Seiscentos e sessenta pacientes (36%) eram do sexo masculino, sendo que 17% com idade entre 37-50 anos e 83% com idade entre 50-74 anos. Em relação à prevalência das parasitoses, constatou-se que 8,40% das mulheres estavam parasitadas sendo os protozoários os mais encontrados. Em relação aos homens, foi observado um total de 5,45% de infectados. Em ambos os sexos a faixa etária mais acometida com alguma parasitose foi entre pacientes com idade entre 40-68 anos nas mulheres e 50-74 entre os homens.

Parasitas intestinais estão presentes no ambiente atingindo a população humana principalmente através da ingestão de alimentos e água contaminada. Paciente mais velhos encontram-se mais propensos a apresentar alterações no seu estado de saúde frente a um agressor (externo ou interno), principalmente pelo uso de muitos medicamentos, podendo assim dificultar o tratamento específico das parasitoses devido às interações medicamentosas e agravamento dos efeitos colaterais, tornando-se alvo maior de doenças (MURAI, 2005).

De acordo com Campos et al., (2002), a presença do endoparasito pode estar significativamente associada às precárias condições socioeconômicas e ambientais, entre estes fatores. A alta prevalência de enteroparistoses no Brasil se deve ao difícil acesso ao saneamento básico e a falta de programas de educação sanitária. Dessa forma, vale ressaltar a importância de medidas preventivas com o objetivo de diminuir a disseminação de enteroparasitoses e melhorias de condições de saúde.

Agradecimentos: Os autores agradecem a Universidade Federal de Viçosa, Brasil, à Fundação Cristiano Varella Muriaé-MG, ao CNPq, CAPES e FAPEMIG pelo apoio.

4. Referências

BARÇANTE, T. A.; CAVALCANTI, D. V., SILVA, G. A. V., LOPES, P. B.; BARROS, R. F.; RIBEIRO, G. P.; NEUBERT, L. F.; BARÇANTE, J. M. P. Enteroparasitos em Crianças Matriculadas em Creches Publicas do Município de Vespasiano, Minas Gerais. **Revista de Parasitologia Tropical**, v.37, n. 1, p. 33-42, 2008.

BELO, V. S., OLIVEIRA, R. B., FERNANDES, P. C., NASCIMENTO B. W. L., FERNANDES, F. V., CASTRO, C. L. F., SANTOS, W. B. Fatores associados à ocorrência de parasitoses intestinais em uma população de crianças e adolescentes. **Revista Paulista de Pediatria**, v.30, n. 2, p.195-201, 2012.

BRITO, T.; BASTOS, A. Diagnóstico laboratorial da *Giardia lamblia*. **Saúde e Ambiente em Revista**, v.1, n.2, p.18-25, 2006.

CIMERMAN, S.; CIMERMAN, B. **Medicina Tropical**. São Paulo: Atheneu, 690p. 2003

CAMPOS, M.R.; LUIS, V.I.O.; FORTES, B.P.M.D.; BRAGA, R.C.C.; MEDRONHO, R.A. Distribuição espacial da infecção por *Ascaris lumbricoides*. **Revista de saúde pública**, v. 36, p.69-74, 2002.

COSTA, M.C.E.; COSTA-MACEDO, L.M.; ALMEIDA, L.M.; COELI, C.M.; COLETTY, P.E.; TAVARES, D.A. Prevalência de enteroparasitoses em comunidade sob intervenção ambiental do Programa de Despoluição da Baía da Guanabara. **Caderno Saúde Coletiva**, v.6, p.49-60, 1998.

DE CARLI, G.A. Parasitologia Clínica: Seleção de Métodos e Técnicas de Laboratório para o Diagnóstico das Parasitoses Humanas. Editora Atheneu, Rio de Janeiro, RJ, p. 810, 2001.

FIGUEIREDO, M.I.O.; SERRES, O.S.; SUTERIO, G.M.; MELLO, M.A.M.; ALTERMANN, G.T.M. Parasitoses Intestinais em Crianças com Idade de 24 a 58

Meses das Escolas Municipais de Educação Infantil, Relacionado Alguns Aspectos Socioeconômicos, Uruguaiana, RS. **NewsLab**, v.36, n.106, p. 180, 2011.

FONSECA, K. C. L. E.; SILVEIRA, L. V. P. C. Estudos das parasitoses gastrointestinais em crianças de 0 a 12 anos atendidas pelo laboratório central do município de Anápolis. **Anuário da Produção de Iniciação Científica Discente**, v.12, n.4, p.77-95, 2009.

GONÇALVES, M. L. C.; ARAÚJO, A.; FERREIRA, L.F. Human intestinal parasites in the past: new findings and a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.98, p.103-118, 2003.

HOFFMANN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The sedimentation-concentration method in *Schistosomiasis mansoni*. Puerto Rico. **Journal of Publications in Health Tropical and Medicine**, v. 9, p. 283-298, 1934.

LODO, M., OLIVEIRA, C.G.B., FONSECA, A.L.A., CAPUTTO, L. Z., PACKER, M. L. T, VALENTI, V.E., FONSECA, F.L.A. Prevalência de enteroparasitas em município do interior paulista. **Revista Brasileira de Crescimento desenvolvimento humano**, v.20, n.3, p. 769-777, 2010.

LUTZ, A. *Schistosoma mansoni* and schistosomiasis observed in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 11, p. 121-125, 1919.

MAIA, C. V. A., HASSUM, I. C., VALLADARES, G. S. Fatores socio sanitários e parasitoses intestinais em Limoeiro do Norte, CE. **Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 10, n.19, p. 50-64, 2014.

MARINHO, J. A. Prevalência das parasitoses intestinais e esquistossomose no município de Piau - Minas Gerais. Monografia apresentada a Faculdade de Farmácia e Bioquímica, Universidade Federal de Juiz de Fora, 2008.

MATOS, A. S. Prevalência de parasitoses intestinais por Helminthos e Protozoários em idosos. **Revista de Enfermagem, UNISA**, v. 6, p. 9-14, 2005.

MELO, E. M. Importância do estudo da prevalência de parasitos intestinais de crianças em idade escolar. **Revista Saúde e Biologia**, v.5, n.1, p.43-47, 2010.

MENEZES, R.A.D., GOMES, M. S. M., BARBOSA, F. H. F., BRITO, G. C. M., PROJETTI JÚNIOR, A. A., COUTO, A. A. R. D. Enteroparasitoses em pacientes atendidos no laboratório de uma unidade de saúde de Macapá, Amapá, 2011 – 2012. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 13, n. 1, p. 191 – 198, 2013.

NEVES, D.P. Parasitologia Humana. 11^a ed. São Paulo: Atheneu, 2005

ORO, D.; JOPROSKI, G.K.; ORO, N.A.; SBARDELOTTO, C.; SEGER, J. Prevalência de parasitas intestinais em crianças de Descanso – Santa Catarina, Brasil. **Unoesc e Ciência**, v.1, n.2, p.151-156, 2010.

SANTOS, M.E.S., OGANDO, T., FONSECA, B.P., JUNIOR, C.E.G., BARÇANTE, J.M.P. Ocorrência de enteroparasitoses em crianças atendidas no programa de saúde da família de uma área de abrangência do município de Vespasiano, Minas Gerais, Brasil. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v.8, n.1, p. 25-9, 2006.

VADLAMUDI, R.S., CHI, D.S.; KRISHNASWAMY, G. Intestinal strongyloidiasis and hyperinfection syndrome. **Clinical and Molecular Allergy**, p.4-8, 2006.

ZAIDEN, M. F. Enteroparasitoses em crianças de 0 a 6 anos de creches municipais de Rio Verde – GO e sua interface com o meio ambiente. Dissertação (Mestre em Promoção de Saúde) – Universidade de Franca, p.77, 2006.

5. ANEXO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa:

Nome do Pesquisador:

Nome do (s): Orientador(a):

1. **Natureza da pesquisa:**
2. **Participantes da pesquisa:**
3. **Envolvimento na pesquisa:**
4. **Riscos e desconforto:** a participação nesta pesquisa não traz complicações legais. (especificar aqui possíveis riscos e desconfortos gerados durante a pesquisa). Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução no. 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à sua dignidade.
5. **Confidencialidade:** todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente o (a) pesquisador (a) e o (a) orientador (a) terão conhecimento dos dados.
6. **Benefícios:** ao participar desta pesquisa a sra (sr.) não terá nenhum benefício direto. Entretanto, esperamos que este estudo traga informações importantes sobre (...), de forma que o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa possa (...), onde pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos. A sra (sr.) não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem.

Obs: Não assine esse termo se ainda tiver dúvida a respeito.

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa. Declaro que recebi cópia deste termo de consentimento, e autorizo a realização da pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo.

Nome do Participante da Pesquisa

Assinatura do Participante da Pesquisa

Assinatura do Pesquisador

Assinatura do Orientador

CONCLUSÕES

1. Observou-se no teste *in vitro* um percentual de redução na recuperação das larvas de 94 % nas placas de petri do grupo tratado em relação ao grupo controle ($p < 0,01$).
2. O tratamento dos animais com associação fúngica foi eficaz para controlar infecções ocasionadas por *Haemonchus* sp., *Cooperia* sp. e *Oesophagostomum* sp. Mantiveram contagem de ovos por gramas de fezes (OPG) menor ($p < 0,01$) quando comparado o grupo tratado com os animais do grupo controle, com um percentual de redução de 91,8 %.
3. A prevalência das parasitoses intestinais de 1.832 amostras foi de 13,85%, sendo os protozoários os mais encontrados. A alta prevalência de enteroparitoses no Brasil se deve ao difícil acesso ao saneamento básico e a falta de programas de educação sanitária.

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no uso de Animais – CEUA/UFV certifica que o processo nº 38/2014, intitulado “Controle biológico de nematoides gastrintestinais em bovinos por meio da associação de fungos Helmintófagos dos gêneros Duddingtonia, Pochonia e Arthrobotrys”, coordenado pelo professor Jackson Victor de Araújo do Departamento de Veterinária, está de acordo com a Legislação Vigente (Lei N° 11.794, de 08 de outubro de 2008), as Resoluções Normativas editadas pelo CONCEA/MCTI, a DBCA (Diretriz Brasileira de Prática para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos) e as Diretrizes da Prática de Eutanásia preconizada pelo CONCEA/MCTI, portanto sendo aprovado por esta Comissão em 23/06/2014, com validade de 12 meses.

CERTIFICATE

The Ethic Committee in Animal Use/UFV certify that the process number 38/2014, named “Biological control of gastrointestinal nematodes in cattle through the association of fungi of the Helmintófagos genere Duddingtonia, Pochonia and Arthrobotrys”, is in agreement with the a ctual Brazilian legislation (Lei N° 11.795, 2008), Normative Resolutions edited by CONCEA/MCTI, the DBCA (Brazilian Practice Guideline for the Care and Use of Practice the Euthanasia recommended by CONCEA/MCTI therefore being approved by the Committee on June 23, 2014 valid for 12 months.



Prof. Cláudio César Fonseca
Coordenador

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFV