

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA**

**Controle químico e biológico por fungos nematófagos das nematodioses  
gastrintestinais de equinos**

Tábata Alves do Carmo  
*Doctor Scientiae*

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2026**

**TÁBATA ALVES DO CARMO**

**Controle químico e biológico por fungos nematófagos das nematodioses  
gastrointestinais de equinos**

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*.

Orientador: Jackson Victor de Araujo

Coorientadores: Ricardo V. G. de Soutello  
Cristiana F. C. Monteiro

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2026**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

C287c Carmo, Tábata Alves do, 1995-  
2026 Controle químico e biológico por fungos nematófagos das  
nematodioses gastrintestinais de equinos / Tábata Alves do  
Carmo. – Viçosa, MG, 2026.  
91: il. (algumas color.).

Orientador: Jackson Victor de Araújo.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,  
DVT-054 - Biotecnologia, Diagnóstico e Controle de Doenças  
dos Animais, 2026.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2026.138>

1. Equinos – Parasitoses gastrointestinais. 2.  
Ciatostomíneos – Resistência a anti-helmínticos. 3. Fungos  
nematófagos – Controle biológico. 4. Anti-helmínticos –  
Eficácia. 5. Resistência a anti-helmínticos. 6. Duddingtonia  
flagrans. 7. Nematoides gastrointestinais – Equinos. 8.  
Ivermectina – Resistência. 9. Controle integrado de parasitos..  
I. Araújo, Jackson Victor de, 1962-. II. Universidade Federal de  
Viçosa. DVT-054 - Biotecnologia, Diagnóstico e Controle de  
Doenças dos Animais. Doutorado em Medicina Veterinária.  
III. Título.

CDD 22. ed. ? 636.10896

**TÁBATA ALVES DO CARMO**

**Controle químico e biológico por fungos nematófagos das nematodioses  
gastrointestinais de equinos**

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: 6 de março de 2026.

Assentimento:

---

Tábata Alves do Carmo  
Autora

---

Jackson Victor de Araujo  
Orientador

Essa tese foi assinada digitalmente pela autora em 13/04/2026 às 13:52:52 e pelo orientador em 13/04/2026 às 16:14:44. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **GRBR.QA7U.LOVM** e clique no botão 'Validar documento'.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por minha vida.

Aos meus pais e minhas irmãs, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar esta pós-graduação.

Ao meu orientador, Jackson Victor de Araújo, pela orientação e apoio fundamentais durante esta trajetória.

Estendo minha gratidão aos coorientadores, Ricardo Veludo Gomes de Soutello e Cristiana Cazapal Monteiro, por me acolherem e proporcionarem valiosa experiência na Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP Campus de Dracena e na Universidade de Santiago de Compostela (USC) na Espanha.

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso. Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar”.

(Josué 1:9)

## RESUMO

CARMO, Tábata Alves do, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2026. **Controle químico e biológico por fungos nematófagos das nematodioses gastrintestinais de equinos.** Orientador: Jackson Victor de Araujo. Coorientadores: Ricardo Velludo Gomes de Soutello e Cristiana Filipa Cazapal Monteiro.

Infecções por helmintos gastrointestinais são extremamente importantes em equinos, devido aos prejuízos causados, afetando a saúde, o bem-estar e a produtividade dos animais. O objetivo do primeiro estudo foi avaliar a eficácia dos anti-helmínticos de diferentes lactonas macrocíclicas (ivermectina e moxidectina) e a associação de doramectina + praziquantel em equinos naturalmente infectados. A revisão teve como objetivo explorar o uso de fungos helmintófagos no controle das helmintoses em equinos, destacando seu potencial como alternativa biológica. No terceiro estudo, objetivou-se avaliar a ação dos fungos nematófagos do gênero *Duddingtonia flagrans* e *Mucor circinelloides* sobre larvas infectantes de ciatostomíneos na Espanha. No primeiro estudo, os animais foram distribuídos em três grupos em duas propriedades (G1 Doramectina 1,71% + Praziquantel 23,43%, G2 Ivermectina 1,87% e G3 Moxidectina 2%) e dois grupos em três propriedades (G1 Doramectina 1,71% + Praziquantel, G2 Ivermectina 1,87%). Os resultados indicaram a presença de ciatostomíneos resistentes à ivermectina em 80% das propriedades avaliadas. Por outro lado, o composto de doramectina + praziquantel foi eficaz nas cinco propriedades estudadas, promovendo uma redução de R-OPG superior a 95% em todas, após 14 dias. Sendo o único anti-helmíntico testado que promoveu uma redução de R-OPG de 100%, apresentando esta máxima de redução em duas propriedades. Já a moxidectina também apresentou R-OPG superior a 95% nas duas propriedades (2 e 3) onde foi avaliada. A revisão aborda espécies como *D. flagrans*, *P. chlamydosporia*, *A. oligospora*, *M. thaumasium*, *M. circinelloides* e *P. liacinum*, que têm demonstrado eficácia na redução da carga parasitária, atuando em diferentes estágios do ciclo de vida do nematoide, desde a fase larval até os ovos. O terceiro estudo consistiu em dois experimentos. No primeiro, foram formados três grupos: o grupo 1, com 4 bandejas pulverizadas semanalmente com 5 ml de meio líquido contendo *D. flagrans* e *M. circinelloides*; o grupo 2, pulverizado quinzenalmente com a mesma solução; e o grupo 3 (controle), pulverizado com água destilada semanalmente. No segundo experimento, três grupos receberam diferentes tratamentos: o grupo 1 teve fezes misturadas com 5 ml de meio líquido contendo *D. flagrans*; o grupo 2 recebeu 5 ml com *M. circinelloides*; e o grupo 3 (controle) foi tratado com água destilada. Os fungos *D.*

flagrans e *M. circinelloides* foram eficazes no controle de nematoides gastrointestinais, reduzindo as larvas infectantes. Conclui-se que foi detectada a resistência dos ciatostomíneos à ivermectina, mas eficácia das associações praziquantel + doramectina e moxidectina. Os fungos *D. flagrans* e *M. circinelloides* foram eficazes no controle de nematoides gastrointestinais, reduzindo larvas infectantes. Esses fungos podem ser uma boa alternativa para reduzir o uso de anti-helmínticos no controle parasitário.

Palavras-chave: ciatostomíneos; equídeos; fungos helmintófagos; resistência anti-helmíntica.

## ABSTRACT

CARMO, Tábata Alves do, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2026. **Chemical and biological control by nematophagous fungi of gastrointestinal nematodes in horses.** Adviser: Jackson Victor de Araujo. Co-advisers: Ricardo Velludo Gomes de Soutello and Cristiana Filipa Cazapal Monteiro.

Gastrointestinal helminth infections are extremely important in horses due to the damage they cause, affecting the health, well-being and productivity of the animals. The aim of the first study was to evaluate the efficacy of different macrocyclic lactone anthelmintics (ivermectin and moxidectin) and the combination of doramectin + praziquantel in naturally infected horses. The review aimed to explore the use of helminthophagous fungi in the control of helminthiasis in horses, highlighting their potential as a biological alternative. The third study aimed to evaluate the action of nematophagous fungi of the genus *Duddingtonia flagrans* and *Mucor circinelloides* on infective larvae of cyathostomins. In the first study, the animals were distributed into three groups on two farms (G1 Doramectin 1.71% + Praziquantel 23.43%, G2 Ivermectin 1.87% and G3 Moxidectin 2%) and two groups on three farms (G1 Doramectin 1.71% + Praziquantel, G2 Ivermectin 1.87%). The results indicated the presence of ivermectin-resistant cyathostomes in 80% of the farms evaluated. On the other hand, the doramectin + praziquantel compound was effective in the five farms studied, promoting a reduction of R-OPG greater than 95% in all, after 14 days. It is the only anthelmintic tested that promoted a reduction of R-OPG of 100%, presenting this maximum reduction in two farms. Moxidectin also presented R-OPG higher than 95% in the two properties (2 and 3) where it was evaluated. The review addresses species such as *D. flagrans*, *P. chlamydosporia*, *A. oligospora*, *M. thaumasium*, *M. circinelloides* and *P. liacinum*, which have shown efficacy in reducing the parasite load, acting at different stages of the nematode life cycle, from the larval stage to the eggs. The third study consisted of two experiments. In the first, three groups were formed: group 1, with 4 trays sprayed weekly with 5 ml of liquid medium containing *D. flagrans* and *M. circinelloides*; group 2, sprayed biweekly with the same solution; and group 3 (control), sprayed with distilled water weekly. In the second experiment, three groups received different treatments: group 1 had feces mixed with 5 ml of liquid medium containing *D. flagrans*; Group 2 received 5 ml of *M. circinelloides*; and group 3 (control) was treated with distilled water. The fungi *D. flagrans* and *M. circinelloides* were effective in controlling gastrointestinal nematodes, reducing infective larvae. It was concluded that cyathostomins were resistant to ivermectin, but the combinations praziquantel

+

doramectin and moxidectin were effective. The fungi *D. flagrans* and *M. circinelloides* were effective in controlling gastrointestinal nematodes, reducing infective larvae. These fungi may be a good alternative to reduce the use of anthelmintics in parasite control.

Keywords: anthelmintic resistance; cyathostomes; helminthophagous fungi; horses

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 3

**Figure 1** - Dynamics of helminth control in horses using helminthophagous fungi.....60

**Figure 2** - Commercial formulations containing *D. flagrans*: BioVerm® (Brazil) and BioWorma® (Australia).....61

### CAPÍTULO 4

**Figura 1** - Grupo 1: pulverizado semanalmente com *M. circinelloides* e *D. flagrans*, Grupo 2: pulverizado quinzenalmente com *M. circinelloides* e *D. flagrans* e Grupo 3: pulverizado com água destilada semanalmente..... 85

**Figura 2** - Grupo 1: concentrações de  $1 \times 10^6$  de *D. flagrans*, Grupo 2: concentrações de  $1 \times 10^6$  *M. circinelloides* e Grupo 3: umedecido com água destilada.....86

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 2

Tabela 1 – Grupos, anti-helmínticos e doses utilizados nas propriedades estudadas.....	37
Tabela 2 - Contagem média de ovos por grama de fezes (OPG) no dia do tratamento com Ivermectina, Doramectin + Praziquantel e Moxidectina (OPG 1), quatorze dias após (OPG 2), valores mínimos e máximo de OPG, percentual de redução dos valores de OPG (R- OPG), quatorze dias após o tratamento.....	39
Tabela 3 - Valores percentuais de larvas infectantes de pequenos e grandes estrôngilos recuperadas a partir de coproculturas com fezes de animais no D0 e D14 pertencentes aos grupos Ivermectina, Doramectina + Praziquantel e Moxidectina de Junho de 2022 a Dezembro de 2022, em 5 propriedades. ....	40

### CAPÍTULO 4

<b>Tabela 1-</b> Números de bandejas, médias de larvas infectantes (L3) viáveis, dos grupos: G1 (semanalmente), G2 (quinzenalmente) e G (controle), porcentagem (%) de redução.....	87
<b>Tabela 2 -</b> Número de L3 viáveis (5 amostras cada grupo) dos grupos: G1 (D. flagrans), G2 (M. circumcincta) e G3 (controle).....	88

## SUMÁRIO

RESUMO.....	12
ABSTRACT .....	13
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	14
1. INTRODUÇÃO GERAL .....	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	22
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	32
1. INTRODUÇÃO .....	35
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3. RESULTADOS.....	38
4. DISCUSSÃO .....	40
5. CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	44
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	51
Exploring the use of helminthophagous fungi in the control of helminthoses in horses: a review .....	51
1. Introduction.....	53
2. Literature review.....	54
Bibliographical references .....	65
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	78
1. INTRODUÇÃO .....	81
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	82
3. RESULTADOS.....	86
4. DISCUSSÕES.....	88
5. CONCLUSÃO .....	90
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	91
<b>CONCLUSÕES GERAIS</b> .....	95

## CAPÍTULO 1

### 1. INTRODUÇÃO GERAL

A equideocultura no Brasil é uma atividade de significativa importância econômica e cultural, abrangendo a criação e manejo de equinos, asininos e muares. O país possui aproximadamente 6,8 milhões de equídeos, sendo 5,8 milhões de equinos e 990 mil asininos e muares. Em termos econômicos, o mercado de exportação de equídeos movimentou US\$ 22 milhões em 2023 e, US\$ 9 milhões em 2024 (IBGE, 2023; IBEQUI, 2024).

Devido à elevada valorização econômica dos equinos e à sua importância na economia, torna-se essencial a atenção à saúde desses animais. Dentre as diversas enfermidades que podem acometê-los, as helmintoses destacam-se como afecções de maior prevalência (REHBEIN et al., 2013).

No Brasil, grande parte da criação dos equinos é realizada sob regime extensivo, onde os animais são mantidos em pastagens naturalmente infestadas com larvas infectantes de nematoides, além das características climáticas, sendo que as épocas de maiores índices de temperatura, umidade e precipitação, favorecem constantemente as helmintoses (BRAGA, 2009; SOUTELLO et al., 2025).

O parasitismo por helmintos gastrintestinais se destaca, devido aos prejuízos consequentes da infecção parasitária, como perda de desempenho e no bem-estar dos animais independente do sistema de criação ser a pasto ou estabulados (BOWMAN 2009; SEYOUM et al., 2017; RAZA et al., 2019).

A principal forma de controle das helmintoses na maioria dos sistemas de criação utiliza-se exclusivamente anti-helmínticos químicos (NIELSEN e REINEMEYER., 2018). O impasse na utilização dos anti-helmínticos comerciais vem sendo o seu uso de maneira indevida, indiscriminada e sem a associação de estratégias auxiliares de controle (MOLENTO, 2005).

A disseminação das populações de nematoides resistentes aos parasiticidas tornou-se uma séria ameaça para a saúde e produção animal em vários países (PEREGRINE et al., 2014; DAUPARAITÉ et al., 2021; VERA et al., 2020; NIELSEN 2022; SAES et al., 2022; FAVARE et al., 2023).

Medidas estratégicas que possam auxiliar no controle das parasitoses dos animais têm sido consideradas cada vez mais importantes. Nesse sentido, a combinação de bases farmacológicas distintas tem o potencial de aprimorar a eficácia

terapêutica de certos medicamentos, proporcionando, assim, uma alternativa promissora para o desenvolvimento e a utilização de formulações compostas (LIFSCHITZ et al., 2010; LESPINE et al., 2012).

O controle biológico com fungos nematófagos, tem se destacado como uma alternativa efetiva, no controle de nematoides gastrintestinais em equinos (BRAGA et al., 2010, FAUSTO et al., 2021; CARMO et al., 2023). Diferente dos anti-helmínticos, estes agentes atuam sobre os estágios larvais de vida livre, diminuindo a fonte de infecção para os hospedeiros finais, além disso, não causam efeitos negativos no ambiente como os anti-helmínticos químicos (GRØNVOLD et al. 1996; CARMO et al., 2023).

Desta forma, faz-se necessário o conhecimento da atual situação da eficácia dos anti-helmínticos mais utilizados e possíveis formas alternativas no controle, sendo estas informações de grande importância para traçar estratégias no controle das helmintoses em equinos.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Principais Helmintos Gastrintestinais de Equinos**

Os equinos são apontados como sendo um dos animais mais susceptíveis a uma gama de parasitos e podem abrigar várias espécies em um mesmo momento (REHBEIN et al., 2013). Isso acontece pelo fato do trato gastrintestinal e o ambiente fornecerem condições favoráveis para a sobrevivência e desenvolvimento de diversos parasitos (EGAN et al., 2010).

Os helmintos gastrintestinais de equinos são organismos realmente onipresentes. Estudos em propriedades de criação de equinos em todo o mundo têm demonstrado que as populações de helmintos estão presentes em uma vasta gama de diferentes condições geográficas e climáticas (NIELSEN, 2014). Sendo as helmintoses um fator de grande destaque na equinocultura, pois é responsável por ocasionar cólicas gástricas e intestinais, diarreia ou constipações, desconforto abdominal acompanhado ou não de fraqueza, pelagem áspera, anemia, hiporexia e até episódios fulminantes de cólicas prosseguidas de morte (LAGAGGIO et al., 2007). Conseqüentemente ocasionando queda no desempenho, retardo no crescimento, além de gastos com medidas profiláticas.

A fauna parasitária que afeta os equinos é composta por diversas famílias e gêneros, dentre eles, os nematóides estrongilídeos são os que mais acometem os animais (LICHTENFELS et al., 2008). Os estrongilídeos mais comuns em equinos são os pequenos estrôngilos ou também chamados de ciatostomíneos: *Cyathostomum* spp., *Triodontophorus* spp., *Cylicostephanus* spp.; seguido dos grandes estrôngilos: *Strongylus vulgaris*, *Strongylus equinus*, *Strongylus edentatus* e ainda, *Parascaris equorum*, *Oxyuris equi*, *Strongyloides westeri*, *Trichostrongylus axei* (MOLENTO, 2005; REHBEIN et al., 2013).

Em uma população de helmintos, os estrongilídeos constituem 67 a 100% do total de nematóides que podem ser encontrados no intestino de qualquer espécie de equídeo, formando uma comunidade parasitária estável dominada por interações positivas e poucas negativas, sugerindo uma ausência de competição entre si (MADEIRA DE CARVALHO, 2006).

Os pequenos estrôngilos, conhecidos como ciatostomíneos, são considerados os helmintos de maior importância, devido a sua prevalência, potencial patogênico e capacidade de desenvolver resistência anti-helmíntica (LESTER et al., 2014). Estes podem parasitar equinos de todas as idades, porém, apresentam maior patogenicidade nos animais jovens (KAPLAN; NIELSEN 2010; LUKSOVSKY et al., 2013). Podendo compreender 95-100% da carga parasitária total dos equinos (GASSER et al., 2005). São comumente encontrados no intestino grosso de equinos, influenciando negativamente à saúde e bem-estar de seus hospedeiros.

Durante décadas, os grandes estrôngilos, foram considerados como uma grande ameaça aos equinos, sendo um dos principais motivos dos programas de controle parasitário. Alguns meios de controle conseguiram reduzir satisfatoriamente a população de *Strongylus vulgaris* (HERD, 1990). Entretanto, resultou em um aumento da prevalência dos ciatostomíneos, principalmente pelo fato de se adaptarem facilmente às novas moléculas de anti-helmínticos e tipos de tratamentos (KAPLAN; NIELSEN, 2010).

Estes parasitos possuem ciclo biológico direto, ou seja, não necessitam de hospedeiro intermediário para completar seu ciclo. As fases de desenvolvimento desses nematóides consistem em ovo, larvas de primeiro a quinto estádios (L1 a L5) e parasitos adultos. Quando as condições ambientais se tornam favoráveis (temperatura e umidade) o ovo embrionado passa a se desenvolver dando origem a L1, passa para L2 e posteriormente para o estágio L3. A L3 migra para a pastagem

que circunda a massa fecal num raio máximo de cerca de 30 cm e a um máximo de 10 cm de altura, em função da umidade e da temperatura (ENGLISH, 1979; MADEIRA DE CARVALHO, 2001).

Dados sobre a prevalência de helmintos em equinos são de grande importância pelo fato destes refletirem a intensidade da infecção e auxiliar no delineamento de um programa de controle adequado à cada realidade (PAPAZAHARIADOU *et al.*, 2009; SHARMA *et al.*, 2011).

## **2.2 Tratamento Anti-helmíntico em Equinos**

No início do século XX apareceram os primeiros testes e relatos do uso de antihelmínticos. O óleo de chenopodium já era recomendado por Thum em 1915 e Woolridge em 1916 para o tratamento de verminoses em equinos (HALL, 1918). Sendo o controle parasitário dos estrogilídeos, até hoje em dia, realizado basicamente pela administração de compostos anti-helmínticos, os quais diminuem a população parasitária nos equinos, a eliminação de ovos nas fezes e a contaminação do ambiente (LYONS; DRUDGE; TOLLIVER, 2000).

Grande parte dos anti-helmínticos existentes no mercado foram desenvolvidos a partir de 1960. Após a descoberta do thiabendazole, primeiro anti-helmíntico benzimidazólico oral, surgiram várias outras drogas similares pertencentes ao mesmo grupo e de boa eficácia contra parasitos internos. A principal característica desse grupo de anti-helmínticos é sua tríplice ação, considerando que agem sobre vermes adultos, formas larvais e ovos de vermes (JUNIOR, 1998).

Já no início da década de 80, com o surgimento das lactonas macrocíclicas, principalmente da ivermectina, ocorreu uma revolução no mercado de produtos veterinários para o controle de parasitos (GEARY, 2005). São divididas em dois grandes grupos, chamados avermectinas e milbemicinas, ambas apresentam mecanismo de ação e propriedades farmacológicas semelhantes, sendo eficazes nos mesmos grupos de nematódeos e ácaros (PEREZ *et al.*, 2001). As Lactonas Macrocíclicas são altamente efetivas no tratamento e controle dos pequenos e grandes estrogilídeos de equinos, bem como de outras espécies de parasitas gastrintestinais (KLEI; CHAPMAN, 1999). Possuem alta persistência no plasma, pois são armazenadas no fígado e gordura, prolongando seu tempo de ação (STEEL, 1993). A característica lipofílica das Lactonas Macrocíclicas influencia na farmacocinética e na atividade dos ativos, determinando a distribuição da droga no

local de predileção do parasita no hospedeiro, a absorção pelos parasitas alvo e a persistência do fármaco no organismo hospedeiro (LANUSSE et al., 1997).

Táticas tradicionais de controle baseiam-se principalmente na aplicação de anti-helmínticos, atualmente representado por três principais classes de medicamentos: as lactonas macrocíclicas (ex: ivermectina, abamectina e moxidectina), as pirimidinas e imidazotiazóis (ex: pamoato de pirantel e levamisol) e o grupo dos benzimidazóis (ex: albendazol, oxibendazol e fenbendazol) (SAMSON-HIMMELSTJERNA, 2012). As diferenças entre os grupos químicos, quando comparados, estão principalmente no seu mecanismo de ação. (MARTIN, 1997). As lactonas macrocíclicas fazem parte da classe de antihelmínticos mais eficientes para o controle de parasitas gastrintestinais, pois sua atividade é de amplo espectro, com alta eficiência e elevada margem de segurança (MULROY, 2001).

Atualmente a indústria farmacêutica disponibiliza no mercado diversas formulações para o uso destes anti-helmínticos, sendo as mais comuns na forma de gel/pasta (LAFFOND, 2003).

Os esquemas de controle da helmintose equina preconizados no Brasil e em outros países são normalmente supressivos, com até seis tratamentos por ano (HONER; BIANCHIN, 1995). A possibilidade de se realizar um tratamento estratégico envolve a everminação dos animais baseada na previsão das épocas de maior eliminação de ovos e maior contaminação da pastagem, de acordo com as curvas sazonais para a região ou tipo de clima (PROUDMAN & MATTHEWS, 2000; MADEIRA DE CARVALHO, 2001).

Este esquema comporta até três administrações anuais, dependendo da sazonalidade dos helmintos na região abordada. A utilização de anti-helmínticos para este plano terapêutico pode ser limitada a medida em que haja baixa eficácia de um fármaco. Assim, atualmente, apenas as lactonas macrocíclicas são as mais eficientes para se utilizar na maioria dos casos, podendo haver populações de helmintos sensíveis também à outras drogas, nesses casos devem ser utilizadas para reduzir a pressão seletiva nas lactonas macrocíclicas, incluindo mais de um princípio ativo na rotação de produtos (REIS, 2011).

Porém, as frequentes aplicações vêm favorecendo o desenvolvimento da resistência anti-helmíntica, principalmente dos ciatostomíneos (KAPLAN, 2004). Sendo a intensa frequência de tratamento uma das principais causas que favorecem o surgimento da resistência parasitária, seguido da subdosagem, alta densidade de

animais em um local, e a falta de critérios para utilização dos produtos. (FRITZEN *et al.*, 2010; KAPLAN, 2002; MOLENTO, 2005).

Outro fator preocupante, é a maneira em que as lactonas macrocíclicas eliminam seus metabólitos e substâncias através da urina e das fezes dos animais diretamente na pastagem, intensificando o volume de substâncias químicas compartilhadas no meio ambiente intervindo negativamente a biodiversidade e a sustentabilidade dos ecossistemas (SOMMER; BIBBY, 2002; KOLAR *et al.*, 2006).

### **2.3 Resistência Anti-helmíntica em Equinos**

Acontece devido a uma sequência de fatores que conseqüentemente uma droga reduz sua eficácia contra os parasitos, após um determinado tempo de utilização. A seleção de helmintos resistentes é inevitável, uma vez que já se faz presente, e esta característica é transferida para as próximas gerações (MOLENTO, 2005; VERA *et al.*, 2020). Logo, a resistência aos anti-helmínticos é hereditária e a administração repetida selecionará, portanto, uma proporção cada vez maior de indivíduos resistentes. Isso acontece porque o parasito adquire a capacidade de mudar a metabolização do fármaco e/ou mudar o local de ligação do fármaco (TAYLOR; COOP; WALL, 2010). Outro motivo importante para a seleção de nematoides resistentes é o tratamento dos animais quando há uma pequena proporção da população total de parasitos em “refugia”, o que provavelmente contribui para uma maior pressão de seleção de parasitos resistentes ao tratamento anti-helmíntico. Consideram-se como parasitos em “refugia” aqueles que não são expostos ao tratamento anti-helmíntico, tais como os estádios de vida livre que se encontram na pastagem, ou mesmo aqueles presentes em animais que não receberam o tratamento (LOVE, 2003).

De acordo com Prichard (1980), a resistência, que é hereditária, está presente quando há uma maior frequência de indivíduos dentro de uma população, que são capazes de tolerar as doses de um composto que não seriam toleradas por uma população normal da mesma espécie. A resistência lateral ocorre quando a resistência parasitária a um composto químico resulta da seleção promovida por outro composto com um modo similar de ação. A resistência cruzada assemelha-se a resistência lateral, mas envolve compostos químicos com diferentes modos de ação. Resistência múltipla ocorre quando há indivíduos em uma população, que são resistentes a dois ou mais grupos de anti-helmínticos diferentes, como resultado da seleção de cada grupo,

ou como resultado da resistência cruzada.

No processo de seleção de parasitas resistentes, a droga remove seletivamente os indivíduos susceptíveis de uma população geneticamente heterogênea. Isto provoca aumento no número de indivíduos portadores de genes que conferem resistência, os quais são herdados pelos descendentes. Após várias gerações, os genes que conferem resistência predominam, o que possibilita a sobrevivência de um número significativo de helmintos resistentes em uma determinada população após o tratamento com anti-helmíntico (KÖHLER, 2001).

A situação mundial atual é de resistência à muitas das classes de antiparasitários comerciais disponíveis no mercado (NIELSEN *et al.*, 2014). A eficácia das drogas reduz por consequência de seu caráter seletivo, colaborando com a permanência de organismos resistentes e a eliminação de indivíduos susceptíveis. Logo, a sustentabilidade dos programas de controle da helmintose equina está comprometida pela seleção de populações de parasitos resistentes, cujo número de relatos é crescente mundialmente (KAPLAN, 2004). Desta forma, a disseminação das populações de nematoides resistentes aos parasiticidas tornou-se uma séria ameaça para a saúde e produção animal em vários países (HODGKINSON, 2008).

A detecção da resistência, numa fase precoce é importante, podendo permitir que a eficácia da classe das respectivas drogas possa ser mantida através de medidas adequadas, tais como frequência de tratamento e preservação da refugia. Várias investigações demonstraram que, uma vez desenvolvida a resistência anti-helmíntica em nematoides, ela permanecerá, e mesmo com a suspensão da utilização do respectivo medicamento por muitos anos não ocorrerá a eliminação da resistência (LIND *et al.*, 2007; SLOCOMBE COTÉ; GANNES, 2008).

Sendo assim, é de grande importância ter o real conhecimento sobre a eficácia dos anti-helmínticos em seus diferentes princípios ativos, para que se possa aplicar medidas profiláticas da maneira correta e eficaz, evitando o aparecimento de resistência. Tendo como possibilidade a atribuição de formas integradas de controle parasitário, promovendo a redução do número de larvas infectantes nas pastagens, ocasionando assim a diminuição da reinfecção dos animais e conseqüentemente menor uso de anti-helmínticos (ARAÚJO *et al.*, 2004; BRAGA *et al.*, 2009).

## 2.4 Controle Biológico por Fungos Nematófagos em Equinos

Medidas alternativas que possam auxiliar no controle das parasitoses dos animais têm sido consideradas cada vez mais importantes. Dentre elas, o controle biológico por fungos nematófagos tem se destacado como uma estratégia efetiva, no controle de nematoides parasitos gastrintestinais em animais de produção (GIROTO et al., 2008; BRAGA et al., 2010).

O controle biológico é um termo utilizado quando antagonistas naturais, presentes no ambiente, controlam ou diminuem padrão aceitável de uma população de organismos considerados prejudiciais, tanto na pecuária quanto na agricultura (GRONVOLD et al., 1996; LAZAROVITS et al., 2007). Os organismos que realizam o controle biológico dos nematoides destacam-se: bactérias, vírus, ácaros, besouros, fungos nematófagos, nematoides predadores dentre outros (GAUGLER; BILGRAMI, 2005).

Na prática, o controle biológico não atua sobre estágios internos de parasitos; contudo, concentra suas ações sobre os hospedeiros intermediários, paratênicos, vetores e estágios larvais de vida livre, diminuindo a fonte de infecção para os hospedeiros finais, além disso, causam menos efeitos negativos no ambiente que os métodos químicos (GRØNVOLD et al. 1996). A identificação de agentes biológicos com ação antagonista sobre as fases de vida livre pode permitir o seu uso, integrado a outras medidas, para redução da contaminação das pastagens e conseqüentemente da população de nematoides parasitos dos animais criados extensivamente e, conseqüentemente, reduzir a dependência de produtos químicos utilizados como anti-helmínticos (PADILHA, 1996; WALLER, 2005).

Mais de 150 espécies de fungos nematófagos foram catalogadas. Esses fungos também são conhecidos como destruidores de helmintos (MOTA et al, 2003). Pesquisas utilizando fungos no controle de nematoides vêm aumentando

gradativamente (ARAÚJO et al., 2004). Entre os fungos estudados, são relatados no controle biológico os gêneros *Arthrobotrys*, *Dactylaria*, *Dactylella*, *Duddingtonia*, *Lactydina*, *Monacrosporium* e *Trichothecium* (GRAMINHA et al., 2001). Os fungos *Duddingtonia flagrans* e *Arthrobotrys oligospora* têm ganhado destaque nas pesquisas (LARSEN, 2000), devido aos seus resultados promissores. Isso se deve, a sua rápida taxa de crescimento, além de sua capacidade para capturar e digerir nematoides (WALLER, 2005).

Segundo Fausto (2021), afirma que a utilização dos fungos controladores biológicos de nematoides, não se espera redução do OPG nos primeiros meses de tratamento, já que o resultado, é consequência da redução da infestação de larvas infectantes na pastagem, que se tornará menor ao longo do período de tratamento. Os fungos nematófagos são microrganismos benéficos que oferecem muitas vantagens no controle de nematoides parasitas de animais e plantas em comparação com anti-helmínticos pesticidas químicos. Esses microrganismos não causam resistência e além deste fato, também não contaminam o solo e a água após sua eliminação (MENDOZA-DE GIVES, *et al.*, 2022).

A utilização de fungos nematófagos para o controle de nematoides parasitos gastrintestinais tem sido realizada principalmente pela administração de péletes por via oral. Esta formulação tem se mostrado eficaz, tanto no aspecto econômico tanto como no biológico, por promover uma proteção e permitir que estes organismos sejam dispersos no meio ambiente (BRAGA & ARAÚJO, 2014).

Devido aos resultados promissores em estudos que demonstraram a efetividade em dispor o uso dos fungos *D. flagrans* e *P. chlamydosporia* para o controle biológico de nematoides gastrintestinais em ruminantes, e poucos estudos realizados com equinos, é de grande importância um estudo que avalie a ação destes agentes em equinos sob condições de pastagens naturalmente infectados, sendo considerada uma alternativa na profilaxia das helmintoses gastrintestinais

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

BOWMAN, D.; D. GEORGIS' Parasitology for Veterinarians, **Ed. Saunders-Elsevier**, Philadelphia, 2009.

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; SILVA, A. R.; ARAUJO, J. M.; CARVALHO, R. O.; TAVELA, A. O.; CARVALHO, G. R.; CAMPOS, A. K. Biological control of horse cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in tropical southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, [S.I.],

v. 163, p. 335-340, 2009.

BRAGA, F.R., ARAÚJO, J.V., SILVA, A.R., CARVALHO, R.O., ARAUJO, J.M., FERREIRA, S.R., BENJAMIN, L.A. Predatory activity of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* on horse cyathostomin infective larvae. **Tropical Animal Health and Production**. 42, 1161–1165, 2010.

BRAGA, F.R.; ARAÚJO, J.V.; Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S.l.], v. 98, p. 71–82, 2014.

CANEVER, R.J., BRAGA, P.R.C., BOECKH, A., GRYCAJUCK, M., BIER, D., MOLENTO, M.B. Lack of *Cyathostomin* sp. reduction after anthelmintic treatment in horses in Brazil. **Veterinary Parasitology** 194.35-39, 2013.

CARMO, T. A., MENA, M. O., CIPRIANO, I. A., FAVARE, G. M., GUELPA, G. J., PINTO, S. C., AMARANTE, A. F. T., ARAÚJO, J. V., & SOUTELLO, R. V. G. Biological control of gastrointestinal nematodes in horses fed with grass in association with nematophagous fungi *Duddingtonia flagrans* and *Pochonia chlamydosporia*. **Biological Control**, 182, 105219, 2023.

COOPER, L.G., CAFFE, G., CERUTTI, J., NIELSEN, M.K., ANZIANI, O.S. Reduced efficacy of ivermectin and moxidectin against *Parascaris* spp. in foals from Argentina. **Veterinary Parasitology: Regional Studies**, 20, 100388, 2020.

DAUPARAITĖ, E., KUPČINSKAS, T., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., PETKEVIČIUS, S. Anthelmintic resistance of horse strongyle nematodes to ivermectin and pyrantel in Lithuania. **Acta Veterinaria Scandinavica**, 63, 2021.

EGAN CE, SNELLING TJ, MC EWAN NR. The onset of ciliated populations in Newborn Foals. **Acta Protozoologica**, 49: 145 – 147, 2010.

FAUSTO, G. C., FAUSTO, M. C., VIEIRA, Í. S., FREITAS, S. G., CARVALHO, L. M., OLIVEIRA, I. C., SILVA, E. N., CAMPOS, A. K., & ARAÚJO, J. V. Formulation of the

nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in the control of equine gastrointestinal parasitic nematodes. **Veterinary Parasitology**, 296, 109458–109464, 2021.

FAVARE, G. M. de; CIPRIANO, I. A.; CARMO, T. A. do; MENA, M. O.; GUELPA, G. J.; AMARANTE, A. F. T. do; SOUTELLO, R. V. G. de. Anthelmintic resistance of horse strongyle nematodes to ivermectin in São Paulo state, Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 41, p. 100864, jun. 2023.

FRITZEN, B. ROHN, K.; SCHNEIDER, T. Endoparasite control management on horse farms-lessons from worm prevalence and questionnaire data. **Equine Veterinary Journal**, London, v. 42, n. 1, p. 79-83, jan. 2010.

GASSER, R. B.; WILLIAMSON, R. M. C.; BEVERIDGE, I. Anoplocephala perfoliata of horses: significant scope for further research improved diagnosis and control. **Parasitology**, v. 131, p. 1–13, 2005.

GAUGLER; BILGRAMI. GEARY T.G. Ivermectin 20 years on: Maturation of a wonder drug. **Trends Parasitology**. 21(11): 530-532, 2005.

GIROTTO, M.J.; AQUINO, L.F.B.; PEREZ, R.B.; NEVES, M.F.; SACCO, S.R. O uso de fungos nematófagos no controle biológico de nematódeos parasitas: Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v.6, n. 10, p. 1-7, 2008.

GRAMINHA, E. B. N.; MAIA, A. S.; SANTOS, J. M.; CÂNDIDO, R. C.; SILVA, G. F.; COSTA, A. J.; Avaliação in vitro da patogenicidade de fungos predadores de nematóides parasitos de animais domésticos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.22, n.1, p.11-16, jan./jun. 2001.

GRONVOLD, J.; WOLSTRUP, J.; LARSEN, M.; HENRIKSEN, S. A.; NANSEN, P. Aspects of biological control with special reference to arthropods, protozoans and helminthes of domesticated animals. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 64, p. 47-64, 1996.

HALL, M.C.; FOSTER, W.D. Efficacy of some anthelmintics. **Journal of Agricultural Research**, 12, 397–447, 1918. IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>. Acesso em 20 de jan. De 2025.

HERD, R.P. The changing world of worms: the rise of the cyathostomes and the ivermectin, fenbendazole and pyrantel pamoate, with preliminary observations on the efficacy of doramectin, as anthelmintics in horses. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 71, n. 3, p. 144-147, 1990.

HODGKINSON J. E.; CLARK H. J.; KAPLAN R. M.; LAKE S. L.; MATTHEWS J. B. The role of polymorphisms at beta tubulin isotype 1 codons 167 and 200 in benzimidazole resistance in cyathostomins. **International Journal for Parasitology**, [S.l.], v. 38, p. 1149-1160, 2008.

HONER, M. R.; BIANCHIN, I. Verminose equina: sugestões para um melhor controle em animais de fazenda. Campo Grande: EMBRAPA – CNPGC,1995. 4 p. (Comunicado Técnico, n. 28). Disponível em: <http://www.cnpqc.embrapa.br/publicacoes/cot/CoT28.html>. Acesso em: 28 jan. 2025.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção agropecuária: Equinos. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/equinos/br>. Acesso em: 6 fev. 2025.

INSTITUTO BRASILEIRO DE EQUIDOCULTURA. O Brasil é dos cavalos. 2021. Disponível em: [https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-setoriais/equideocultura/reuniao-ordinaria-da-cs-equideocultura/37a-ro/ibequi\\_perfil\\_fev21.pdf](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-setoriais/equideocultura/reuniao-ordinaria-da-cs-equideocultura/37a-ro/ibequi_perfil_fev21.pdf). Acesso em: 10 jan. 2025.

JUNIOR K. J. Guia de controle de parasitas internos de animais domesticos. São Paulo. Editora Parma, 1998.

KAPLAN, R. M. Anthelmintic resistance in nematodes of horses. **Veterinary**

**Research**, Les Ulis, v. 33, n. 5, p. 491-507, Sept./Oct. 2002.

KAPLAN, R.M. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. **Trends in Parasitology**, v. 20, n.1), p. 477-481, 2004.

KAPLAN, R. M.; NIELSEN, M. K. An evidence-based approach to equine parasite control: itain't the 60s anymore. **Equine Veterinary Education, Newmarket**, v. 22, n. 6, p. 306-316, June 2010.

KLEI, T. R.; CHAPMAN, M. R. Immunity in equine cyathostome infections. **Veterinary Parasitology**, v. 85, n. 2, p. 123-136, 1999.

KÖHLER, P. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. **International Journal for Parasitology**, v. 31. p. 336-345, 2001.

KOLAR, L.; FLAJS, V. C.; KUZNER, J.; MARC, I.; POGACNIK, M.; BIDOVEC, A.; VANGESTEL, C. A. M.; ERZEN, N. K. Time profile of abamectin and doramectin excretion and degradation in sheep faeces. **Environmental Pollution**, [S.l.], v.144, p.197-202, 2006.

LAFFONT CM, BOUSQUET-MÉLOU A, BRALET D, ALVINERIE M, FINK-GREMMELS J, TOUTAIN PL. A pharmacokinetic model to document the actual disposition of topical ivermectin in cattle. **Veterinary Research**. Jul-Aug;34(4):445-60, 2003.

LAGAGGIO, V. R. A.; JORGE L. L.; OLIVEIRA V.; FLORES M. L.; SILVA J. H. Achados de formas parasitárias em camas de equinos. Santa Maria: [s.n.], 2007. Disponível em: <[http://www.hipismobrasil.com.br/teses/formas \\_ parasitarias.asp](http://www.hipismobrasil.com.br/teses/formas_parasitarias.asp)>. Acesso em: 03 jan. 2025.

LANUSSE, C. et al. Comparative plasma disposition kinetics of ivermectin, moxidectin and doramectin in cattle. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 20, n. 2, p. 91-99, 1997.

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

LAZAROVITS, G.; GOETTEL, S. M.; VINCENT, C. Adventures in Biocontrol. En: Biological control. A Global Perspective. Case Studies from Around the World. CAB International. **Wallinford, Oxforshire**, [S.l.], p 1 -6, 2007.

LESPINE, A., MÉNEZ, C., BOURGUINAT, C., PRICHARD, R.K. P-glycoprotein on other multidrug resistance transporters in the pharmacology of anthelmintics: 36 prospects for reversing transport-dependent anthelmintic resistance. **International Journal for Parasitology**. 2, 58–75, 2012.

LESTER, H. E.; SPANTON, J.; STRATFORD, C. H.; BARTLEY, D. J.; MORGAN, E. R.; HODGKINSON, J. E.; COUMBE, K.; MAIR, T.; SWAN, B.; LEMON, G.; COOKSON, R.; MATTHEWS, J. B. Anthelmintic efficacy against cyathostomins in horses in Southern England. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 197, n. 1–2, p. 189-196, 2014.

LICHTENFELS, J. R.; KHARCHENKO, V. A.; DVOJNOS, G. M. Illustrated identification keys to strongylid parasites (Strongylidae: Nematoda) of horses, zebras and asses (Equidae). **Veterinary parasitology**, [S.l.], v.156, n.1, p.4- 161, 2008.

LIFSCHITZ A, SUAREZ VH, SALLOVITZ J, CRISTEL SL, IMPERIALE F, AHOUSSOU S, SCHIAVI C, LANUSSE C. Nematóides bovinos resistentes a lactonas macrocíclicas: efeitos comparativos da modulação da glicoproteína P na eficácia e cinética de disposição da ivermectina e moxidectina. **Experimental Parasitology**. Junho de 2010; 125(2):172-8, 2010.

LIMA, R.A.S.; CINTRA, A. G. Estudo do completo do completo do Agronegócio do cavalo. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, p. 56, 2016.

LOVE, S. Treatment and prevention of intestinal parasite-associated disease. **Veterinary Clinics of North America: Equine**, v.19, p.791–806, 2003.

LIND, E. O., A field study on the effect of some anthelmintics on cyathostomins of horses in Sweden. **Veterinary Research Commun**, v. 31, p. 53–65, 2007.

LUKSOVSKY, J.; CRAIG, T. M.; BINGAM, G. M.; CIR, T.; FORRETS, D. Determining treatment to control two multidrug-resistant parasites on a Texas horse farm. **Journal of Equine Veterinary Science**, Wildomar, v. 33, n. 2, p. 115-119, 2013.

LYONS, E.T.; DRUDGE, J.H.; TOLLIVER, S.C. Larval Cyathostomiasis. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, v. 16, p. 501-513, 2000.

MADEIRA DE CARVALHO, L. M. Epidemiologia e controlo da estrogilidose em diferentes sistemas de produção equina em Portugal. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa. 128-373f, 2001.

MADEIRA DE CARVALHO LM. In Memoriam Prof Ignacio López-Navarrete Cózar, Estrogilidose dos Equídeos - Biologia, Patologia, Epidemiologia e Controlo. In: ESTOJO DR, ANDRADA JJT, MADEIRA DE CARVALHO LM. 1. Ed. Cáceres: Tempo, 2006. Cap.6, p. 277-326. [Disponível em: [http://www.researchgate.net/publication/247777715\\_ESTROGILIDOSE\\_DOS\\_EQU\\_DEOS\\_BIOLOGIA\\_PATOLOGIA\\_EPIDEMIOLOGIA\\_E\\_CONTROLO](http://www.researchgate.net/publication/247777715_ESTROGILIDOSE_DOS_EQU_DEOS_BIOLOGIA_PATOLOGIA_EPIDEMIOLOGIA_E_CONTROLO)]. Acesso em: 12 set. 2024.

MENDOZA-DE GIVES, P.; BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V. Nematophagous fungi, an extraordinary tool for controlling ruminant parasitic nematodes and other biotechnological applications. **Biocontrol Science and Technology**, [S.l.], v. 32, p. 1-17, 2022.

MOLENTO, M. B. Resistência parasitária em helmintos de equídeos e propostas de manejo, **Ciência Rural**, [S.l.], v. 35, n. 6, p. 1469-1477, 2005.

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, n.3, p.93-100, jul./set. 2003.

MULROY, A. When the Cure Is the Problem: Antibiotic Contamination of Surface Water and Groundwater May Be Promoting the Development of Drug-Resistant Pathogen. **Água & Tecnologias Ambientais**, 13, 32-36, 2001.

NIELSEN, M. K.; REINEMEYER, C. R.; DONECKER, J. M.; LEATHWICK, D. M.; Anthelmintic resistance in equine parasites—Current evidence and knowledge gaps. **Veterinary Parasitology**, v.204, p.55-63, 2014.

NIELSEN, M. K.; REINEMEYER, C. R. Handbook of Equine Parasite Control. John Wiley & Sons, 2018.

NIELSEN, N.K., BANAHAN, M., KAPLAN, R.M, Importation of macrocyclic lactone resistant cyathostomins on a US thoroughbred farm. **International Journal Parasitology: Drugs Drug Resist.** 14, 99-104, 2020.

PADILHA, T. Controle da verminose gastrintestinal em pequenos ruminantes nas regiões áridas e semi-áridas do nordeste do Brasil. In: Controle dos nematódeos gastrintestinais dos ruminantes. Terezinha Padilha (Ed.). Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, p.169-178, 1996.

PAPAZAHARIADOU, M. Gastrointestinal parasites of stabled and grazing horses in Central and Northern Greece. **Journal of Equine Veterinary Science, Wildomar**, v. 29, n. 4, p. 233-236, 2009.

PEREGRINE, A., MOLENTO, KAPLAN, R., NIELSEN, M. Anthelmintic resistance in important parasites of horses: does it really matter? **Veterinary Parasitology**. 201(1-2), 1-8, 2014.

PÉREZ, R. et al Disposición plasmática y fecal de moxidectina administrada por vía oral en caballos. **Archivos de Medicina Veterinária**, v. 33, n. 1, p. 77-88, 2001.

PÉREZ-ÁLVAREZ, S.; ROJAS-MUJICA, K.; BELLO, H.; VILORIA, D.; MORALES, A. Comparative study of two therapies pharmacological based a ivermectin and

febendazol by strongyles control intestinal in thoroughbreds horses. **Journal of Veterinary Science & Technology**, Kagoshima, v. 4, n. 5, p. 144- 145, Oct. 2013.

PRICHARD, R. K.,. The problem of antehlintic resistance in nematodes. **Australian Veterinary Journal**, v. 56, p.239-251, 1980.

PROUDMAN, C.; MATTHEWS, j.; Control of intestinal parasites in horses. **In Practice**. V. 22, n. 90-60 p. 2000.

RAZA, A., QAMAR, A., HAYAT, K., ASHRAF, S., WILLIAMS, A. Anthelmintic resistance and novel control options in equine gastrointestinal nematodes. **Parasitology**. 146(4), 425-437. 2019.

REHBEIN, S.; MARTIN, V.; RENATE, W. Prevalence, intensity and seasonality of gastrointestinal parasites in abattoir horses in Germany. **Parasitology Research, Berlin**, [S.l.], v. 112, n. 1, p. 407-413, 2013.

REIS, P. M. C. Epidemiologia e controlo do parasitismo gastrintestinal em éguas e seus poldros numa exploração do Ribatejo. 117. Dissertação. Universidade técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária. 2011.

SAES, I. L., GONÇALVES, J. A., DO CARMO, T. A., MENA, M. O., CIPRIANO, I. D. A., DE FAVARE, G. M., BELLO, H. J. S., GUELPA, G. J., & SOUTELLO, R. V. G. Seasonality and dynamics of gastrointestinal helminths in grazing horses. **Acta Veterinaria-Beograd**, 72(1), 131-144, 2022.

SAMSON-HIMMELSTJERN, G. V. Anthelmintic resistance in equine parasites – detection, potential clinical relevance and implications for control. **Veterinary Parasitology**, v. 185, n. 1, p. 2-8, 2012.

SEYOUM, Z., ZEWDU, A., DAGNACHEW, S., BOGALE. Anthelmintic Resistance of Strongyle Nematodes to Ivermectin and Fenbendazole on Cart Horses in Gondar, Northwest Ethiopia. **Biomed Research International**, 2017.

SHARMA, S. Prevalence of gastrointestinal helminths in horses in Malwa region of Madhya Pradesh. **Veterinary Practitioner**, Rajasthan, v. 12, n. 1, p. 68-69, 2011.

SLOCOMBE, J. O.; COTÉ, J. F.; GANNES, R. V. The persistence of benzimidazole-resistant cyathostomes on horse farms in Ontario over 10 years and the effectiveness of ivermectin and moxidectin against these resistant strains. **Canadian Veterinary Journal**, v.49, p. 56-60, 2008.

SOUTELLO, R. V. G. DE, ROMÃO, D. S., DO CARMO, T. A., DE FAVARE, G. M., PAGNOZZI, F. C., & DE ALMEIDA CIPRIANO, I. Seasonal dynamics of gastrointestinal helminths in naturally infected horses in Brazil. **Veterinary Parasitology**, 110, 110358. 2025.

SOMMER, C.; BIBBY, B. M. The influence of veterinary medicines on the decomposition of dung organic matter in soil. **European Journal of Soil Biology**, [S.I.], v. 38, p. 155–159, 2002.

STEEL, J. W. Pharmacokinetics and metabolism of avermectins in livestock. **Veterinary Parasitology**, V. 48, N. 1-4, P. 45-57, 1993.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. *Parasitologia Veterinária*. Rio de Janeiro: Rio de Janeiro, 742 p., 2010.

VERA, J. H. S.; FACHIOILLI, D. F.; RAMIRES, L. M.; SAES, I. L.; YAMADA, P. H.; GONCALVES, J. A.; OLIVEIRA, K.; AMARANTE, A. F. T.; SOUTELLO, R. V. G. Efficacy of ivermectin, moxidectin and febendazole in equine in Brazil. **Veterinary Parasitology**, [S.I.], v. 20, p. 100374, 2020.

WALLER, P.J. Prospects for biological control of nematodes of parasites of ruminants. **New. Z. Vet. Jour.**, [S.I.], v.40, p.1-3, 1992.

## CAPÍTULO 2

### **Eficácia anti-helmíntica da moxidectina, ivermectina e doramectina+praziquantel em equinos naturalmente infectados**

Este manuscrito será submetido na revista Veterinary Parasitology. As normas da revista se encontram no endereço: <https://www.sciencedirect.com/journal/veterinary-parasitology/publish/guide-for-authors#toc-20>

## RESUMO

Com o crescente número de relatos de resistência anti-helmíntica à várias drogas disponíveis no mercado, tem-se a necessidade de avaliar a atual situação e a eficácia das drogas anti-helmínticas mais utilizadas, para eleger a melhor forma de tratamento no controle das helmintoses em equinos, considerando a possibilidade de associar diferentes classes farmacológicas, podendo ser uma estratégia para melhorar a efetividade das drogas. O objetivo do presente estudo foi avaliar a eficácia anti-helmíntica de diferentes lactonas macrocíclicas (ivermectina e moxidectina) e uma associação de doramectina + praziquantel em equinos naturalmente infectados. O experimento foi conduzido em 5 propriedades, utilizando 247 equinos, machos e fêmeas, que não receberam tratamento antiparasitário no mínimo 90 dias antes do início do estudo. Os animais foram distribuídos de forma homogênea em três grupos em duas propriedades (G1 Doramectina 1,71% + Praziquantel 23,43%, G2 Ivermectina 1,87% e G3 Moxidectina 2%) e dois grupos em três propriedades (G1 Doramectina 1,71% + Praziquantel, G2 Ivermectina 1,87%). Após a formação dos grupos, foi realizada a administração dos produtos por via oral nas doses recomendadas pelos fabricantes. Foram realizadas coletas de fezes individuais diretamente da ampola retal para contagem de ovos por grama de fezes (OPG) e coprocultura para posterior identificação das larvas infectantes no dia do tratamento anti-helmíntico (D0) e 14 dias após (D14) para avaliação da redução de OPG (R-OPG). Os dados obtidos foram submetidos à análise de eficácia individual do tratamento por meio do programa Shiny-egg Counts R version 3.6.1, sendo confirmada presença de resistência anti-helmíntica quando a porcentagem de R-OPG foi menor que 95%, e quando o limite de confiança inferior foi menor que 90%. A média geral do OPG inicial nas 5 propriedades foi 685 ovos por grama de fezes. Após 14 dias da administração de ivermectina, animais de duas propriedades (1 e 4) apresentaram R-OPG inferior a 90%, em duas propriedades (2 e 3) entre 90% e 95%, e em apenas uma propriedade (5) apresentaram R-OPG igual ou superior a 95%. Os resultados indicaram a presença de Ciatostomíneos com resistência à ivermectina em 80% das propriedades avaliadas. Por outro lado, o composto de doramectina + praziquantel foi eficaz nas cinco propriedades estudadas, promovendo R-OPG superior a 95% em todas. Sendo o único anti-helmíntico testado que promoveu R-OPG de 100%, apresentando esta máxima de redução em duas propriedades. Já a moxidectina também apresentou R-OPG superior a 95% nas duas propriedades (2 e 3) onde foi avaliada. Porém, em nenhuma foi observado R-OPG de 100%. As culturas fecais demonstram que inicialmente 100% dos animais de todas as propriedades apresentavam infecções por ciatostomíneos e em apenas uma delas, infecções mistas por ciatostomíneos e *Strongylus vulgaris*. Conclui-se que, foi possível comprovar a alta eficácia do anti-helmíntico com associação de praziquantel + doramectina no controle de pequenos e grandes estrôngilos, também a moxidectina demonstrou ser eficaz contra esses helmintos nos rebanhos onde foi utilizada, sendo detectada presença de resistência anti-helmíntica dos ciatostomíneos à ivermectina na grande maioria das propriedades avaliadas.

**Palavras-chave:** Equídeos, Helmintos gastrintestinais, Lactonas macrocíclicas, Resistência anti-helmíntica.

## ABSTRACT

With the growing number of reports of anthelmintic resistance to various drugs available on the market, there is a need to evaluate the current situation and the efficacy of the most commonly used anthelmintic drugs in order to choose the best form of treatment for the control of helminthiasis in horses, considering the possibility of associating different pharmacological classes, which could be a strategy to improve the effectiveness of the drugs. The aim of this study was to evaluate the anthelmintic efficacy of different macrocyclic lactones (ivermectin and moxidectin) and a combination of doramectin + praziquantel in naturally infected horses. The experiment was carried out on 5 farms, using 247 horses that had not received antiparasitic treatment at least 90 days before the start of the study. The animals were evenly distributed into three groups on two properties (G1 Doramectin 1.71% + Praziquantel 23.43%, G2 Ivermectin 1.87% and G3 Moxidectin 2%) and two groups on three properties (G1 Doramectin 1.71% + Praziquantel, G2 Ivermectin 1.87%). After the groups were formed, the products were administered orally in the doses recommended by the manufacturers. Individual faeces were collected directly from the rectal ampulla to count eggs per gram of faeces (OPG) and coproculture was carried out to identify the infective larvae on the day of anthelmintic treatment (D0) and 14 days later (D14) to assess the reduction in OPG (R-OPG). The data obtained was analysed for individual treatment efficacy using the Shiny-egg Counts R version 3.6.1 programme. Anthelmintic resistance was confirmed when the percentage of R-OPG was less than 95% and when the lower confidence limit was less than 90%. The overall average initial OPG on the five farms was 685 eggs per gram of faeces. After 14 days of ivermectin administration, animals on two properties (1 and 4) had R-OPG below 90%, on two properties (2 and 3) between 90% and 95%, and on only one property (5) did they have R-OPG equal to or greater than 95%. The results indicated the presence of cyathostomines with resistance to ivermectin in 80% of the properties evaluated. On the other hand, the doramectin + praziquantel compound was effective in all five properties studied, promoting R-OPG greater than 95% in all of them. It was the only anthelmintic tested that promoted R-OPG of 100%, showing this maximum reduction in two properties. Moxidectin also had an R-OPG of over 95% in the two properties (2 and 3) where it was evaluated. However, R-OPG of 100 per cent was not observed in any of them. The faecal cultures show that initially 100% of the animals on all the properties were infected with cyathostominae and only one of them had mixed infections with cyathostominae and *Strongylus vulgaris*. It was possible to prove the high efficacy of anthelmintics with a combination of praziquantel + doramectin in the control of small and large strongyles. Moxidectin also proved to be effective against these helminths in the herds where it was used, and anthelmintic resistance of cyathostomines to ivermectin was detected in the vast majority of the properties evaluated.

**Keywords:** Anthelmintic resistance, Equidae, gastrointestinal helminths, macrocyclic lactones.

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui o quarto maior rebanho de equinos do mundo, com aproximadamente 5,8 milhões de animais, ficando atrás apenas da China, México e Estados Unidos (IBGE, 2023). A equideocultura representa um campo repleto de oportunidades econômica e social do agronegócio brasileiro. Com um expressivo rebanho de equídeos, o setor gera mais de 3 milhões de empregos e movimenta R\$ 16 bilhões ao ano (IBEQUI, 2023).

A criação desses animais é, em sua maioria, realizada em pastagens, o que os torna mais suscetíveis a infecções por nematoides gastrintestinais, uma vez que o contato direto com o pasto, facilita a ingestão das larvas infectantes (HERNÁNDEZ et al., 2018). As condições climáticas também exercem um impacto significativo na carga parasitária, afetando diretamente o desenvolvimento das larvas nas pastagens, pois as altas temperaturas e a umidade favorecem as infecções por helmintos (SOUTELLO et al., 2025).

Estão descritas mais de 90 espécies de helmintos e os gêneros mais comuns de pequenos estrôngilos são os *Cyathostomum* spp. e *Cylicostephanus* spp. Outros nematodas que afetam equinos são os grandes estrôngilos: *Strongylus vulgaris*, *Strongylus equinus*, *Strongylus edentatus* e *Triodontophorus* spp. Além disso, temos os nematodas, como *Parascaris equorum*, *Oxyuris equi*, *Strongyloides westeri*, *Trichostrongylus axei* (MATHEWOS et al., 2021).

Todavia, a saúde e o bem-estar dos equinos podem ser comprometidos pelas helmintoses, que resultam em perdas econômicas significativas devido aos danos causados. Podem manifestar-se através de sinais clínicos como, perda de peso, cólicas, diarreia e, em casos mais severos, anemia ou morte (MARTINS et al., 2019; Alsahli et al., 2024).

As helmintoses são comumente controladas por meio da administração de anti-helmínticos, visando prevenir infecções nos equinos (SPINOSA et al., 2014). Porém, com inúmeros relatos de resistência anti-helmíntica à várias drogas convencionais disponíveis no mercado encontrados na literatura e mais recentemente, a baixa eficácia observada em alguns casos das lactonas macrocíclicas, tem-se a necessidade de encontrar formas eficientes para manter a utilização destes anti-helmínticos no controle de nematódeos em equinos (FAVARE et al., 2023; NIELSEN 2022; VERA et al., 2020; SAES et al., 2016; PEREGRINE et al., 2014).

A frequência e dosagem inadequada do tratamento é um dos principais fatores para o aumento da resistência do parasita aos anti-helmínticos. Outra questão importante em relação ao desenvolvimento da resistência é a refúgia dos nematóides gastrintestinais (KAPLAN e NIELSEN 2010; MATTHEWS 2014).

Com isso, a associação de diferentes bases farmacológicas pode, nesse sentido, melhorar a efetividade de algumas drogas, abrindo a possibilidade para a utilização de produtos compostos (LIFSCHITZ et al., 2010; LESPINE et al., 2012).

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia anti-helmíntica de diferentes lactonas macrocíclicas e uma associação com praziquantel em equinos naturalmente infectados, também a ação dos tratamentos na eliminação dos helmintos encontrados nos rebanhos avaliados.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

Este estudo foi certificado pelo comitê de ética animal (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas - UNESP– protocolo número 22/2022. O experimento foi desenvolvido de junho a dezembro de 2022 em 5 propriedades com criação de equinos, utilizando 247 animais adultos, machos e fêmeas através de nome, número ou resenha. Estes animais eram mantidos em pastagem, naturalmente infectados por helmintos e não receberam qualquer tipo de tratamento antiparasitário no mínimo 90 dias antes do início do estudo.

Foram utilizados animais que apresentaram resultados de OPG, a partir de 100, e descartados os animais que não apresentaram desafio (OPG=0 e OPG=50). Após a formação dos grupos, foi realizada a administração dos produtos, aplicados por via oral (pasta) nas doses recomendadas pelo fabricante de cada produto conforme o peso do animal aferido por balança ou fita de peso.

Os animais em cada propriedade foram distribuídos de forma homogênea, conforme o grau de parasitismo (OPG), sendo formado três grupos em duas propriedades e dois grupos em três propriedades. Grupo 1, os animais foram tratados com a associação de doramectina (1,71%) e praziquantel (23,43%), com cinco propriedades, disponível comercialmente como Doraequi® pela Vetnil. O Grupo 2, foram tratados com ivermectina (1,87%) na dose de 0,2 mg/kg, com cinco propriedades, disponível comercialmente como Equalan®, da Merial. O Grupo 3, foi tratado com moxidectina (2%) na dose de 0,4 mg/kg, com três propriedades, disponível comercialmente como Equest® pela Zoetis, Tabela 1.

Tabela 1 – Grupos, anti-helmínticos e doses utilizados nas propriedades estudadas.

<b>Grupo</b>	<b>Drogas</b>	<b>Concentração/dose</b>	<b>Nome comercial</b>
<b>1</b>	DORAMECTINA + PRAZIQUANTEL (5 propriedades)	Doramectin 1,71% Praziquantel 23,43%	Doraequi® Vetnil
<b>2</b>	IVERMECTINA (5 propriedades)	Ivermectina 1,87% 0,2 mg/kg	Equalan® Merial
<b>3</b>	MOXIDECTINA (3 propriedades)	Moxidectina 2% 0,4 mg/kg	Equest® Zoetis

Durante o período experimental não foi realizado nenhum outro tratamento antiparasitário além dos anti-helmínticos utilizados no estudo. Os animais permaneceram no mesmo lote e ambiente onde estavam anteriormente.

### **2.1 Coleta de fezes, coprologia qualitativa e quantitativa**

As coletas de fezes ocorreram no D0 e D14, diretamente da ampola retal de cada animal, acondicionadas em sacos plásticos e mantidas em caixa térmica, até a chegada no laboratório, permanecendo refrigeradas até o momento das análises, que ocorreram sempre no mesmo dia. Foram realizados exames para contagem de ovos por grama de fezes (OPG) utilizando-se câmara de McMaster, segundo a técnica de Gordon e Whitlock (1939) modificada. A técnica para o OPG constituiu-se em diluir 4 gramas de fezes, previamente homogeneizadas, em 56 ml de solução salina hipersaturada para a suspensão dos ovos. A amostra foi homogeneizada, adicionada a uma câmara de McMaster. A determinação da redução das contagens de OPG (R-OPG) dos animais tratados com anti-helmíntico foi calculada com base nas médias aritméticas após o tratamento em relação ao OPG inicial de cada tratamento (COLES, 1992, 2006). Também foi realizado o cultivo de fezes para extração das larvas infectantes pelo método de Roberts e O'Sullivan (1950) e posterior identificação pela chave de Madeira de Carvalho (2001). Quatorze dias após a administração do anti-helmíntico, o exame fecal e as coproculturas foram repetidos.

## 2.2 Análises de dados

A análise dos dados foi realizada utilizando o programa Shiny-egg Counts na versão 3.6.1 do R (Torgerson et al., 2014) (disponível em <http://shiny.math.uzh.ch/user/furrer/shinyas/shiny-eggcounts/>). Com base nas contagens de ovos por grama (OPG) antes e depois do tratamento, o índice de redução de contagem de ovos fecais (FECR) foi calculado para cada propriedade, e os resultados foram interpretados de acordo com as diretrizes emitidas pela American Association of Equine Practitioners (Nielsen et al., 2019; Nielsen et al., 2022). A resistência foi declarada quando a porcentagem de FECR era inferior a 95% e quando o limite inferior de confiança (LCI) era inferior a 90%.

## 3. RESULTADOS

A quantidade de equinos utilizados foi em média 50 cabeças por propriedade, apresentando uma média geral dos animais de 685 OPG no D0. Considerando os valores de redução de ovos e limite de confiança inferior (LCI), os resultados encontrados em quatro das cinco propriedades (1,2,3 e 4) analisadas apontaram sinais claros de resistência anti-helmíntica à ivermectina. Após quatorze dias da administração de ivermectina, animais de duas propriedades (1 e 4) apresentaram R-OPG inferior a 90%, em duas propriedades (1 e 4) entre 90% e 95%, e em apenas uma propriedade (5) apresentaram R-OPG igual ou superior a 95%. Os resultados indicaram a presença Ciatostomíneos com resistência à ivermectina em 80% das propriedades avaliadas (Tabela 2).

Por outro lado, o composto de doramectina + praziquantel foi eficaz nas cinco propriedades estudadas, promovendo R-OPG superior a 95% em todas. Sendo o único anti-helmíntico testado que promoveu R-OPG de 100%, apresentando esta máxima de redução em duas propriedades (2 e 5).

Já a moxidectina também apresentou R-OPG superior a 95% nas duas propriedades (2 e 3) onde foi avaliada. Porém, em nenhuma foi observado R-OPG de 100% (Tabela 2).

Tabela 2 - Contagem média de ovos por grama de fezes (OPG) no dia do tratamento com Ivermectina, Doramectin + Praziquantel e Moxidectina (OPG 1), quatorze dias após (OPG 2), valores mínimos e máximo de OPG, percentual de redução dos valores de OPG (R- OPG), quatorze dias após o tratamento.

Prop	N	Ivermectina				Doramectin + Praziquantel				Moxidectina			
		OPG		R-OPG	Int.Conf	OPG		R-OPG	Int.Conf	OPG		R-OPG	Int.Conf
D0	D14	D0	D14			D0	D14			D0	D14		
1	20	553 (100-2050)	65 (0-500)	88,6%	82-92	528 (100-1150)	23 (0-150)	95,5%	92-98				
2	20	500 (250-850)	28 (0-150)	94,4%	90-97	503 (250-1150)	0	100%	(-1) - 1	515 (200-1200)	10 (0-100)	97,9%	95 - 99
3	21	1110 (500-3000)	93 (0-550)	91,4%	88-94	1169 (500-2800)	43 (0-300)	96,4%	94-98	1188 (500- 2550)	31 (0-200)	97,5%	96 - 99
4	20	533 (100-1650)	60 (0-400)	89,0%	83-93	540 (100-1700)	15 (0-200)	97,3%	95-98				
5	22	530 (150-1400)	9 (0-100)	98,2%	96-99	509 (100-1600)	0	100%	(-1) 1				

A identificação das larvas infectantes obtidas das coproculturas possibilitou identificar larvas L3 da Família *Strongylidae* (estrôngilos): grandes estrôngilos (Subfamília. *Strongylinae*, denominação comum: *estrongilíneo*) e pequenos estrôngilos (Subfamília *Cyathostominae*, denominação comum: *ciatostomíneo*).

As culturas fecais demonstram que no dia do tratamento (D0), 100% dos animais de todas as propriedades apresentavam infecções por *ciatostomíneos* e em apenas uma delas, infecções mistas por *ciatostomíneos* e *Strongylus vulgaris*. Sendo essa espécie detectada somente na propriedade 5, com 7% de prevalência no grupo 1 e 4% no grupo 2, onde foi relatado o último tratamento anti-helmíntico a pelo menos 6 meses antes da realização do presente estudo. No entanto, em todas as propriedades avaliadas, apenas *ciatostomíneos* continuaram sendo encontrados após o tratamento com os anti-helmínticos no D14, demonstrando assim ainda a sensibilidade dos grandes estrôngilos às drogas utilizadas, Tabela 3.

Tabela 3 - Valores percentuais de larvas infectantes de pequenos e grandes estrôngilos recuperadas a partir de coproculturas com fezes de animais no D0 e D14 pertencentes aos grupos Ivermectina, Doramectina + Praziquantel e Moxidectina de Junho de 2022 a Dezembro de 2022, em 5 propriedades.

Prop	N	Pequenos Estrôngilos						Grandes Estrôngilos					
		D0			D14			D0			D14		
		Iver	Dora	Moxi	Iver	Dora	Moxi	Iver	Dora	Moxi	Iver	Dora	Moxi
1	20	100%	100%	-	100%	100%	-	0%	0%	-	0%	0%	-
2	20	100%	100%	100%	100%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
3	21	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
4	20	100%	100%	-	100%	0%	-	0%	0%	-	0%	0%	-
5	22	96%	93%	-	100%	100%	-	4%	7%	-	0%	0%	-

#### 4. DISCUSSÃO

Todas as propriedades utilizadas no estudo pertencem à mesma região, mas cada uma apresenta características próprias e com desafios distintos. Segundo Soutello, et al. (2025), as condições climáticas influenciam diretamente o

desenvolvimento das larvas na pastagem, impactando assim a dinâmica de infecção nos equinos.

Os animais utilizados no presente estudo, de maneira geral, apresentaram intensidade de infecção parasitária elevada, com média de 685 OPG. Segundo a classificação de Reinemeyer (2009) e Saes (2022), contagens de ovos de 200 a 500 são consideradas moderadas e acima de 500 podem ser consideradas infecções altas e maciças. Porém, existem controvérsias no que diz respeito à associação entre contagens elevadas de OPG e a ocorrência de problemas clínicos. Em experimento com equinos, avaliados por 12 meses, que estavam infectados com ciatostomíneos e *S. vulgaris*, Sartori et al. (1993) não detectaram qualquer problema clínico ou alterações hematológicas em animais de um grupo controle, mantidos sem tratamento com anti-helmíntico, que apresentaram em média contagens entre 840 e 2230 de OPG ao longo do experimento.

No presente estudo nenhum dos animais apresentou sinais clínicos de verminose, concordando com as observações de Sartori et al. (1993). Em casos de infecções fatais causadas por ciatostomíneos, diarreia líquida, aumento abdominal, inapetência, polidipsia e fraqueza são os principais sinais relatados (Bianchi et al., 2019).

O fato de a grande maioria das propriedades terem apresentado resistência anti-helmíntica à ivermectina, demonstrada pela R-OPG inferior a 95% (Coles, 1992, 2006), pode estar relacionada com o uso indiscriminado desta droga, que quando utilizada frequentemente favorece o surgimento de populações com resistência (Kaplan, 2004). A ivermectina é considerada atualmente o anti-helmíntico mais utilizado no controle das helmintoses (Alegría-López et al. 2015), o que pode ter contribuído para a baixa eficácia deste em nossa pesquisa.

A presença de ciatostomíneos resistentes à ivermectina, que foi observada na maioria das propriedades avaliadas é atualmente um problema recorrente, uma vez que a resistência à ivermectina já foi relatada em vários países (Favare et al., 2023; Nielsen et al., 2020; Cooper et al., 2020; Vera et al., 2020; Canever et al. 2013) e no Brasil poucos relatos robustos foram apontados. Dados obtidos no presente estudo podem ser considerados relevantes, visto que os ciatostomíneos são classificados como de suma importância devido a sua prevalência, potencial patogênico e pela sua capacidade de desenvolver resistência anti-helmíntica (Lester et al., 2014). Pôde-se dizer que a resistência anti-helmíntica dos ciatostomíneos já é bem disseminada para

benzimidazóis e pirimidinas (Peregrine et al., 2014; Vera, 2020). No entanto, nos últimos tempos, as lactonas macrocíclicas ainda têm sido indicadas como forma eficaz no tratamento das helmintoses, colaborando para a frequência constante do seu uso (Nielsen et al., 2019; Esccap 2019; Rendle et al., 2019). Outros autores também relataram a continuação da eficácia das avermectinas (Kaplan 2002, Slocombe et al., 2008), estimulando a indústria na produção de anti-helmínticos desta categoria. Porém, alguns estudos já apontaram ciatostomíneos resistentes a essas drogas (Trawford et al., 2005; Traversa et al., 2009). Tal fato pode ser evitado com a combinação de drogas de diferentes categorias (Lifschitz et al., 2010; Prichard et al., 2012). Como foi observado no presente estudo com a alta eficácia do anti-helmíntico composto por doramectina+praziquantel, mesmo em rebanhos que apresentaram resistência à ivermectina.

Na propriedade onde foram encontradas larvas de *S. vulgaris*, os proprietários relatam que a última administração de anti-helmíntico foi realizada a mais de seis meses, o que permitiria ao parasita completar o seu desenvolvimento, pois o mesmo apresenta período pré-patente longo, de 6 a 7 meses (Duncan e Love, 1990; Andersen et al., 2013). Esses resultados revelam que longos intervalos entre os tratamentos com anti-helmínticos podem favorecer a manutenção e/ou reaparecimento de *S. vulgaris*, que é considerado um parasita altamente patogênico (Austin, 1994; Andersen et al., 2013).

No presente estudo, foi encontrado larvas de *S. vulgaris* em apenas um quinto das propriedades, onde pôde-se observar uma relação direta com o intervalo da última administração de anti-helmíntico, já que o *S. vulgaris*, é considerado sensível às lactonas (Vera et al., 2020).

No entanto, uso frequente e indiscriminado da ivermectina acaba favorecendo o desenvolvimento da resistência anti-helmíntica, principalmente dos ciatostomíneos (Vera et al., 2020; Kaplan, 2004). Tudo isso indica a importância do uso de novas propostas de tratamento seletivo de animais que apresentam alta carga parasitária (Nielsen et al., 2006), não realizando tratamento dos animais que se mantêm com valores baixos de OPG.

Estratégias alternativas estão sendo desenvolvidas e implementadas com o objetivo de promover a prevenção e o tratamento de nematoides gastrintestinais, com buscando minimizar o uso de anti-helmínticos sintéticos. Dentro desse contexto, algumas abordagens incluem técnicas adequadas de manejo de animais, como o

pastejo rotacionado, e a descontaminação prévia das pastagens (Hoste; Torres-Acosta, 2011). Além disso, o controle biológico com fungos nematófagos (Carmo et al., 2023; Fausto et al., 2021), e o uso da fitoterapia (Hoste et al., 2006) são exemplos de estratégias atualmente em aplicação como alternativas no controle parasitário.

## **5. CONCLUSÃO**

Conclui-se que a associação de doramectina e praziquantel apresenta alta eficácia no controle de helmintoses equinas. Embora a moxidectina permaneça eficaz nos rebanhos avaliados, observou-se a presença de resistência anti-helmíntica de ciatostomíneos à ivermectina, sendo estes os parasitas mais prevalentes entre os strongilídeos encontrados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEGRÍA-LÓPEZ, M.A., RODRÍGUEZ-VIVAS, R.I., TORRES-ACOSTA, J.F., OJEDACHI, M.M., ROSADO-AGUILAR, J.A. 2015. Use of ivermectin as endoparasiticide in tropical cattle herds generates resistance in gastrointestinal nematodes and the tick *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **J. Med. Entomol.** 52(2), 214-221.

ALSAHLI W, ALHAZZAA A, ALOTAIBI R, ALOTAIBI D, ALDOSARI R, AL-MEGRIN W A I. 2024. Prevalence of different gastrointestinal parasite horse infections in Riyadh, Saudi Arabia. **Biodiversity research journal.** 1, (2); 57-65.

ANDERSEN, U. V.; HOWE, D. K.; DANGOUDOUBIYAM, S.; TOFT, N.; REINEMEYER, C. R.; LYONS, E. T. 2013. SvSXP: a *Strongylus vulgaris* antigen with potential for prepatent diagnosis. **Parasites & Vectors**, London, v. 6, p. 84.

AUSTIN, S. M. 1994. Large strongyles in horses. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian, [S.l.], v. 16, n. 5, p 650-657.

BIANCHI, M. V.; MELLO, L. S.; WENTZ, M. F.; PANZIERA, W.; SOARES, J. F., SONNE, L.; DRIEMEIER, D.; PAVARINI, S. P. 2019. Fatal parasite-induced enteritis and typhlocolitis in horses in Southern Brazil. ver. Bras. **Parasitolo. Vet.**, v. 28, n. 3, p. 443-450.

CANEVER, R.J., BRAGA, P.R.C., BOECKH, A., GRYCAJUCK, M., BIER, D., MOLENTO, M.B. 2013. Lack of Cyathostomin sp. reduction after anthelmintic treatment in horses in Brazil. **Veterinary Parasitology.** 194.35-39.

CARMO, T. A., MENA, M. O., CIPRIANO, I. A., FAVARE, G. M., GUELPA, G. J., PINTO, S. C., AMARANTE, A. F. T., ARAÚJO, J. V., & SOUTELLO, R. V. G. 2023. Biological control of gastrointestinal nematodes in horses fed with grass in association with nematophagous fungi *Duddingtonia flagrans* and *Pochonia chlamydosporia*. **Biological Control**, 182, 105219.

COLES, G.C. et al. 1992. World association for the advancement of veterinary parasitology (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v.44, p.35–44. [6](#)

COLES, G.C., JACKSON, F., POMROY, W.E., PRICHARD, R.300 K., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., SILVESTRE, A., VERCRUYSSSE, J. 2006. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, 136(3-4), 167-185.

COOPER, L.G., CAFFE, G., CERUTTI, J., NIELSEN, M.K., ANZIANI, O.S. 2020. Reduced efficacy of ivermectin and moxidectin against *Parascaris* spp. in foals from Argentina. **Vet. Parasitol.: Reg. Stud. Rep.** 20, 100388.

DUNCAN, J.L., LOVE, S., 1990. Strongylose équine à *S. vulgaris*. **Point. Vet.** 21, 17–25.

ESCCAP, 2019. A Guide to the Treatment and Control of Equine Gastrointestinal Parasite Infections, second ed. European Scientific Counsel Companion Animal Parasites. Online at. [https://www.esccap.org/uploads/docs/rtjqmu6t\\_0796\\_ESCCAP\\_Guide\\_Guide\\_GL8\\_v7\\_1p.pdf](https://www.esccap.org/uploads/docs/rtjqmu6t_0796_ESCCAP_Guide_Guide_GL8_v7_1p.pdf).

FAUSTO, G. C., FAUSTO, M. C., VIEIRA, Í. S., FREITAS, S. G., CARVALHO, L. M., OLIVEIRA, I. C., SILVA, E. N., CAMPOS, A. K., & ARAÚJO, J. V. (2021). Formulation of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in the control of equine gastrointestinal parasitic nematodes. **Veterinary Parasitology**, 296, 109458–109464.

FAVARE, G. M. DE; CIPRIANO, I. A.; CARMO, T. A. DO; MENA, M. O.; GUELPA, G. J.; AMARANTE, A. F. T. DO; SOUTELLO, R. V. G. Anthelmintic resistance of horse strongyle nematodes to ivermectin in São Paulo state, Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 41, p. 100864, jun. 2023.

GORDON, H.M., & WHITLOCK, H.V. (1939). A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *Journal. Council for Scientific and Industrial Research*, 12, 50-52.

HOSTE, H. et al. 2006. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. **Trends in Parasitology**, v.22, n.6, p.253- 261.

HOSTE, H.; TORRES-ACOSTA, J.F.J. 2011. Non chemical control of helminthes in ruminants: adapting solutions for changing worms in a changing world. **Veterinary parasitology**, v. 180, n. 1, p. 144-154.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Rebanho de Equinos (Cavalos) no Brasil*. 2024. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/equinos/br>. Acesso em: 31 jan. 2025.

INSTITUTO BRASILEIRO DE EQUIDECULTURA. O Brasil é dos cavalos. 2021. Disponível em: [https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-setoriais/equideocultura/reuniao-ordinaria-da-cs-equideocultura/37a-ro/ibequi\\_perfil\\_fev21.pdf](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-setoriais/equideocultura/reuniao-ordinaria-da-cs-equideocultura/37a-ro/ibequi_perfil_fev21.pdf). Acesso em: 10 jan. 2025.

KAPLAN, R. M. 2002. Anthelmintic resistance in nematodes of horses. **Veterinary Research**, Les Ulis, v. 33, n. 5, p. 491-507, Sept./Oct.

KAPLAN, R.M. 2004. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. **Trends in Parasitology**, v. 20, n.1), p. 477-481.

KAPLAN, R.M., NIELSEN, M.K, 2010. An evidence-based approach to equine parasite control: It ain't the 60s anymore. **Equine Veterinary Education**, 22,306-316.

LESTER, H. E.; SPANTON, J.; STRATFORD, C. H.; BARTLEY, D. J.; MORGAN, E. R.; HODGKINSON, J. E.; COUMBE, K.; MAIR, T.; SWAN, B.; LEMON, G.; COOKSON, R.; MATTHEWS, J. B. 2014. Anthelmintic efficacy against cyathostomins in horses in Southern England. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 197, n. 1–2, p. 189-196.

LIFSCHITZ A, SUAREZ VH, SALLOVITZ J, CRISTEL SL, IMPERIALE F, AHOUSSOU S, SCHIAVI C, LANUSSE C. Nematóides bovinos resistentes a lactonas macrocíclicas: efeitos comparativos da modulação da glicoproteína P na eficácia e cinética de disposição da ivermectina e moxidectina. **Experimental Parasitology**. Junho de 2010; 125(2):172-8. DOI: 10.1016/j.exppara.2010.01.009. Epub 2010 28 de janeiro. PMID: 20109455.

MADEIRA DE CARVALHO, L. M. Epidemiologia e controlo da estrogilidose em diferentes sistemas de produção equina em Portugal. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa. 128-373f, 2001.

MARTINS, M.S.S. AND MARTINS, I.V.F., 2019. Padronização do teste de eclodibilidade de ovos: diagnóstico in vitro da resistência ao albendazol em nematoides gastrintestinais, *Iniciação Científica CESUMAR*, 21(2), 125-130.

MATTHEWS, J.B, 2014. Anthelmintic resistance in equine nematodes. **International Journal Parasitology**, 4(3), 310-315.

MATHEWOS, M., GIRMA, D., FESSEHA, H., YIRGALEM, M., & ESHETU, E. (2021). Prevalence of gastrointestinal helminthiasis in horses and donkeys of Hawassa District, Southern Ethiopia. **Veterinary Medicine International**, 2021.

MOLENTO, M.B. Resistência parasitária em helmintos de equídeos e propostas de manejo. **Ciência Rural**, v.35, n.6, p.1469-1477, 2005.

NIELSEN, M. K.; MONRAD, J.; OLSEN, S. N. Prescription-only anthelmintics: a questionnaire survey of strategies for surveillance and control of equine strongyles in Denmark. **Veterinary Parasitology**, v. 135, n. 1, p. 47-55, 2006.

NIELSEN, N.K., BANAHAN, M., KAPLAN, R.M., 2020. Importation of macrocyclic lactone resistant cyathostomins on a US thoroughbred farm. *Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resistance*. 14, 99–104..

NIELSEN, M.K., SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., KUZMINA, T.A., DOORN, D.C.K.V., MEANA, A., REHBEIN, S., ELLIOT, T., REINEMEYER, C.R., 2022. World association for the advancement of veterinary parasitology (WAAVP): third edition of guideline for evaluating the efficacy of equine anthelmintics. **Veterinary Parasitology**. 303 <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2022.109676>.

NIELSEN, M. K.; REINEMEYER, C. R.; DONECKER, J. M.; LEATHWICK, D. M.; Anthelmintic resistance in equine parasites—Current evidence and knowledge gaps. **Veterinary Parasitology**, v.204, p.55-63, 2014.

PEREGRINE, A., Molento, Kaplan, R., Nielsen, M. Anthelmintic resistance in important parasites of horses: does it really matter? **Veterinary Parasitology**. 201(1-2), 1-8, 2014.

PRICHARD, R; MÉNEZ, C; LESPINE, A. Moxidectin and the avermectins: 584 938 Consanguinity but not identity. **Internacional Journal Parasitology Drugs Drug Research.**, v. 2, p. 134-153, 2012.

REINEMEYER, C. R. Diagnosis and control of anthelmintic-resistant *Parascaris equorum*. *Parasites & Vectors*, London, v.2, n.2, p.1-8, 2009.

SILVA, A. P. S. P. Panorama da equinocultura no Rio Grande do Sul. *Informativo Técnico*, v. 5, n. 5, p. 1-9, 2014.

RENDLE, D.; AUSTIN, C.; BOWEN, M.; CAMERON, I.; FURTADO, T.; HODGKINSON, J.; MCGORUM, B.; MATTHEWS, J. Equine de-worming: a consensus on current best practice. **UK-Vet Equine**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 1–14, 2019.

ROBERTS, F. H. S.; O'SULLIVAN, P. J. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastro-intestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 1, n. 1, p. 99-102, 1950.

VERA, J. H. S.; FACHIOLLI, D. F.; RAMIRES, L. M.; SAES, I. L.; YAMADA, P. H.; GONCALVES, J. A.; OLIVEIRA, K.; AMARANTE, A. F. T.; SOUTELLO, R. V. G.

Efficacy of ivermectin, moxidectin and febendazole in equine in Brazil. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 20, p. 100374, 2020.

SAES, I. L.; VERA, J. H. S.; FACHIOILLI, D. F.; YAMADA, P. H.; DELLAQUA, J. V. T.; SAES, R. L.; AMARANTO, A. F.; SOUTELLO, R. V. G. Tempo necessário para diferentes anti-helmínticos atingirem os níveis de eficácia esperados em equinos infectados por estrogilídeos. **Parasitologia veterinária**, v. 229, p. 90-92, 2016.

SAES, I. L., GONÇALVES, J. A., DO CARMO, T. A., MENA, M. O., CIPRIANO, I. D. A., DE FAVARE, G. M., BELLO, H. J. S., GUELPA, G. J., & SOUTELLO, R. V. G. (2022). Seasonality and dynamics of gastrointestinal helminths in grazing horses. **Acta Veterinaria-Beograd**, 72(1), 131-144.

SARTORI FILHO, R.; AMARANTE, A. F. T.; OLIVEIRA, M. R. 1993. Efeito de medicações anti-helmínticas com ivermectin e febendazole em equinos: exames coprológicos e hematológicos. **Revista Brasileira de Parasitologia Vet.**, v. 2, n. 1, p. 61-64.

SLOCOMBE, J. O.; COTÉ, J. F.; GANNES, R. V. The persistence of benzimidazoleresistant cyathostomes on horse farms in Ontario over 10 years and the effectiveness of ivermectin and moxidectin against these resistant strains. **Canadian Veterinary Journal**, v.49, p. 56-60, 2008.

SOUTELLO, R. V. G. DE, ROMÃO, D. S., DO CARMO, T. A., DE FAVARE, G. M., PAGNOZZI, F. C., & DE ALMEIDA CIPRIANO, I. Seasonal dynamics of gastrointestinal helminths in naturally infected horses in Brazil. **Veterinary Parasitology**, 110, 110358. 2025.

SPINOSA, H., GÓRNIAK, S., BERNARDI, M., 2014. Farmacologia aplicada à medicina Veterinária. (Reimpr). Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 501-530.

STOKES, L. ESCCAP summer update 2019. **The Veterinary Nurse**, v. 10, n. 6, p. 334-335, 2019. DOI: 10.12968/vetn.2019.10.6.334.

TORGERSON, P.R., PAUL, M., FURRER, R. 2014. Evaluating fecal egg count reduction using a specifically designed package "eggCounts" in R and the user friendly web interface. **Int J.** 44, 299–303.

TRAVERSA, D. Species-specific identification of equine cyathostomes resistant to fenbendazole and susceptible to oxibendazole and moxidectin by macroarray probing. **Experimental Parasitology**, v. 121, n. 1, p. 92-95, jan. 2009.

TRAWFORD, A.F., BURDEN, F.A. AND HODGKINSON, J.E., 2005. Suspected moxidectin resistance in cyathostomes in two donkey herds at the Donkey Sanctuary, UK. Proceedings of the 20th International Conference of the World, (Association for Advancement of Veterinary Parasitology, Christchurch, New Zealand).

### **CAPÍTULO 3**

#### **Exploring the use of helminthophagous fungi in the control of helminthoses in horses: a review**

Artigo publicado na revista *Animals*, no dia 18/03/2025.

<https://doi.org/10.3390/ani15060864>

## Exploring the use of helminthophagous fungi in the control of helminthoses in horses: a review

Tábata Alves do Carmo<sup>1\*</sup>, Júlia dos Santos Fonseca<sup>2</sup>, Fabio Ribeiro Braga<sup>3</sup>, Adolfo Paz-Silva<sup>4</sup>, Ricardo Velludo Gomes de Soutello<sup>5</sup> and Jackson Victor de Araújo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Veterinary Medicine, Federal University of Viçosa – UFV, Viçosa-MG, 36570-900, Brazil; tabata.carmo@ufv.br; jvictor@ufv.br

<sup>2</sup> Department of Epidemiology and Public Health, Federal Rural University of Rio de Janeiro - UNFRJ, Seropédica-RJ, 23890-000, Brazil; juliafonseca@ufrj.br

<sup>3</sup> Laboratory of Experimental Parasitology and Biological Control, Vila Velha University - UVV, Vila Velha-ES, 29102-920, Brazil; fabio.braga@uvv.br

<sup>4</sup> Department of Animal Pathology, University of Santiago de Compostela - USC, Lugo-Galícia,, Spain; adolfo.paz@usc.es

<sup>5</sup> School of Agrarian and Technological Sciences, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Dracena-SP, 17900-000, Brazil; ricardo.vg.soutello@unesp.br

\* Correspondence: tabata.carmo@ufv.br

### Abstract

Equine farming faces growing challenges with helminthoses, aggravated by the indiscriminate use of anthelmintics without technical criteria that favors resistance to these drugs, generating residues in animal products, compromising food safety and human health, and, when excreted in large quantities, negatively impacting environmental health by affecting invertebrates and fecal microorganisms, highlighting the importance of the One Health approach. A promising alternative is biological control with nematophagous or helminthophagous fungi such as *Duddingtonia flagrans*, *Pochonia chlamydosporia*, *Arthrobotrys oligospora*, *Monacrosporium thaumasium*, *Mucor circinelloides* and *Purpureocillium lilacinum*. Because they have different mechanisms of action, ovicidal and predatory fungi, when used together, can have a complementary and synergistic action in the biological control of helminths, enhancing the results in the control of helminth infections. The use of these fungi through biosynthesized nanoparticles from fungal filtrates is also emerging as a new approach to nematode control. It can be administered through feed supplementation in commercial formulations. This review aims to explore the use of helminthophagous fungi in the control of helminthoses in horses, highlighting their potential as a biological

alternative. It also aims to understand how these fungi can contribute effectively and sustainably to parasite management in horses.

**Keywords:** Biological control; Chlamydozoospores; Nematodes; Equine. Nematophagous fungi.

## 1. Introduction

Businesses involving the breeding and utilization of horses play a crucial role in both developed and developing countries. The relevance of horses extends across several areas, being important for the economy, culture and science, in different social and productive contexts [1].

A large part of equine breeding is carried out under an extensive regime, in which the animals are kept on pasture, almost all of which is contaminated with infective larvae and helminth eggs, which constantly favors helminthoses [2]. Parasitic diseases occupy a prominent place among the factors that interfere with the full development of animal production, especially those caused by endoparasites, which have a high prevalence and wide geographical distribution [3]

Depending on the degree of parasite burden, helminths can cause anything from minor abdominal discomfort, weakness, rough coat, growth retardation, anemia, to fulminant episodes of colic, which can lead to the animal's death [4].

Parasite control in horses on most farms is carried out exclusively using commercial antiparasitic compounds, due to their practicality, high efficiency, excellent cost-benefit ratio and ease of acquisition. However, these products are used in a suppressive and indiscriminate manner and without the association of appropriate control strategies, leading to the selection of resistant parasite populations [5].

Nematophagous or helminthophagous fungi, widely studied as natural predators of helminths, are cosmopolitan microorganisms that occur naturally in the soil, where they act as saprophytic or parasitic agents [6]. Based on their mechanism of action, fungi are classified as endoparasitic, opportunistic, toxin-producing and predatory [7,8]. The use of these fungi as biological controllers of parasites is widely described in the literature, with results that accredit the use of these organisms as an important tool to help control helminthoses, thus reducing the strict dependence on conventional chemical control [9,10].

This review aims to explore the use of helminthophagous fungi in the control of helminthoses in horses, highlighting their potential as a biological alternative. Thus, understanding how these fungi can contribute effectively and sustainably to equine parasite management.

## 2. Literature review

### 2.1 Gastrointestinal helminths in horses

The parasite burden in horses comprises several families and genera, among which the strongylid nematodes stand out as the most prevalent. Of the 83 species described, the majority belong to the Strongylidae family and include the most common nematodes of economic importance to horses [11].

Strongylids are usually identified as endoparasites of the large intestine of horses, where they reach adulthood and sexual maturity. The free-living larvae develop in the pasture and the animals become infected during grazing, as they can also become infected in the stable by ingesting contaminated bedding and hay [12]. Small strongyles, known as cyathostomins, are considered the most important helminths due to their prevalence, pathogenic potential and ability to develop anthelmintic resistance [13]. These can parasitize horses of all ages, but are more pathogenic in young animals [14,15]. The most common genera of small strongyles are *Cyathostomum* spp. and *Cylicostephanus* spp. Other nematodes that affect horses are the large strongyles: *Strongylus vulgaris*, *Strongylus equinus*, *Strongylus edentatus* and *Triodontophorus* spp. In addition, there are nematodes such as *Parascaris equorum*, *Oxyuris equi*, *Strongyloides westeri*, *Trichostrongylus axei* [16]. The genus *Dictyocaulus* belongs to the phylum Nematelminthes and the class Nematoda, affecting the lungs of vertebrates. *Dictyocaulus arnfieldi* is the lungworm that parasitizes horses and is found all over the world [17]. *Fasciola hepatica* is a parasite that belongs to the class Trematoda of the order Digenea and has a wide worldwide distribution [18]. From the Cestoda class, belonging to the Anoplocephalidae family, the species *Anoplocephala magna*, *Anoplocephala perfoliata* and *Paranoplocephala mamillana* are known to be relevant to horses [19].

The severity of the clinical signs caused by parasitic helminth infections varies according to the number of larvae, the number of arteries affected and the immune system of the affected animal [20]. These include anemia, fever, loss of appetite,

weight loss, apathy, colic, dull hair, growth retardation, diarrhea and the possibility of death [20,21].

Climatic conditions have a significant impact on the helminth burden in horses, directly influencing the development of larvae in pastures. During spring and summer, high temperatures and rainfall favor greater proliferation of larvae, resulting in greater contamination of the environment and, consequently, in horses. In the dry season, the opposite happens. The water period is characterized by an increase in helminth infection rates, which makes strategic helminth control even more necessary [22,23].

## **2.2 Anthelmintic resistance**

The antiparasitic drugs used to control helminths in horses are predominantly grouped into four chemical classes: imidazothiazoles, benzimidazoles, pyrimidines and macrocyclic lactones. Rotation between these classes is widely adopted by breeders in order to minimize the impact of helminths on animal health and mitigate the risk of parasite resistance [24]. Among these, macrocyclic lactones are recognized as the most widely used class of anthelmintics [25].

In recent decades, the indiscriminate use of these drugs has contributed to the emergence of anthelmintic-resistant nematode populations, especially those belonging to the Cyathostominae subfamily, seriously threatening equine health, welfare and production in various locations around the world [26,27, 28,29,30].

The current global situation is one of resistance to most of the classes of commercial anti-parasitic drugs available on the market [31]. Anthelmintics are often administered without technical criteria, empirically and indiscriminately, with additional implications for the efficacy of these products, causing anthelmintic resistance to emerge and spread [32,33]. Drug resistance is hereditary, and repeated dosing will therefore select for an increasing proportion of resistant parasites. The mechanisms involve differences in the metabolism of the anthelmintic within the parasite and/or mutations in the binding site of the drug molecule [34].

It is therefore extremely important to develop new forms of parasite control, promoting a reduction in the number of infective larvae in pastures. This will reduce reinfection of animals and consequently reduce the use of anthelmintics [2,35].

## 2.3 Helminthophagous fungi

### 2.3.1 Virulence mechanisms

More than 150 species of helminthophagous fungi have been catalogued. These fungi are also known as helminth destroyers [36]. Research using fungi to control nematodes has been gradually increasing (35,37,38,39,40). From an ecological point of view, the interaction between these fungi and nematodes can contribute to the maintenance and stability of the infective forms of helminths present in pastures [41,42].

According to [43] helminthophagous fungi can be divided into five groups: predators, opportunists or ovicides, endoparasites, toxin producers and producers of special attack devices. Fungi in the first group produce modified hyphae called traps, with which they bind and digest nematode larvae by a mechanical/enzymatic process. Fungi belonging to the ovicidal group produce hyphae, appressoria and enzymes that digest helminth eggs. Thus, they are the two groups that work best in the predation of helminth parasites of animals [2,44]. On the other hand, the enzymatic activity of these organisms has aroused great interest in studies in different countries. For example, in China, a recombinant protein from *Arthrobotrys oligospora*, one of the widely studied nematode-catching fungi, has been shown to have high chitinase activity and is capable of degrading the chitin of both the infective stages and the eggshell of the following helminth species *Strongylus equinus*, *Caenorhabditis elegans* and *Haemonchus contortus*, and the eggshell of the trematodes *F. hepatica* and *Dicrocoelium chinensis* [45].

Helminthophagous fungi, widely studied because they are natural enemies of helminths, are cosmopolitan microorganisms that naturally occur in the soil, where they act as saprophytic agents or as parasites [6,46]. The interaction between fungi and the pre-parasitic stages (eggs and/or larvae) of helminths induces morphogenesis and virulence gene expression in these fungi, signaling the transition from the saprophytic stage to the phagocytic stage [2,47].

Predatory fungi develop specialized structures along their hyphae. The structures, with the function of capturing the nematodes, can be in the form of adhesive nets, adhesive buttons, constrictor and non-constrictor rings [48]. The formation of these traps occurs in response to the presence of the nematode or its excreta, biological compounds or can be induced by physiological stress conditions [46,47,49]. In addition to the formation of these specialized structures, predatory fungi produce

chlamydospores interspersed in the hyphae [50] Chlamydospores are resistant structures and guarantee the fungus greater hardiness [51] favoring its survival until the environmental conditions are ideal for its development. It is the most widely researched group of fungi in the biological control of nematodes and has the greatest potential for industrialization [52].

The appearance of predatory structures occurs 30 min to 4 h after the fungus-nematode interaction. In the case of infective nematode larvae, the external cuticle can delay the infection process but does not provide protection against the predatory action of the fungi [53].

Opportunistic fungi are able to colonize nematode eggs and females using structures called appressoria, penetrating the infective form of the nematode [54]. Extracellular hydrolytic enzymes, such as chitinases and proteases, play an important role during penetration of the eggshell, leading to the disintegration of its layers, and are called ovicides [52]. Among the most studied genera of this group of fungi are *Purpureocillium*, *M. circineloides* and *P. chlamidosporia* [47].

When present in the environment, they produce an extensive system of hyphae, thus forming traps that capture nematodes mechanically or by adhesion. They behave as natural antagonists, promoting seizure and destruction of the nematode, and according to their mechanism of action, they are classified as endoparasites, predators and opportunists, and the predator and opportunist groups have been studied in the biological control of helminthiasis with promising results [2,9,46,47,55].

Over the decades, many factors that contribute to the survival, virulence and viability of these fungi in laboratory conditions have been well elucidated: the temperature, humidity, oxygen level of the medium as well as the substrate that make up this growth medium, which determine a favorable microclimate for the development of helminth eggs and larvae, also enable the survival of fungi, enabling the predation of parasites [36,52,56,57]. On the other hand, in the environment, these organisms can survive as saprophytic agents, feeding on environmental organic matter, or as parasites, feeding on a wide variety of pre-parasitic stages of free-living helminths [58,59].

As a characteristic shared by all types of helminthophagous fungi, host recognition and adherence to the cuticle of the L3 and/or eggshells of the target organisms are the first steps in infection [7].

### 2.3.2 Survival mechanisms

The germination rate, sporulation and resistance of *D. flagrans* chlamydo spores are influenced by factors such as temperature, pH, ultraviolet radiation, osmotic pressure and the availability of carbon, nitrogen and oxygen in the soil. At temperatures around 25°C and pH 7-9, the germination rate of chlamydo spores reaches its maximum threshold, which favors mycelial production [60].

Another essential requirement for a fungal isolate to be possibly exploited in the biological control of parasites is that it has the ability to withstand passage through the gastrointestinal tract of animals after oral administration. In other words, it must tolerate stressful conditions and, once present in the feces, it must be able to germinate, colonize the fecal bolus and capture the larval stages hatched from the eggs before they migrate out of the fecal bolus [61]. In addition, it must have specificity of action, high reproductive capacity and withstand the environmental and climatic conditions of the geographical region where the control will be carried out [2].

[62] observed that *D. flagrans*, *Arthrobotrys cladodes* and *P. chlamydo sporia* were not limited by temperature variations between 15 and 35°C for nematode control under in vitro conditions, although they showed greater growth, chlamydo spore production and nematicidal activity at intermediate temperatures (20, 25 and 30°C).

### 2.3.3 Overview of helminthophagous fungi species

*D. flagrans* is a predator of L3 of gastrointestinal parasitic nematodes and stands out as one of the most studied agents for use in biological control [2], acting by means of three-dimensional adhesive networks formed by its hyphae to capture infective nematode larvae present in the environment, especially in animal feces. After capture, the fungus penetrates the larva and uses enzymes to digest its internal contents, obtaining essential nutrients for its growth and reproduction. The formation of chlamydo spores, resistant structures that protect the fungus in adverse conditions, allows it to survive its passage through the gastrointestinal tract of animals. Once excreted in the feces, the chlamydo spores germinate, forming capture nets that significantly reduce the amount of infective larvae in the environment, reducing contamination and preventing reinfections [6,52].

It has significant potential for controlling Cyathostominae in laboratory conditions, and as it is a promising biological agent for managing cyathostomin

infections in horses [2,39,40,63, 64]. This species has been the most promising due to its diversity of mechanisms of action and good chlamydospore production [6]. However, *D. flagrans* has shown other interesting aspects in its mechanism of action, since in addition to the traps, it has good enzyme production and nanoparticles, making it a species with great diversity of action to be better explored in biological control [65,66].

The species *P. chlamydosporia* stands out for its formation of appressoria developed from undifferentiated hyphae that colonize the eggshell and penetrate the egg causing its destruction [52,55,67,68]. This fungus is able to produce enzymes with possible biotechnological applications [69]. Among these classes of enzymes, proteases, chitinases and lipases are fundamental in the infection process, since the nematode's protective barriers, cuticle and eggshell, are rich in macromolecules that are the substrates for these enzymes: proteins, chitin and lipids [69,70,71]. Showed that *P. chlamydosporia* maintained its viability and ability to attack *Oxyuris equi* eggs after passing through the gastrointestinal tract of horses, demonstrating the viability of its application in biotechnology for parasite management [61].

There are other saprophytic fungi capable of exerting antagonistic activity against parasitic stages (eggs, larvae) in the soil. The hyphae of *P. chlamydosporia* and *Purpureocillium lilacinum* adhere to the eggshells of trematodes, ascarids and trichurids, penetrating and destroying the embryo inside [72,73].

Another species capable of adhering to the surface of the eggs of certain helminths, penetrating and feeding on their contents, is *M. circinelloides* [74]. It is a saprophytic filamentous fungus that acts against trematode eggs (*F. hepatica*, *Calicophoron daubneyi*) [75] ascarids (*Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *A. suum*, *Bayliscascaris procyonis*) and trichurids (*Trichuris* spp.) [64,76]. Several investigations have shown that *M. circinelloides* can be cultivated with *D. flagrans*, with very practical ovicidal and larvicidal activity for the control of helminths, whose infectious stages are eggs or larvae that develop in the environment [77].

#### **2.3.4 Ways of administering helminthophagous fungi**

The most common and practical way of using helminthophagous fungi in field conditions is through animal feed supplementation [39,40] (Figure 1).



Figure 1 - Dynamics of helminth control in horses using helminthophagous fungi.

It is through the oral administration of these fungal isolates in animal feed that the so-called ‘classical biological control’ takes place, a term that can refer to the flooding of these biological agents into the soil [52]. In the fecal pat, the development of these fungi are stimulated by contact with an increasing number of free-living larvae. With colonization, the chlamydospores establish themselves in the pasture, with subsequent ingestion of the pasture by the animals [78]. The parasite burden present in the pasture (the non-parasitic phase of the helminths) represents around 95 per cent of the total parasite population. As such, almost all of this load is found in the environment and fungi therefore act in the most important place for control, reducing the number of third-stage larvae in pastures and, consequently, reducing the infection rate [79,80].

### 2.3.5 Commercial products - biotechnological innovation

In recent years, commercial formulations containing *D. flagrans* have started to become commercially available. In Brazil (Bioverm-AC001, GhenVet Saúde Animal, Paulínia, Brazil), and in Australia and New Zealand (BioWorma-NCIMB 30336, BioWorma, Sydney, Australia), these products are already in use, with administration in animal feed [38,39,40,81,82,83] (Figure 2).

Figure 2 - Commercial formulations containing *D. flagrans*: BioVerm® (Brazil) and BioWorma® (Australia).



Source: Ghenvet and IAHP.

Bioproducts formulated from helminthophagous fungi are found in different forms of administration. Some examples are found in the form of sodium alginate pellets, controlled administration cakes and homogenized cereal grains. The species that have already been successfully incorporated are: *Monacrosporium thaumasium*, *Arthrobotrys robusta* and *D. flagrans*. It is important to note that these formulations are previously conditioned to the strategy of passing through the animals' gastrointestinal tract without losing the viability of the fungi [6].

The frequency of administration of the fungi, as well as the dose to be given to the animals, seems to be crucial to ensure the effectiveness of any biological control method [80]. After the administration of *D. flagrans* is stopped, its effect on the population of nematode larvae decreases rapidly. Therefore, to achieve a significant and sustained reduction of infective larvae in pastures, it is essential to provide daily and continuous doses of the fungus for prolonged periods. This continuous strategy maintains the effectiveness of biological control, reducing the environmental parasite load and, consequently, the reinfection of animals [37]. [84,85] evaluated the ability of chlamyospores from the ovicidal fungus *Mucor circinelloides* and the larvicidal *D. flagrans* to resist the industrial pelleting process.

The fungal spores were added in the process of mixing the feed components, which were then subjected to a temperature of 72°C. The chlamydospores of both fungi were able to withstand the thermal challenge of the pelleting process, maintaining their ability to infect and destroy nematode eggs. By using nutritional pellets containing chlamydospores of the fungi *M. circinelloides* and *D. flagrans* (both incorporated into the same pellet) in equine feed, a significant reduction in the values of cyathostomin egg-output was recorded, and no adverse effects were observed after administration or changes in the values of cellular blood parameters [84,86]. The use of grains containing nematophagous fungi previously grown and fed to animals to assess the reduction of infective forms of parasites in feces is also efficient [77,80] and it has been shown to be a commercially practical way [38].

Recently, a new possibility for using these fungi in nematode control was discovered by means of nanoparticles (NP's) biosynthesized from fungal filtrates [87]. The nanoparticles biosynthesized by *D. flagrans* were shown to be capable of destroying infective larvae of *Ancyostoma caninum* [88]. In the study by [89], it was observed that the extracellular enzymes produced by *D. flagrans* show nematocidal activity against the infective larvae of cyathostomins. This indicates that enzymes such as chitinase play a fundamental role in the biological control of nematodes, acting directly on the third-stage larvae (L3), which is the infective form. [66] Investigated the effect of silver nanoparticles (AgNPs) from *D. flagrans* on cyathostomin larvae. The study showed that AgNPs have nematicidal activity, specifically on infective Cyathostominae larvae. This discovery has opened up new ways for the use of this fungus and, therefore, new products such as bioantihelminthics may, in the future, be another possibility for more successful parasite control against the already installed problem of parasite resistance [6].

Finally, an interesting way of administration involved the preparation of edible gelatins enriched with a blend of chlamydospores of *M. circinelloides* and *D. flagrans*. This formulation provided excellent results for reducing the risk of infection by trichostrongylids, roundworms, whipworms and hookworms affecting dogs and wild captive herbivores [8,90].

## 2.4 Biological and sustainable solution

Gastrointestinal nematode anthelmintic resistance has become a growing problem worldwide, especially due to the indiscriminate and empirical use of anthelmintics, without adequate technical criteria, exacerbating the resistance problem globally [29,30,91]. In addition, anthelmintics such as macrocyclic lactones (e.g. ivermectin and doramectin) are excreted in animal feces in large quantities without undergoing significant modifications, with more than 90% of the molecules being eliminated as the parent drug. This can negatively affect the community of invertebrates and microorganisms that depend on feces for their development and food, impacting the decomposition of feces and soil quality. The environmental effect of these residues is well documented in cattle [92]. In addition, the use of these drugs can leave residues in animal products such as meat, milk and eggs, which must be below the limits established to guarantee food safety, known as “maximum residue limits” [93].

The lack of adequate treatment of helminthoses in horses can result in serious gastrointestinal disorders, compromising the health and development of the animals, which can lead to significant losses, including death [94,95]. In this context, the use of nematophagous fungi, such as *D. flagrans* and *P. chlamydosporia*, has proven to be a viable and effective alternative. These fungi do not negatively affect the microbial population of feces, unlike anthelmintics, which hinder the development of beneficial microorganisms [40]. Studies have shown that the oral administration of *D. flagrans* does not cause any adverse effects on the health of horses, as there is no action on the animal during the passage of these fungi through the animal's gastrointestinal tract, making nematophagous fungi a safe and sustainable option for nematode control compared to traditional chemical treatments [84,96]. In another study, [97] demonstrated that *D. flagrans* did not cause alterations or destruction of intestinal microvilli in Swiss mice infected with *Strongyloides venezuelensis* after oral administration of chlamydospores/conidia. Furthermore, it did not interfere with the levels of eosinophilic peroxidase (EPO) and myeloperoxidase (MPO), providing valuable information for future research focusing on the in vivo use of nematophagous enzymes. Thus, the use of nematophagous fungi represents an effective approach that is less harmful to the environment and safe for the health of animals and consumers.

### 3. Final considerations

The use of helminthophagous fungi in the biological control of gastrointestinal nematodes in horses is a promising and sustainable alternative to the challenges faced by equine farming, especially in relation to the presence of anthelmintic resistance caused by the indiscriminate use of chemical anthelmintics. Species such as *Duddingtonia flagrans*, *Pochonia chlamydosporia*, *Arthrobotrys oligospora*, *Monacrosporium thaumasium*, *Mucor circinelloides* and *Purpureocillium liacinum* have shown efficacy in reducing the parasite burden by acting on different stages of the nematode life cycle, from the larval stage to the eggs.

The administration of these fungi is practical and can be carried out by means of feed supplementation or commercial formulations that guarantee the survival of the chlamydospores during their passage through the animals' digestive tract. By being excreted in the feces, these fungi act directly on the environment, reducing the amount of infective larvae in pastures and reducing reinfection of horses.

In view of this, the use of helminthophagous fungi can be considered a viable, efficient and ecologically correct strategy for the control of helminthiasis in horses, offering a practical and long-lasting solution for anti-parasitic management.

#### Author contribution

JVA and TAC came up with the idea for the article. All authors of the manuscript performed the literature search, wrote, and critically reviewed the work.

#### Funding

This research was funded by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—Brasil (CAPES)—Finance Code 001. The authors thank CNPq, CAPES, FAPEMIG, for all the financial support throughout the group's research. This article does not contain any studies with human or animal participants performed by any of the authors.

#### Data Availability:

Data sharing not applicable to this article as no datasets were generated or analysed during the current study.

**Declarations Informed consent:** Not applicable.

**Conflicts of interest:** The authors declare no competing interests.

## Bibliographical references

1. Lima, R. A. S. The importance and challenges of understanding the equine population in Brazil. *Brazilian Journal of Equine Medicine*. **2023**, *18*, 32–34. <https://sites.usp.br/economia>
2. Braga, F.R., Araújo, J.V., Silva, A.R., Araújo, J.M., Carvalho, R.O., Tavel, A.O., Carvalho, G.R., & Campos, A.K. Biological control of horse cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in tropical southeastern Brazil. *Veterinary Parasitology*. **2009**, *163*, 335-340. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.05.003>
3. Barret, E.J., Farlam, J., & Proudman, C.J. Field trial of the efficacy of a combination of ivermectin and praziquantel in horses infected with roundworms and tapeworms. *Veterinary Record*. **2004**, *184*, 323-325. <https://doi.org/10.1136/vr.184.10.323>
4. Lagaggio VRA, Jorge, L. L. Achados de formas parasitárias em camas de equinos Santa Maria-RS/Brasil. **2007**. Recupered from: [http://www.hipismobrasil.com.br/teses/formas\\_parasitarias.asp](http://www.hipismobrasil.com.br/teses/formas_parasitarias.asp)
5. Molento, M. B. Resistência parasitária em helmintos de equídeos e propostas de manejo. *Ciência Rural*. **2005**, *35*(6), 1469–1477. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000600041>
6. Araújo, J. V., Braga, F. R., Mendoza-de-Gives, P., Paz-Silva, A., & Vilela, V. L. R. Recent advances in the control of helminths of domestic animals by helminthophagous fungi. *Parasitologia*. **2021**, *1*, 168–176. <https://doi.org/10.3390/parasitologia1030018>
7. Zhang, Y., Li, S., Li, H., Wang, R., Zhang, K. Q., & Xu, J. Fungi-Nematode Interactions: Diversity, Ecology, and Biocontrol Prospects in Agriculture. *Journal Fungi (Basel)*. **2020**, *6*, 206. <https://doi.org/10.3390/jof6040206>
8. Salmo, R., Viña, C., Zubiria, I., Malagón, J. Á. H., Sanchís, J. M., Cazapal, C., Arias, M. S., Sánchez-Andrade, R., & Paz-Silva, A. Formulating Parasiticidal Fungi in Dried Edible Gelatins to Reduce the Risk of Infection by *Trichuris* sp. among Continuous Grazing Bison. *Pathogens (Basel, Switzerland)*. **2024**, *13*(1), 82. <https://doi.org/10.3390/pathogens13010082>
9. Carvalho, R. O., Araújo, J. V., Braga, F. R., Araujo, J. M., Silva, A. R., & Tavel, A. O. Predatory activity of nematophagous fungi on infective larvae of

- Ancylostoma* sp.: Evaluation in vitro and after passing through the gastrointestinal tract of dogs. *Journal of Helminthology*. **2009**, 83(3), 231–236. <https://doi.org/10.1017/S0022149X08158965>
10. Ferreira, S. R., Machado, A. R. T., Furtado, L. F., Gomes, J. H. D. S., de Almeida, R. M., de Oliveira Mendes, T., Maciel, V. N., Barbosa, F. S., Carvalho, L. M., Bueno, L. L., Bartholomeu, D. C., de Araújo, J. V., Rabelo, E. M. L., de Pádua, R. M., Pimenta, L. P. S., & Fujiwara, R. T. Ketamine can be produced by *Pochonia chlamydosporia*: An old molecule and a new anthelmintic. *Parasites & Vectors*. **2020**, 13, 527. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04402-w>
  11. Lichtenfels, J. R., Kharchenko, V. A., & Dvojnjos, G. M. Illustrated identification keys to strongylid parasites (Strongylidae: Nematoda) of horses, zebras and asses (Equidae). *Veterinary Parasitology*. **2008**, 156(1), 4–161. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.04.026>
  12. Madeira de Carvalho, L., Gomes, L., Cernea, M., Cernea, C., Santos, C.A., Bernardes, N., Rosário, M.A., Soares, M.J., & Fazendeiro, I. Parasitismo gastrointestinal e seu controlo em asininos e híbridos estabulados. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 2007, 102(563-564), 225-231.
  13. Lester, H. E., Spanton, J., Stratford, C. H., Bartley, D. J., Morgan, E. R., Hodgkinson, J. E., Coumbe, K., Mair, T., Swan, B., Lemon, G., Cookson, R., & Matthews, J. B. Anthelmintic efficacy against cyathostomins in horses in Southern England. *Veterinary Parasitology*. **2014**, 197(1–2), 189–196. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.06.009>
  14. Kaplan, R. M., & Nielsen, M. K. An evidence-based approach to equine parasite control: It ain't the 60s anymore. *Equine Veterinary Education*. **2010**, 22(6), 306–316. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2010.00084.x>
  15. Luksovsky, J., Craig, T. M., Bingham, G. M., Cir, T., & Forrets, D. Determining treatment to control two multidrug-resistant parasites on a Texas horse farm. *Journal of Equine Veterinary Science*. **2013**, 33(2), 115–119. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2012.05.072>
  16. Rehbein, S., Martin, V., & Renate, W. Prevalence, intensity and seasonality of gastrointestinal parasites in abattoir horses in Germany. *Parasitology Research*. **2013**, 112(1), 407–413. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-3150-0>

17. Ibrahim, N. Equine lung worm: A systematic review. *Global Journal of Medical Research: G Veterinary Science and Veterinary Medicine*. **2017**. 17. Available from: <https://medicalresearchjournal.org/index.php/GJMR/article/view/1420>
18. Mas-Coma, S., Esteban, J. G., & Bargues, M. D. *Fasciola, lymnaeids and human fascioliasis, with a global overview on disease transmission and control*. *Infectious Diseases of Poverty*. **2009**, 2(1), 1-16. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(09\)69002-3](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(09)69002-3)
19. *Guide to the Treatment and Control of 8 Equine Gastrointestinal Parasite Infections. ESCCAP Guideline08 Second Edition – March*. **2019**. European Scientific Counsel Companion Animal Parasites 2019. <https://www.esccap.org/guidelines/gl8/>
20. El-Gameel, S. M., Al-Mokaddem, A. K., Salaeh, N. M. K., & Attia, M. M. Morphomolecular characterization of *Strongylus vulgaris* isolated from donkeys with special reference to histopathological study on the affected organs. *Journal of Parasitic Diseases*. **2022**, 46(3), 795–803. <https://doi.org/10.1007/s12639-022-01498-y>
21. Teixeira, W. F. P., Felippelli, G., Cruz, B. C., Maciel, W. G., Fávero, F. C., Gomes, L. V. C., Buzzulini, C., Prando, L., Bichuette, M. A., Lopes, W. D. Z., Oliveira, G. P., & Costa, A. J. Endoparasites of horses from the Formiga city, located in center-west region of the state of Minas Gerais, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. **2014**, 23(4), 534–538. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612014072>
22. Saes, I. L.; Gonçalves, J. A.; Do Carmo, T. A.; Mena, M. O.; De Almeida Cipriano, I.; De Favare, G. M.; Bello, H. J. S.; Guelpa, G. J.; de Soutello, R. V. G. Sazonalidade e dinâmica de helmintos gastrointestinais em equinos em pastejo. *Acta veterinaria-beograd*. **2022**. v. 72, p. 131-144. <https://doi.org/10.2478/acve-2022-0012>
23. Soutello, R. V. G. de, Romão, D. S., Carmo, T. A. do, Favare, G. M. de, Pagnozzi, F. C., & Cipriano, I. de A. Seasonal dynamics of gastrointestinal helminths in naturally infected horses in Brazil. *Veterinary Parasitology*. **2025**, 324, 110358. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2024.110358>
24. Canever, R. J., Braga, P. R., Boeckh, A., Grycajuck, M., Bier, D., & Molento, M. B. Lack of *Cyathostomin* sp. reduction after anthelmintic treatment in horses in

- Brazil. *Veterinary Parasitology*. **2013**, *194*, 9–39.  
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.12.020>
25. Allison, K., Taylor, N. M., Wilsmore, A. J., & Garforth, C. Equine anthelmintics: Survey of the patterns of use, beliefs and attitudes among horse owners in the UK. *Veterinary Record*. **2011**. *168*(483), 483–487.  
<https://doi.org/10.1136/vr.d731>
26. Peregrine, A. S., Molento, M. B., Kaplan, R. M., & Nielsen, M. K. Anthelmintic resistance in important parasites of horses: Does it really matter? *Veterinary Parasitology*. **2014**, *201*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.01.004>
27. Saes, I. L.; Vera, J. H. S.; Fachioli, D. F.; Yamada, P. H.; Dellaqua, J. V. T.; Saes, R. L.; Amaranto, A. F.; Soutello, R. V. G. Tempo necessário para diferentes anti-helmínticos atingirem os níveis de eficácia esperados em equinos infectados por estrongilídeos. *Parasitologia veterinária*. **2016**, v. 229, p. 90-92. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.10.002>
28. Vera, J. H. S.; Fachioli, D. F.; Ramires, L. M.; Saes, I. L.; Yamada, P. H.; Gonçalves, J. A.; Oliveira, K.; Amarante, A. F. T.; Soutello, R. V. G. Efficacy of ivermectin, moxidectin and febendazole in equine in Brazil. *Veterinary Parasitology*. **2020**, v. 20, p. 100374.  
<https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100374>
29. Nielsen, N. K., Banahan, M., & Kaplan, R. M. Importation of macrocyclic lactone resistant cyathostomins on a US thoroughbred farm. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*. **2020**, v.14, 99–104.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2020.09.004>
30. Favare, G. M. de, Cipriano, I. A., Carmo, T. A. do, Mena, M. O., Guelpa, G. J., Amarante, A. F. T. do, & Soutello, R. V. G. de. Anthelmintic resistance of horse strongyle nematodes to ivermectin in São Paulo state, Brazil. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. **2023**, *41*, 100864.  
<https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2023.100864>
31. Nielsen, M. K., Reinemeyer, C. R., Donecker, J. M., & Leathwick, D. M. Anthelmintic resistance in equine parasites—Current evidence and knowledge gaps. *Veterinary Parasitology*. **2014**, *204*, 55–63.  
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.11.030>
32. Oliveira, J. H., Carvalho, N., Rinaldi, L., Oliveira, G., & Amarante, A. F. T. Diagnóstico da resistência anti-helmíntica em bovinos no Brasil: Uma

- comparação de diferentes metodologias. *Veterinary Parasitology*. **2014**, *206*, 216–226. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.10.015>
33. Oliveira, F., Oliveira, C. B., Oliveira, C. Z., Oliveira, P., Osmari, V., Fernandes, F., Sangioni, L. A., & Vogel, F. S. F. Avaliação molecular e de campo da resistência anti-helmíntica de populações de nematóides de bovinos e ovinos naturalmente infectados em pastagens mistas no Rio Grande do Sul, Brasil. *Acta Parasitologica*. **2019**, *65*, 118–127. <https://doi.org/10.2478/s11686-019-00137-6>
34. Taylor, M. A., Coop, R. L., & Wall, R. L. *Veterinary Parasitology*. **2015**, (4th ed.). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781119073680.fmatter>
35. Araújo, J. V., Guimarães, M. P., Campos, A. K., Sá, N. C., Sarti, P., & Assis, R. C. Control of bovine gastrointestinal nematode parasites using pellets of the nematode-trapping fungus *Monacrosporium thaumasium*. *Ciência Rural*. **2004**, *34*, 457–463. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782004000200019>
36. Mota, M. A., Campos, A. K., & Araújo, J. V. Biological control of animal parasitic helminths by nematophagous fungi. *Brazilian Journal of Parasitol. Vete* **2003**, *13*, 165–170. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2003000300001>
37. Mendoza-de-Gives, P., López-Arellano, M. E., Aguilar-Marcelino, L., Olazarán-Jenkins, S., Reyes-Guerrero, D., Oliveira, G., Veja-Murillo, V. E. The nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* reduces the gastrointestinal parasitic nematode larvae population in faeces of orally treated calves maintained under tropical conditions—Dose/response assessment. *Veterinary Parasitology*. **2018**, *263*, 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.10.001>
38. Braga, F. R., Oliveira, C. M., Silva, E. M., & Araújo, J. V. Efficiency of the fungal formulation Bioverm (*Duddingtonia flagrans*) in the in vivo and in vitro control of *Haemonchus contortus* and *Strongyloides papillosus* in sheep. *Biotechnologia*. **2020**, *10*, 62. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-2042-8>
39. Fausto, G. C., Fausto, M. C., Vieira, Í. S., Freitas, S. G., Carvalho, L. M., Oliveira, I. C., Silva, E. N., Campos, A. K., & Araújo, J. V. Formulation of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in the control of equine gastrointestinal parasitic nematodes. *Veterinary Parasitology*. **2021**, *296*, 109458–109464. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109458>
40. Carmo, T. A., Mena, M. O., Cipriano, I. A., Favare, G. M., Guelpa, G. J., Pinto, S. C., Amarante, A. F. T., Araújo, J. V., & Soutello, R. V. G. Biological control of

- gastrointestinal nematodes in horses fed with grass in association with nematophagous fungi *Duddingtonia flagrans* and *Pochonia chlamydosporia*. *Biological Control*. **2023**, *182*, 105219. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105219>
41. Mendoza de Gives, P., Braga, F. R., & Araújo, J. V. Nematophagous fungi, an extraordinary tool for controlling ruminant parasitic nematodes and other biotechnological applications. *Biocontrol Science and Technology*. **2022**. <https://doi.org/10.1080/09583157.2022.2028725>
42. Li, S., Wang, D., Gong, J., & Zhang, Y. Individual and combined application of nematophagous fungi as biological control agents against gastrointestinal nematodes in domestic animals. *Pathogens*. **2022**, *11*, 172. <https://doi.org/10.3390/pathogens11020172>
43. Soares, F. E. D. F., de Queiroz, J. H., de Araújo, J. V., Queiroz, P. V., Gouveia, A. D. S., Hiura, E., & Braga, F. R. Ação nematicida de quitinases produzidas pelo fungo *Monacrosporium thaumasium* em condições laboratoriais. *Biocontrol Science and Technology*. **2015**, *3*, 337–344. <https://doi.org/10.1080/09583157.2014.979133>
44. Liu, X., Xiang, M., & Che, Y. A estratégia viva dos fungos nematófagos. *Micociência*. **2009**, *50*, 20–25. <https://doi.org/10.1007/S10267-008-0451-3>
45. Zhong, W., Chen, Y., Gong, S., Qiao, J., Meng, Q., Zhang, X., Wang, X., Huang, Y., Tian, L., & Niu, Y. Enzymological properties and nematode-degrading activity of recombinant chitinase AO-379 of *Arthrobotrys oligospora*. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. **2019**, *25*, 435–444. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.20603>
46. Zhang, K. Q., & Hyde, K. Q. *Nematode-Trapping Fungi*, Fungal Diversity Series 23. Mushroom Research Foundation, **2014**. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-8730-7>
47. Zhang, Y., Li, S., Li, H., Wang, R., Zhang, K. Q., & Xu, J. Fungi-Nematode Interactions: Diversity, Ecology, and Biocontrol Prospects in Agriculture. *Journal Fungi (Basel)*. **2020**, *6*, 206. <https://doi.org/10.3390/jof6040206>
48. Nordbring-Hertz, B., Jansson, H. B., & Tunlid, A. Nematophagous fungi. In *Encyclopedia of Life Sciences*. **2006**, (pp. 1–11). Weinheim: Macmillan Publishers Ltd. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0004293>

49. Nordbring-Hertz, B. Ecology and recognition in the nematode-nematophagous fungus system. In K. C. Marshall (Ed.), *Advances in Microbial Ecology*. **1998**, Vol. 10, pp. 1–16. Springer. [https://doi.org/10.1007/978-1-4684-5409-3\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-5409-3_3)
50. Gronvold, J., Henriksen, S. A., Larsen, M., Nansen, P., & Wolstrup, J. Aspects of biological control with special reference to arthropods, protozoans and helminths of domesticated animals. *Veterinary Parasitology*. **1996**, *64*, 47–64. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(96\)00967-3](https://doi.org/10.1016/0304-4017(96)00967-3)
51. Herrera, T., & Ulloa, M. *El reino de los hongos: Micología básica y aplicada*. **1990**. México: Universidad Nacional Autónoma de México, Fondo de Cultura Económica.
52. Braga, F. R., & Araújo, J. V. Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **2014**, *98*, 71–82. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5366-z>
53. Cruz, D. G., Araújo, F. B., Molento, M. B. Kinetics of capture and infection of infective larvae of trichostrongylides and free-living nematodes *Panagrellus sp.* by *Duddingtonia flagrans*. *Parasitology Research*. **2011**, *109*(4), 1085–1091. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2350-3>
54. Dallemole-Giaretta, R., Freitas, L. G., Cavallin, I. C., Marmantini, G. A., Faria, C. M. R., & Resende, J. T. V. Evaluation of a *Pochonia chlamydosporia* based product, for the control of *Meloidogyne javanica* in culture and in carrot fields. *Nematropica*. **2013**, *43*, 131–137.
55. Araujo, J. M., Araújo, J. V., Braga, F. R., Carvalho, R. O., Silva, A. R., & Campos, A. K. Interaction and ovicidal activity of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* on *Taenia saginata* eggs. *Experimental Parasitology*. **2009**, *121*(338), 338–341. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2008.12.011>
56. Vilela, V. L. R., Feitosa, T. F., Braga, F. R., Araújo, J. V., Souto, D. V. O., Santos, H. E. S., Athayde, A. C. R. Biological control of goat gastrointestinal helminthiasis by *Duddingtonia flagrans* in a semi-arid region of the Northeastern Brazil. *Veterinary Parasitology*, **2012**, *188*, 127–133. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.02.018>
57. Vilela, V. L. R., Feitosa, T. F., Braga, F. R., Araújo, J. V., Lucena, S. C., Dantas, E. S., Athayde, A. C. R., & Silva, A. R. Effect of *Monacrosprorium thaumasium* in the control of the goat gastrointestinal helminthiasis in the semi-arid of Brazil. *Parasitol. Research*. **2013**, *112*, 871–877.

58. Saxena G. & Mittal N. Trap formation by conidia of nematode-trapping *Monacrosporium* spp. *Mycol. Res.* 1995, 7:839-840. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-3078-4>
59. Larsen, M. Biological control of helminths. *International Journal for Parasitology*, 1999, 29, 139–146. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(98\)00185-4](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(98)00185-4)
60. Wang, B., Zhang, N., Gong, P. T., Li, J. Effect of temperature, pH, physical and chemical factors on germination rate of the chlamydospores of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans*. *FEMS Microbiology Letters*, 2019, 366(17), 1–7. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnz212>
61. Braga, F.R., Araújo, J.V., Ribeiro, V.L., Soares, F.E.F., Araújo, J.M., & Silva, G.R. Viability of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* after passage through the gastrointestinal tract of horses. *Veterinary Parasitology*. 2010, 168(3-4), 264-268. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.11.020>
62. Vieira, Í. S., Oliveira, I. C., Campos, A. K., & Araújo, J. V. In vitro biological control of bovine parasitic nematodes by *Arthrobotrys cladodes*, *Duddingtonia flagrans*, and *Pochonia chlamydosporia* under different temperature conditions. *Journal of Helminthology*, 2020, 94, 1–6. <https://doi.org/10.1017/S0022149X20000796>
63. Carvalho, R. O., Araújo, J. V., Braga, F. R., Araujo, J. M., Silva, A. R., & Tavela, A. O. Predatory activity of nematophagous fungi on infective larvae of *Ancylostoma* sp.: Predatory activity of nematophagous fungi on infective larvae of *Ancylostoma* sp.: evaluation *in vitro* and after passing through the gastrointestinal tract of dogs. *Journal of Helminthology*. 2009, 83(3), 231–236. <https://doi.org/10.1017/S0022149X08158965>
64. Hernández, J. Á., Cazapal-Monteiro, C. F., Sanchís, J., Sánchez-Andrade, R., Paz-Silva, A., & Arias, M. S. Potential Usefulness of Filamentous Fungi to Prevent Zoonotic Soil-Transmitted Helminths. *Vector borne and zoonotic diseases*. 2018, (Larchmont, N.Y.), 18(12), 690–696. <https://doi.org/10.1089/vbz.2018.2296>
65. Braga, F.R.; Araújo, J.V.; Soares, F.E.F.; Araújo, 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*. **2011**, v. 85, p. 164-170. <https://doi.org/10.1017/S0022149X10000416>.
66. Ferraz, C. M., Costa Silva, L. P., de Freitas Soares, F. E., Souza, R. L. O., Tobias, F. L., de Araújo, J. V., Rodrigues Veloso, F. B., Laviola, F. P., Endringer, D. C., de Gives, P. M., & Braga, F. R. Effect of silver nanoparticles (AgNPs) from *Duddingtonia flagrans* on cyathostomins larvae (subfamily: cyathostominae). *Journal of Invertebrate Pathology*. **2020**, 175, 107907. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2020.107395>
67. Ward, E., Kerry, B. R., Manzanilla-López, R. H., Mutua, G., Devonshire, J., Kimenju, J., & Hirsch, P. R. The *Pochonia chlamydosporia* Serine Protease Gene *vcp1* is subject to regulation by carbon, nitrogen and pH: Implications for nematode biocontrol. **2012**, 7(4), e35657. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035657>
68. Hao, L., Zhao, F., Guo, Y., Ma, Y., Li, Z., Wang, W., Luo, H., & Wang, R. Antagonistic activity of *Pochonia chlamydosporia* against three helminth eggs and characterization of its serine protease. *Veterinary Parasitology*. **2024**, 334, 110374. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2024.110374>
69. Esteves, I., Peteira, B., Atkins, S. D., Magan, N., & Kerry, B. Production of extracellular enzymes by different isolates of *Pochonia chlamydosporia*. *Mycological Research*. **2009**, 8, 867–876. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2009.04.005>
70. Mi, Q., Yang, J., Ye, F., Gan, Z., Wu, C., Niu, X., Zou, C., & Zhang, K. Q. Clonagem e superexpressão do gene *pcchi44* da quitinase de *Pochonia chlamydosporia*, um potencial fator de virulência na infecção contra nematoides. *Process Biochemistry*. **2010**, 45, 810–814. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.01.022>
71. Soares, F. E. F., Sufiate, B. L., & Queiroz, J. H. Fungos nematófagos: Muito além dos grupos endoparasita, predador e ovicida. *Agriculture and Natural Resources*, **2018**, 52, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.05.010>
72. Silva, A. R., Araújo, J. V., Braga, F. R., Benjamim, L. A., Souza, D. L., & Carvalho, R. O. Análise comparativa da destruição das formas infectantes de *Trichuris trichiura* e *Haemonchus contortus* por fungos nematófagos *Pochonia chlamydosporia*, *Duddingtonia flagrans* e *Monacrosporium thaumasium* por

- microscopia eletrônica de varredura. *Microbiologia Veterinária*. **2011**, 147(1–2) 214–219. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.06.019>
73. Cazapal-Monteiro, C. F., Hernández, J. A., Arroyo, F. L. Analysing the effect of soil saprophytic fungi on *Baylisascaris procyonis* eggs. *Research in Parasitology*. **2015**, 114(7), 2443–2450. <https://doi.org/10.1007/S00436-015-4440-0>
74. Arias, M.S., Oliveira, C.F., Souza, J., Miguélez, S., Oliveira, I., Oliveira, F.L., Suárez, J.L., Paz-Silva, A., Sánchez-Andrade, R., & De Gives, P.M. Mixed production of filamentous fungal spores for preventing soil-transmitted helminth zoonoses: a preliminary analysis. *Biomed Research International*, 2013, 567876. <https://doi.org/10.1155/2013/567876>
75. Arroyo, F., Oliveira, J.A., Oliveira, C.F., Pedreira, J., Oliveira, J., Romasanta, Á., Sánchez-Andrade, R., Paz-Silva, A., & Arias, M.S. Effect of the Filamentous Fungus *Mucor circinelloides* On The Development of Eggs of the Rumen Fluke *Calicophoron daubneyi* (Paramphistomidae). *Journal of Parasitology*. **2017**, 103, 199-206. <https://doi.org/10.1645/16-76>
76. Cortiñas, F. J., Cazapal-Monteiro, C. F., Hernández, J. A., Arroyo, F. L., Miguélez, S., Suárez, J., López de Arellano, M. E., Sánchez-Andrade, R., Mendoza de Gives, P., Paz-Silva, A., Arias, M. S. Potential use of *Mucor circinelloides* for the biological control of certain helminths affecting livestock reared in a care farm. *Biocontrol science and technology*. **2015**, 25(12), 1443-1452. <https://doi.org/10.1080/09583157.2015.1062843>
77. Voinot, M., Bonilla, R., Sousa, S., Sanchís, J., Canhão-Dias, M., Romero Delgado, J., Lozano, J., Sánchez-Andrade, R., Sol Arias, M., & Madeira de Carvalho, L. Control of Strongyles in First-Season Grazing Ewe Lambs by Integrating Deworming and Thrice-Weekly Administration of Parasitocidal Fungal Spores. *Pathogens*. **2021**, (Basel, Switzerland), 10(10), 1338. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101338>
78. Paz-Silva, A., Francisco, I., & Valero-Coss, R. O. Ability of the fungus *Duddingtonia flagrans* to adapt to the cyathostomin egg-output by spreading chlamydospores. *Veterinary Parasitology*. **2011**, 179, 277–282.
79. Duddington, C. L. Fungi that attack microscopic animals. *Botanical Review*. **1955**, 21, 377–479. <https://doi.org/10.1007/BF02872434>
80. Buzatti, A., Santos, C.P., Fernandes, M.A.M., Yoshitani, U.Y., Sprenger, L.K., & Molento, M.B. *Duddingtonia flagrans* no controle de nematoides

- gastrointestinais de equinos em fases de vida livre. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. **2015**, 69(2), 364-370. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2015.07.006>
81. Bampidis, V., Azimonti, G., Bastos, M.L., Christensen, H., Dusemund, B., Kos Durjava, M., Kouba, M., López-Alonso, M., López Puente, S., Marcon, F. Scientific opinion on the safety and efficacy of BioWorma (*Duddingtonia flagrans* NCIMB 30336) as a feed additive for all grazing animals. *EFSA Journal*. **2020**, 18, 6208. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6208>
82. Oliveira, L. S. S. C. B., Dias, F. G. S., Melo, A. L. T., Carvalho, L. M., Silva, E. N., & Araújo, J. V. Bioverm in the control of nematodes in beef cattle raised in the Central-West region of Brazil. *Pathogens*, **2021**, 10, 548. <https://doi.org/10.3390/pathogens10050548>
83. Rodrigues, J. A., Roque, F. L., Alvares, F. B. V., Silva, A. L. P., Lima, E. F., Silva Filho, G. M., Feitosa, T. F., Araújo, J. V., Braga, F. R., & Vilela, V. L. R. Efficacy of a commercial fungal formulation containing *Duddingtonia flagrans* (Bioverm) for controlling bovine gastrointestinal nematodes. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 2021, 30, e026620. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612021025>
84. Hernández, J. A., Arroyo, F. L., Suárez, J., Cazapal-Monteiro, C. F., Romasanta, A., López-Arellano, M. E., Pedreira, J., Madeira de Carvalho, L. M., Sánchez-Andrade, R., Arias, M. S., Mendoza-de Gives, P., & Paz-Silva, A. Feeding horses with industrially manufactured pellets with fungal spores to promote nematode integrated control. *Veterinary Parasitology*. **2016**, 229, 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.09.014>
85. Arroyo, F.L., Arias, M.S., Cazapal-Monteiro, C.F., Hernández, J.Á., Suárez, J., Miguélez, S., Romasanta, A., Sánchez-Andrade, R., & Paz-Silva, A. The capability of the fungus *Mucor circinelloides* to maintain parasitocidal activity after the industrial feed pelleting enhances the possibilities of biological control of livestock parasites. *Biological Control*, 2016, 92, 38-44. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.10.007>
86. Hernández, J. Á., Sánchez-Andrade, R., Cazapal-Monteiro, C. F., Arroyo, F. L., Sanchís, J. M., Paz-Silva, A., Arias, M. S. A combined effort to avoid strongyle infection in horses in an oceanic climate region: rotational grazing and

- parasiticidal fungi. *Parasites & vectors*, 2018<sup>a</sup>, 11(1), 240. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2827-3>
87. Costa-Silva, L. P., Pinto-Oliveira, J., Keijok, W. J., Silva, A. R., Aguiar, A. R., Guimarães, M. C. C., Ferraz, C. M., Araújo, J. V., Tobias, F. L., & Braga, F. R. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the cell-free filtrate of nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans*. *International Journal of Nanomedicine*. **2017**, 12, 6373–6381. <https://doi.org/10.2147/IJN.S137703>
88. Barbosa, A.C.M.S., Silva, L.P.C., Ferraz, C.M., Tobias, F.L., Araújo, J.V., Loureiro, B., Braga, G.M.A.M., Veloso, F.B.R., Soares, F.E.F., Fronza, M. Nematicidal activity of silver nanoparticles from the fungus *Duddingtonia flagrans*. *International Journal of Nanomedicine*. **2019**, 14, 2341-2348. <https://doi.org/10.2147/IJN.S197412>
89. Braga, F. R., Soares, F. E. F., Giuberti, T. Z., Lopes, A. D. C. G., Lacerda, T., Ayupe, T. D. H., Queiroz, P. V., Gouveia, A. de S., Pinheiro, L., Araújo, A. L., Queiroz, J. H., & Araújo, J. V. Nematocidal activity of extracellular enzymes produced by the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* on cyathostomin infective larvae. *Veterinary Parasitology*, **2015**, 212(3-4), 214–218. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.08.018>
90. Viña, C., Salmo, R., Pena, M. V., Palomero, A. M., Hernández, J. Á., Cazapal-Monteiro, C., Arias, M. S., Sánchez-Andrade, R., & Paz-Silva, A. A New Comestible Formulation of Parasiticide Fungi to Reduce the Risk of Soil-Transmitted Helminth Infections in a Canine Shelter. *Pathogens*. **2022**, 11(11), 1391. <https://doi.org/10.3390/pathogens11111391>
91. Reinemeyer, R. Anthelmintic resistance in non-strongylid parasites of horses. *Veterinary Parasitology*. **2012**, v. 185, 9-15. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.10.009>
92. Heredero, A. M. C. Segato, G., Menotta, S., Faggionato, E., Vismarra, A., Genchi, M., & Bertini, S. A new method for ivermectin detection and quantification through HPLC in organic matter (feed, soil, and water). *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, **2023**, Article 6924263. <https://doi.org/10.1155/2023/6924263>
93. Silva, E. P. Souza, J. R. Caldas, E. Residues of veterinary medicines in milk and eggs. *New Quimic*. **2014**, 37, 1. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422014000100020>

94. Cezar, A. S., Catto, J. B., & Bianchin, I. Controle alternativo de nematódeos gastrintestinais dos ruminantes: Atualidade e perspectivas. *Ciência Rural*. **2008**, 38, 2083–2091. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000700048>
95. Almeida, A. C. D. F., Chagas, J. D. R., Ávila, L. M., Marques, T. L. P., Moraes, R. F. F., Gomes, L. P. M., ... & Baêta, B. A. Diagnosis and chemical control of helminthiasis in cattle: Literature review. *Research, Society and Development*. **2020**, 9, 4089119908. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i11.9908>
96. Madeira de Carvalho, L. M., Gillespie, A. T., & Serra, P. M. Eficácia do fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* no controlo biológico da estrogilidose equina no Ribatejo. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*. **2007**, 102, 233–247. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:88284872>
97. Araújo, J. M., Braga, F. R., Longo Ribeiro Vilela, V., Soares, F. E. de F., Ferraz, C. M., Bindaco, A. L. S., ... de Araújo, J. V. Evaluation of the acute oral toxicity of the fungus *Duddingtonia flagrans* at the gut level. *Biocontrol Science and Technology*. **2022**, 32(11), 1275–1284. <https://doi.org/10.1080/09583157.2022.2104809>

## CAPÍTULO 4

**Ação nematófaga dos fungos *Duddingtonia flagrans* e *Mucor circinelloides* em ciatostomíneos de equinos *in vitro***

## RESUMO

A saúde e bem-estar dos equinos enfrentam um desafio significativo devido as infecções causadas por nematóides gastrointestinais. O objetivo do estudo foi avaliar a ação predatória *in vitro* dos fungos nematófagos do gênero *Duddingtonia flagrans* e *Mucor circinelloides* sobre larvas infectantes de ciatostomíneos da Espanha. Foram conduzidos dois ensaios experimentais. O experimento 1, foi formado por 3 grupos, onde o grupo 1, composto por 4 bandejas, pulverizadas semanalmente com 5ml meio líquido, contendo  $10^6$  clamidósporos/ml de *Duddingtonia flagrans* e  $10^6$  esporos/ml de *Mucor circinelloides*. O grupo 2, foi preparado semelhante ao grupo 1, no entanto, com pulverizações quinzenais. O grupo 3 (controle), composto por 4 bandejas, pulverizadas com 5 ml de água destilada semanalmente, Figura 1. Todas as 16 bandejas foram mantidas no laboratório por 30 dias, em temperatura ambiente 10-20°C. Após este período, as gramíneas foram cortadas e descartadas, as fezes juntamente com a terra das bandejas, foram analisadas por meio do teste de sedimentação, pela técnica de Baermann. No experimento 2, foram formados 3 grupos com 5 frascos cada. O grupo 1, foi adicionado juntamente às fezes, 5 mL de meio líquido contendo  $1 \times 10^6$  clamidósporos/mL de *Duddingtonia flagrans* em dose única. O grupo 2, foi adicionado 5mL de meio líquido contendo  $1 \times 10^6$  esporos/mL de *Mucor circinelloides* em dose única, e no grupo 3 (controle) as fezes foram umedecidas com água destilada. No experimento 1, a média geral apresentada pelos grupos 1, 2 e 3 foram respectivamente, 78, 91 e 99 de larvas viáveis. Desta forma, o grupo 1 diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) do grupo controle, o grupo 2 não diferiu do controle, e os dois grupos tratados não diferiram significativamente entre si. O grupo 1 apresentou 22% de redução das L3, comparado ao grupo controle, e o grupo 2, apresentou 8%. Portanto, os resultados indicam que, as pulverizações semanais com os fungos *D. flagrans* e *M. circinelloides*, demonstraram maior redução das L3. No experimento 2, a média geral apresentada pelos grupos 1, 2 e 3 foram respectivamente, 50, 58 e 87 de larvas viáveis. Desta forma, os grupos 1 e 2 não diferiram significativamente entre si, mas diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) do grupo controle. O grupo 1 apresentou 43% de redução das L3, comparado ao grupo controle, e o grupo 2, apresentou 33%. Isto indica que, os dois grupos tratados (G1 e G2) que receberam a dosagem única dos fungos *D. flagrans* e *M. circinelloides*, obtiveram maior redução das L3 comparado ao grupo controle. Conclui-se que utilização dos fungos *Duddingtonia flagrans* e *Mucor circinelloides* pode reduzir a quantidade de larvas infectantes de ciatostomíneos, demonstrando o potencial desses agentes biológicos no controle de parasitas com aplicações semanais.

**Palavras-chave:** equídeos; estrongilídeos; fungos parasiticidas; nematoides.

## ABSTRACT

The health and welfare of horses face a significant challenge due to infections caused by gastrointestinal nematodes. The aim of this study was to evaluate the *in vitro* predatory action of nematophagous fungi of the genus *Duddingtonia flagrans* and *Mucor circinelloides* on infective larvae of cyathostomins. Two experimental trials were conducted. Experiment 1 consisted of 3 groups, where group 1, consisting of 4 trays, was sprayed weekly with 5 ml of liquid medium containing  $10^6$  chlamydospores/ml of *Duddingtonia flagrans* and  $10^6$  spores/ml of *Mucor circinelloides*. Group 2 was prepared similarly to group 1, however, with biweekly sprayings. Group 3 (control), consisting of 4 trays, sprayed with 5 ml of distilled water weekly, Figure 1. All 16 trays were kept in the laboratory for 30 days, at room temperature 10-20°C. After this period, the grasses were cut and discarded, the feces together with the soil from the trays, were analyzed by means of the sedimentation test, using the Baermann technique. In experiment 2, 3 groups with 5 flasks each were formed. Group 1, 5 mL of liquid medium containing  $1 \times 10^6$  chlamydospores/mL of *Duddingtonia flagrans* in a single dose was added to the feces. Group 2, 5 mL of liquid medium containing  $1 \times 10^6$  spores/mL of *Mucor circinelloides* in a single dose was added, and in group 3 (control) the feces were moistened with distilled water. In experiment 1, the overall averages presented by groups 1, 2 and 3 were, respectively, 78, 91 and 99 viable larvae. Thus, group 1 differed significantly ( $p < 0.05$ ) from the control group, group 2 did not differ from the control, and the two treated groups did not differ significantly from each other. Group 1 showed a 22% reduction in L3, compared to the control group, and group 2 showed 8%. Therefore, the results indicate that weekly spraying with the fungi *D. flagrans* and *M. circinelloides* demonstrated a greater reduction in L3. In experiment 2, the overall averages presented by groups 1, 2 and 3 were, respectively, 50, 58 and 87 viable larvae. Thus, groups 1 and 2 did not differ significantly from each other, but differed significantly ( $p < 0.05$ ) from the control group. Group 1 showed a 43% reduction in L3 compared to the control group, and group 2 showed a 33% reduction. This indicates that the two treated groups (G1 and G2) that received a single dose of the fungi *D. flagrans* and *M. circinelloides* had a greater reduction in L3 compared to the control group. It was concluded that the use of the fungi *Duddingtonia flagrans* and *Mucor circinelloides* can reduce the number of infective larvae of cyathostomins, demonstrating the potential of these biological agents in controlling parasites with weekly applications. When they come into contact with the feces of an infected horse, these fungi impair the development of the larvae, thus reducing contamination.

**Keywords:** equines, nematodes, parasitocidal fungi, strongyles.

## 1. INTRODUÇÃO

A saúde e bem-estar dos equinos enfrentam um desafio significativo devido as infecções causadas por nematódeos gastrointestinais. A infecção por esses parasitas, estão associados aos sistemas de criação e hábitos alimentares dos equinos, contribuindo para sua alta prevalência e impacto negativo na sanidade e produtividade dos animais (BRAGA et al., 2009; KAPLAN et al., 2012; TZELOS et al., 2017; BARBOSA et al., 2018; NIELSEN et al., 2018).

A fauna parasitária que afeta os equinos é composta por diversas famílias e gêneros, dentre eles, os nematoides estrongilídeos, são os que mais acometem os animais (LICHTENFELS et al., 2008). Os membros da subfamília Cyathostominae são conhecidos como ciatostomíneos ou "pequenos estrôngilos". Estes são os parasitos mais prevalentes e resistentes a boa parte dos anti-helmínticos em equinos jovens e adultos. Podem comprometer o peristaltismo e a conversão alimentar, formando nódulos na parede do trato gastrintestinal a cada mudança de estágio larval (OLIVEIRA et al., 2015; LICHTENFELS et al., 2008).

A crescente resistência aos anti-helmínticos utilizados no controle desses parasitas tem se tornado uma preocupação significativa, demandando estratégias de manejo mais eficazes e um monitoramento contínuo da eficácia dos tratamentos (MARTINS et al., 2019; PIEREZAN et al., 2009; LICHTENFELS et al., 2008; PEREGRINE et al., 2006; FAVARE et al., 2023).

A utilização de fungos nematófagos se apresenta como uma alternativa no controle de nematoides gastrointestinais de equinos, tendo sua ação através de estruturas fúngicas (conídios e clamidósporos) que passam pelo trato gastrintestinal do animal sem sofrer alterações morfológicas, (Yang et al., 2011), concentram-se nos bolos fecais agindo sobre formas larvais presentes no mesmo, reduzindo sua carga parasitaria no ambiente e conseqüentemente a infecção nos animais (CARMO et al., 2023; FAUSTO et al., 2020; BRAGA et al., 2009).

O fungo *Duddingtonia flagrans* é um fungo nematófago amplamente distribuído no solo em diferentes regiões do mundo. Ele se destaca por sua elevada capacidade de produzir conídios e clamidósporos, estruturas que desempenham um papel fundamental na predação de larvas infectantes de nematódeos gastrointestinais presentes no ambiente. (BRAGA et al., 2021; MENDOZA-DE GIVES et al., 2022).

Por sua vez, o fungo *Mucor circinelloides* apresenta a capacidade de aderir à superfície dos ovos de determinados helmintos, penetrando e consumindo seus conteúdos. Essa característica o torna um agente potencialmente eficaz no controle biológico de parasitas em seus estágios iniciais de desenvolvimento (ARIAS et al., 2021). Estudos recentes demonstraram que *M. circinelloides* pode ser cultivado em associação com *D. flagrans*, resultando em uma atividade sinérgica. Essa interação representa uma abordagem prática e inovadora para o controle de helmintos cujos estágios infectantes incluem ovos ou larvas que se desenvolvem no ambiente (HERNANDEZ, et al., 2018; Palomero et al., 2018, 2021)

Sendo assim, o objetivo do estudo foi avaliar a ação predatória dos fungos nematófagos do gênero *Duddingtonia flagrans* e *Mucor circinelloides* sobre larvas infectantes de ciatostomíneos de equinos criados na Espanha.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Local e animais**

O estudo foi desenvolvido no Sudoeste da Europa (Lugo, Galícia, Espanha) (42°20-43°45N, 6°49-8°00W) de novembro de 2023 a abril de 2024. Foram utilizados 11 equinos, machos e fêmeas, naturalmente infectados, provenientes de um mesmo rebanho, da Universidade de Santiago de Compostela (USC).

### **2.2. Preparação da suspensão fúngica em meio líquido**

Os isolados de *M. circinelloides* e *D. flagrans* pertencente ao cultivo de fungos predadores do Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Santiago de Compostela (USC – Campus Terra), foram utilizados no presente estudo. Estes isolados foram armazenados em meio Wheat-Flour Agar (2%), mantidas em estufa a 27°C, e cultivado de acordo com Arias et al. (2013). Para o preparo da suspensão em meio líquido, foram adicionados 250ml de caldo de galinha líquido, 10 g de grãos de trigo para 1 L de água destilada, e posteriormente realizada a autoclavagem. Após a autoclavagem, 150 mL do meio líquido foram transferidos para garrafas plásticas, previamente lavadas e esterilizadas com luz UV, cada garrafa foi adicionado um cubo (2,25 cm) de ágar de trigo, previamente cultivados em placas de petri, como descritas anteriormente, contendo micélios de *M. circinelloides* ou

clamidósporos de *D. flagrans*. A parte superior de cada garrafa foi vedada com plástico filme, identificadas e em temperatura ambiente inclinada a 45° por 30 dias. Após este período, suspensões contendo  $1 \times 10^6$  vezes esporos/mL e clamidósporos/ml foram estabelecidos, utilizando uma câmara de Neubauer para a contagem de conídios e clamidósporos de *M. circinelloides* e *D. flagrans* respectivamente. As contagem de esporos e clamidósporos é um critério essencial para determinar o crescimento fúngico ideal, sendo os valores iguais ou superiores a  $1 \times 10^6$ /ml, consideradas ideais para o controle biológico.

### **2.3. Coleta de fezes e exames coproparasitológicos**

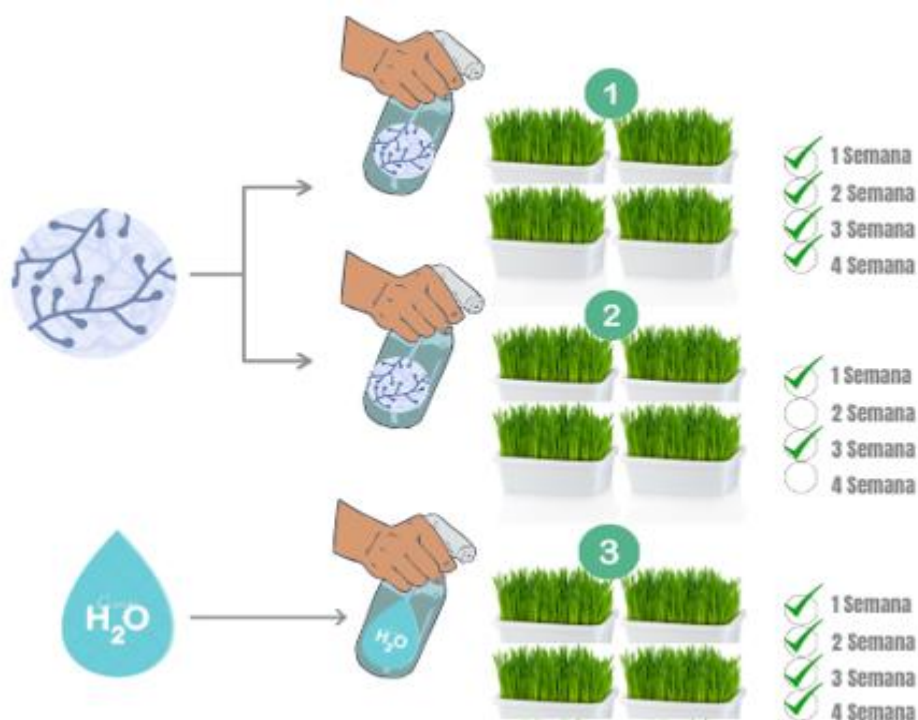
Amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal de cada animal, armazenadas em sacos plásticos e levadas ao Laboratório de Parasitologia da Universidade de Santiago de Compostela, Campus Terra - USC, no prazo máximo de 24 horas, para realização das análises. Procedeu-se a realização da técnica de OPG (contagem de ovos por grama de fezes), (Gordon e Withlock, 1939), com a finalidade de encontrar animais positivos. Após a coleta, 3 gramas de fezes foram emulsionados em 42 mL de água, agitados brevemente e passados por uma tela de 150  $\mu$ m. A solução filtrada foi coletada em dois tubos de 15 mL e centrifugada a 2500 rpm por 10 min. O sobrenadante foi descartado e 10 mL de solução saturada de NaCl ( $\rho = 1,2 \text{ g/cm}^3$ ) foi adicionado a cada tubo. Alíquotas de 300  $\mu$ L foram tomadas e observadas em uma câmara de McMaster para leitura no microscópio. Para a recuperação das larvas infectantes (L3), foi realizado sedimentações, por meio do método de Baermann, que consiste na utilização de um funil adaptado com um filtro de tecido, onde são depositadas amostras de fezes provenientes do coprocultivo. O funil é preenchido com água morna, e após um período de sedimentação por 24 horas, as larvas migram para o fundo do tubo conectado ao funil, onde são coletadas e analisadas sob microscópio para quantificação e identificação segundo critérios descritos por (MADEIRA DE CARVALHO, 2001).

### **2.4 Experimento 1: Teste de frequência de aplicação dos fungos *Duddingtonia flagras* e *Mucor circinelloides* sobre larvas infectantes de ciatostomíneos**

Amostras fecais foram coletadas diretamente da ampola retal de 11 equinos mantidos em pastagens, naturalmente infectados. Após a realização do exame de

OPG, a média geral apresentada foi de 1500. As fezes foram homogeneizadas e então colocadas em 12 bandejas (15 g/bandeja) (Cortiñas et al. 2015). As bandejas foram previamente preparadas com 100 gramas de terra e 10 gramas de sementes de gramíneas (erva de gato), e após o período de 7 dias, com então foram adicionadas as fezes frescas e infectadas com ovos de nematoides. O ensaio experimental foi formado por 3 grupos, onde o grupo 1, composto por 4 bandejas, pulverizadas semanalmente com com 5ml meio líquido, contendo  $10^6$  clamidósporos/ml de *Duddingtonia flagrans* e  $10^6$  esporas/ml de *Mucor circinelloides*. O grupo 2, foi preparado semelhante ao grupo 1, no entanto, com pulverizações quinzenais. O grupo 3 (controle), composto por 4 bandejas, pulverizadas com 5 ml de água destilada semanalmente, Figura 1. Todas as 16 bandejas foram mantidas no laboratório por 30 dias, em temperatura ambiente 10-20°C. Após este período, as gramíneas foram cortadas e descartadas, as fezes juntamente com a terra das bandejas, foram analisadas por meio do teste de sedimentação, pela técnica de Baermann, para melhorar a observação de danos as L3 segundo critérios descritos por Madeira de carvalho, (2001), alíquotas de 100 µl foram fixadas entre uma lâmina de vidro e uma lamínula e, finalmente, visualizadas em microscópio óptico em objetivas de  $\times 20$  até que um total de 100 L3 fossem observadas para cada bandeja. As larvas foram classificadas em viáveis com forma e estrutura bem definidas, e não viáveis quando apresentaram vacuolização, estruturas internas não claramente observadas ou rompidas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%) pelo programa Statistical Analysis System (SAS Institute, Inc. Cary, NC, USA).

Figura 1 - Grupo 1: pulverizado 5mL semanalmente com *M. circinelloides* e *D. flagrans*, Grupo 2: pulverizado 5mL quinzenalmente com *M. circinelloides* e *D. flagrans* e Grupo 3: pulverizado 5mL com água destilada semanalmente.



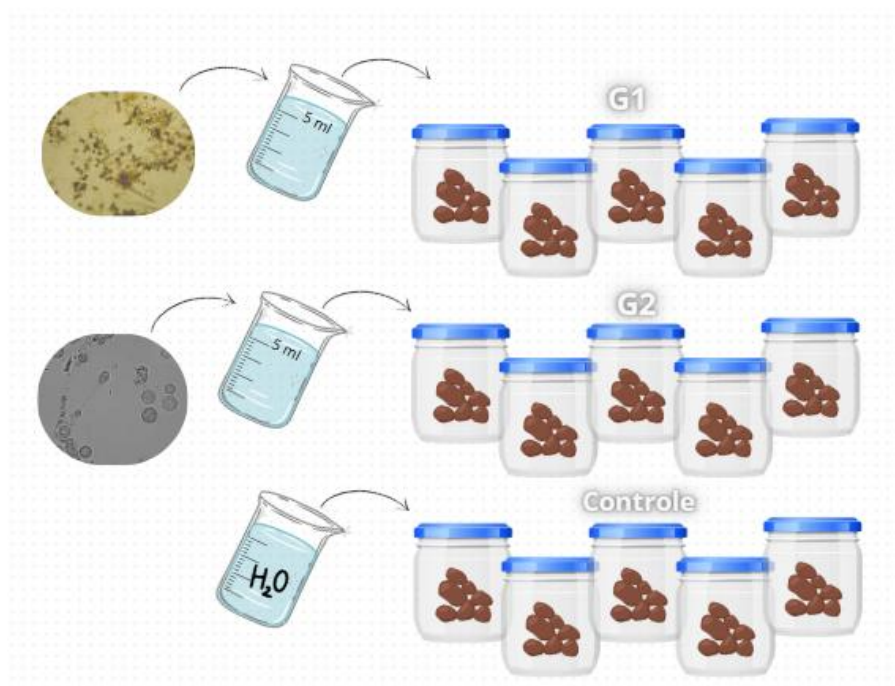
Fonte: autoria própria.

## 2.5 Experimento 2: Viabilidade de larvas infectantes de ciatostomíneos por meio de coprocultura utilizando os fungos *Duddingtonia flagrans* e *Mucor circinelloides*

Amostras fecais foram coletadas diretamente da ampola retal de 11 equinos mantidos em pastagens, naturalmente infectados. Após a realização do exame de OPG, a média geral apresentada foi de 1500. Para a realização do ensaio experimental, as fezes coletadas foram homogeneizadas e então procedeu-se o preparo das coproculturas (20g de fezes/frasco), totalizando 15 frascos. Foram formados 3 grupos com 5 frascos cada. O grupo 1, foi adicionado juntamente às fezes, 5 mL de meio líquido contendo  $1 \times 10^6$  clamidósporos/mL de *Duddingtonia flagrans* em dose única. O grupo 2, foi adicionado 5mL de meio líquido contendo  $1 \times 10^6$  esporos/mL de *Mucor circinelloides* em dose única, e no grupo 3 (controle) as fezes foram umedecidas com água destilada. Posteriormente, vedou-se todos os frascos com papel alumínio, permaneceram no laboratório de parasitologia da USC, em

temperatura ambiente 10-20°C, durante o período de 30 dias. As larvas foram recuperadas por meio da técnica de Baermann, quantificadas e identificadas pelos critérios de Madeira de Carvalho (2001). O volume total de líquido recuperado nas amostras de cada grupo foi utilizado para contagem e identificação até que um total de 100 L3 fossem observadas de cada repetição. As larvas foram consideradas inviáveis quando observada vacuolização e/ou estruturas internas pouco claras ou rompidas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%) pelo programa Statistical Analysis System (SAS Institute, Inc. Cary, NC, USA).

Figura 2. Grupo 1: concentrações de  $1 \times 10^6$  de *D. flagrans*, Grupo 2: concentrações de  $1 \times 10^6$  *M. circumloides* e Grupo 3: umedecido com água destilada.



Fonte: autoria própria.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Experimento 1:

A média geral de OPG apresentada foi de 1500, indicando uma alta carga parasitária de nematoides gastrintestinais. A média geral apresentada pelos grupos 1, 2 e 3 foram respectivamente, 78, 91 e 99 de larvas viáveis. E sucessivamente, 22, 9 e 1 de larvas inviáveis. Desta forma, o grupo 1 diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) do

grupo controle, o grupo 2 não diferiu do controle, e os dois grupos tratados não diferiram significativamente entre si. O grupo 1 apresentou 22% de redução das L3, comparado ao grupo controle, e o grupo 2, apresentou 8%. Portanto, os resultados indicam que, as pulverizações semanais com os fungos *D. flagrans* e *M. circinelloides*, demonstraram maior redução das L3, Tabela 1.

Tabela 1- Números de bandejas, desvio padrão (DP), médias de larvas infectantes (L3) viáveis, dos grupos: G1 (semanalmente), G2 (quinzenalmente) e G (controle), porcentagem (%) de redução após 30 dias.

Bandeja	L3 viáveis				DP	Média	Redução
	1	2	3	4			
G1	77	75	81	79	2,58	78 a	22%
G2	81	94	90	100	7,97	91 ab	8%
G3	100	100	100	98	1	99 b	

Ao final do período experimental, com trinta dias, constatou-se que 100% das larvas obtidas através do método de Bermann, eram de pequenos estrogilídeos (ciatostomíneos) em todas as amostras (G1, G2 e G3).

### 3.2 Experimento 2:

A média geral de OPG apresentada foi de 1500, indicando uma alta carga parasitária de nematoides gastrintestinais. A média geral apresentada pelos grupos 1, 2 e 3 foram respectivamente, 50, 58 e 87 de larvas viáveis. E sucessivamente, 50, 42 e 13 de larvas inviáveis. Desta forma, os grupos 1 e 2 não diferiram significativamente entre si, mas diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) do grupo controle. O grupo 1 apresentou 43% de redução das L3, comparado ao grupo controle, e o grupo 2, apresentou 33%. Isto indica que, os dois grupos tratados (G1 e G2), que receberam a dosagem única dos fungos *D. flagrans* e *M. circinelloides*, obtiveram maior redução das L3 comparado ao grupo controle, Tabela 2.

Tabela 2 - Número de L3 viáveis (5 amostras cada grupo) dos grupos: G1 (*D. flagrans*), G2 (*M. circinelloides*) e G3 (controle) e porcentagem de redução após 30 dias.

Amostra	L3 viáveis					DP	Média	Redução
	1	2	3	4	5			
<b>G1</b>	63	60	40	48	37	10.48	50 a	43%
<b>G2</b>	45	38	62	70	75	14.49	58 a	33%
<b>G3</b>	86	81	83	94	91	4.69	87 b	

Ao final do ensaio experimental e recuperação das L3, constatou-se que 100% das larvas obtidas eram de pequenos estrombilídeos (ciatostomíneos) em todas as coprocultura (G1, G2 e G3).

#### 4. DISCUSSÕES

Os fungos *D. flagrans* e *M. circinelloides*, foram capazes de reduzir as larvas L3 de ciatostomíneos, observados ao final de 30 dias, nos dois experimentos, devido ao maior número de L3 inviáveis observadas nos grupos tratados, quando comparado ao controle. Em um estudo realizado por Braga et al. (2009), a predação de *D. flagrans* em larvas infectantes de ciatostomíneos, foi visualizada em placas de Petri do grupo tratado 24 horas após a interação das larvas com o isolado fúngico, e a o final de sete dias, *D. flagrans* demonstrou melhor desempenho em relação ao controle, observando-se uma redução significativa, ( $p < 0,01$ ) de 93,64% no número médio das L3 recuperadas por meio da técnica de Baermann. Outro estudo de Braga et al. (2009), provou que o crescimento das hifas foi observado nas placas 4 dias após a colocação de pellets adicionados de esporos de *M. circinelloides*.

No presente estudo, os ensaios experimentais foram mantidos à temperatura ambiente (10-20°C), sujeitando-se a variações, especialmente com a ocorrência de temperaturas mais baixas, e ainda assim, houve redução significativa. De acordo com Fontenot et al. (2003), *D. flagrans* tem uma taxa ótima de crescimento em temperatura entre 20 e 30 °C de 15 e 60 mm por semana. Na presença de nematoides, esse fungo consegue produzir de 700 a 800 armadilhas por cm<sup>2</sup> em curto intervalo de tempo. A utilização do fungo *M. circinelloides* se deve a esta razão, por ser um fungo ovicida,

sua utilização em países e regiões com temperaturas mais amenas favorece sua predação nos ovos (HERNANDEZ et al., 2018).

Apesar da alta eficácia de *D. flagrans* em capturar e destruir larvas de estrongilídeos (BRAGA ET AL., 2009; PAZ-SILVA ET AL., 2011), não há dados disponíveis sobre o efeito de *M. circinelloides* em ovos de estrongilídeos, embora sua atividade ovicida contra os ovos de trematódeos e ascarídeos tenha sido demonstrada (CORTIÑAS et al., 2015). A eclosão de ovos de estrongilídeos e o desenvolvimento de larvas L1 a L3 requer níveis de umidade do solo superiores a 15–20% e leva 3 dias a 25–35 °C, 15–24 dias a 10 °C ou várias semanas a temperaturas < 10 °C (MFITILODZE AND HUTCHINSON, 1987). Os ovos de *Strongylus* podem permanecer viáveis abaixo de 6 °C, embora a eclosão não ocorra (HERNANDEZ et al., 2018). Possivelmente houve alta taxa de eclosão dos ovos devido à presenças de larvas infectantes.

O presente estudo demonstrou que, aplicações de no mínimo uma vez por semana, são eficazes na redução das larvas infectantes de ciatostomíneos, pressupondo que, um aumento na frequência dos tratamentos e por períodos maiores, pode-se obter maiores reduções destes agentes. De acordo com Paz-Silva et al. (2011), *D. flagrans* é capaz de capturar e eliminar 94% dos ciatostomíneos L3 quando os esporos são pulverizados diretamente nas fezes de cavalos infectados e 27-99% quando os clamidósporos são administrados por via oral a cavalos de um local climático semelhante (Curitiba, Brasil) (BUZATTI et al., 2015). Estudos realizados com fungos nematofagos, sendo fornecidos diariamente na alimentação de equinos, demonstraram eficácia na redução de nematoides gastrintestinais (BRAGA et al., 2009; FAUSTO et al., 2021; CARMO et al., 2023).

A prevalência de 100% de pequenos estrôngilos (ciatostomíneos) observada, nos três grupos do presente estudo corrobora com estudo de Bellaw & Nilsen, (2020), onde afirmam que os equinos criados a pasto em diversas partes do mundo, possuem maior prevalência e intensidade de ciatostomíneos, representando de 80-100% da carga parasitária total.

A administração de pellets produzidos industrialmente contendo uma associação de esporos do fungo ovicida *Mucor circinelloides* e do fungo predador de larvas *Duddingtonia flagrans* constitui uma estratégia eficaz na redução do risco de infecção por nematoides gastrintestinais em equinos, durante o período de fornecimento, que de 15 meses e não foram observados efeitos adversos, e os animais mantiveram

parâmetros hematológicos dentro dos valores de referência (HERNANDEZ et al., 2016). Os achados do presente estudo reforçam que a utilização combinada de fungos ovícidias e predadores constitui uma estratégia eficaz, uma vez que permite atuar sobre as larvas infectantes de ciatostomíneos.

De modo geral, os resultados obtidos confirmam o potencial dos fungos nematófagos como ferramenta complementar no controle integrado das helmintoses em equinos. A utilização desses agentes biológicos pode contribuir significativamente para a redução da contaminação ambiental e da reinfecção dos animais, representando uma alternativa sustentável frente ao crescente problema da resistência anti-helmíntica.

## **5. CONCLUSÃO**

Conclui-se que os fungos nematófagos *Duddingtonia flagrans* e *Mucor circinelloides* apresentam potencial como agentes de controle biológico de nematoides gastrintestinais de equinos. A utilização desses fungos, de forma isolada ou associada, representa uma estratégia promissora e sustentável, atuando na redução da contaminação ambiental por formas infectantes e contribuindo como ferramenta complementar em programas integrados de controle parasitário. Dessa forma, essa abordagem pode auxiliar na diminuição da dependência do controle químico, favorecendo o manejo sanitário e o bem-estar dos equinos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, M. C.; HIURA, E.; DA FONSECA, L. A.; MAGRI, C.; FERRAZ, C. C. S.; SENA, F. P.; GIRARDI, F. M. Utilization of the Fungus *Duddingtonia flagrans* in Control of Nematode Larvae Development in Equine Stool. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v.5, n.3, p.829-35, 2016.

ARIAS, M.S.; OLIVEIRA, C.F.; SOUZA, J.; MIGUÉLEZ, S.; OLIVEIRA, I.; OLIVEIRA, F.L.; SUÁREZ, J.L.; PAZ-SILVA, A.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; DE GIVES, P.M. Produção mista de esporos de fungos filamentosos para prevenir zoonoses helmínticas transmitidas pelo solo: uma análise preliminar. **Biomed Res. Int.**, 567876, 2013.

ARROYO, F.; OLIVEIRA, J.A.; OLIVEIRA, C.F.; PEDREIRA, J.; OLIVEIRA, J.; ROMASANTA, Á.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; PAZ-SILVA, A.; ARIAS, M.S. Efeito do fungo filamentoso *Mucor circinelloides* no desenvolvimento de ovos do verme ruminal *Calicophoron daubneyi* (Paramphistomidae). **Journal Parasitol.** 103, 199–206, 2017.

BARBOSA, F.C. Eficácia anti-helmíntica da ivermectina em equinos: exames coproparasitológicos e hematológicos. **Ciência Animal Brasileira**, 19(1-12): e-44583, 2018.

BELLAW JL, NIELSEN MK. Meta-analysis of cyathostomin species-specific prevalence and relative abundance in domestic horses from 1975-2020: emphasis on geographical region and specimen collection method. **Parasit Vectors.** Oct 12;13(1):509, 2020.

BUZATTI A, DE PAULA SANTOS C, FERNANDES MA, YOSHITANI UY, SPRENGER LK, DOS SANTOS CD, MOLENTO MB. *Duddingtonia flagrans* no controle de nematóides gastrointestinais de equinos. **Exp Parasitol.** 159:1–4, 2015.

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; SILVA, A. R.; ARAUJO, J. M.; CARVALHO, R. O.; TAVELA, A. O.; CARVALHO, G. R.; CAMPOS, A. K. Biological control of horse cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) using the nematophagous fungus

Duddingtonia flagrans in tropical southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 163, p. 335-340, 2009.

CARMO, T. A.; MENA, M. O.; CIPRIANO, I. A.; FAVARE, G. M.; GUELPA, G. J.; PINTO, S. C.; AMARANTE, A. F. T.; ARAÚJO, J. V.; SOUTELLO, R. V. G. Biological control of gastrointestinal nematodes in horses fed with grass in association with nematophagous fungi Duddingtonia flagrans and Pochonia chlamydosporia. **Biological Control**, 2023.

CORTIÑAS FJ, CAZAPAL-MONTEIRO CF, HERNÁNDEZ JA, ARROYO FL, MIGUÉLEZ S, SUÁREZ J, et al. Uso potencial de *Mucor circinelloides* para o controle biológico de certos helmintos que afetam o gado criado em uma fazenda de cuidados. **Biocontrole Sci Techn**. 25:1443–52, 2015.

FAUSTO, G.C.; FAUSTO, M.C.; OLIVEIRA, Í.S.; OLIVEIRA, S.G.; CARVALHO, L.M.; OLIVEIRA, I.C.; SILVA, E.N.; CAMPOS, A.K.; ARAÚJO, J.V. Formulação do fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* no controle de nematoides parasitas gastrointestinais equinos. *Veterinário. Parasitol*, 296, 109458–109464, 2021.

FAVARE, G. M. de; CIPRIANO, I. A.; CARMO, T. A. do; MENA, M. O.; GUELPA, G. J.; AMARANTE, A. F. T. do; SOUTELLO, R. V. G. de. Anthelmintic resistance of horse strongyle nematodes to ivermectin in São Paulo state, Brazil. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, v. 41, p. 100864, jun. 2023.

HERNÁNDEZ, J.A.; ARROYO, F.L.; SUÁREZ, J.; CAZAPAL-MONTEIRO, C.; ROMASANTA, A.; LÓPEZ-ARELLANO, M.E.; PEDREIRA, J.; MADEIRA DE CARVALHO, L.M.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; ARIAS, M.S.; et al. Feeding horses with industrially manufactured pellets with fungal spores to promote nematode integrated control. **Vet. Parasitol**. 229, 37–44, 2016.

KAPLAN, R. M.; VIDYASHANKAR, A. N. An inconvenient truth: global worming and anthelmintic resistance. **Veterinary Parasitology**, 186: 70-78, 2012.

lichtenfels, j. r., kharchenko, v. a. & dvojnjos, g. m. Illustrated identification keys to strongylid parasites (Strongylidae: Nematoda) of horses, zebras and asses (Equidae). **Veterinary Parasitology**, 156(1-2):4-161, 2008.

MARTINS, Natália; PINTO, Diego Moscarelli; CUNHA, Laís Leal da; LIGNON, Júlia Somavilla; EVARISTO, Tainá Ança Evaristo; MUELLER, Alice; PAPPEN, Felipe Geraldo; NIZOLI, Leandro Quintana. Ciatostomíneos: uma revisão sobre a biologia, importância clínica e controle. **Pubvet**, [S. l.], v. 13, n. 02, 2019.

FONTENOT, M.E. et al. Efficiency of feeding *Duddingtonia flagrans* chlamydospores to grazing ewes on reducing availability of parasitic nematode larvae on pasture. **Veterinary Parasitology**, 118(3-4): 203-213, 2003.

MENDOZA-DE GIVES, P. The nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* reduces the gastrointestinal parasitic nematode larvae population in faeces of orally treated calves maintained under tropical conditions Dose/response assessment. **Veterinary Parasitology**, 263: 66-72, 2018.

MFITILODZE MW, HUTCHINSON GW. Desenvolvimento e sobrevivência de estágios de vida livre de estrongilídeos equinos em condições de laboratório. **Parasitol veterinário**. 23:121–33, 1987.

NIELSEN, M.K. et al. Anthelmintic efficacy against equine strongyles in the United States. **Veterinary Parasitology**, 259: 53-60, 2018.

OLIVEIRA, F.J.; OLIVEIRA, C.F.; OLIVEIRA, J.A.; OLIVEIRA, F.L.; MIGUÉLEZ, S.; SOUZA, J.; DE ARELLANO, M.E.L.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; DE GIVES, P.M.; PAZ-SILVA, A.; Uso potencial de *Mucor circinelloides* para o controle biológico de certos helmintos que afetam o gado criado em uma fazenda de cuidados. **Biocontrol Sci. Technol**. 25, 1443–1452, 2015.

PALOMERO, A. M., CAZAPAL-MONTEIRO, C. F., VIÑA, C., HERNÁNDEZ, J. Á., VOINOT, M., VILÁ, M., SILVA, M. I., PAZ-SILVA, A., SÁNCHEZ-ANDRADE, R., & ARIAS, M. S. Formulating fungal spores to prevent infection by trichostrongylids in a

zoological park: Practical approaches to a persisting problem. **Biological Control**, 152, 104466, 2021.

PAZ-SILVA A, FRANCISCO I, VALERO-COSS RO, CORTIÑAS FJ, SÁNCHEZ JA, FRANCISCO R. Capacidade do fungo *Duddingtonia flagrans* de se adaptar à produção de ovos de ciatostomina espalhando clamidósporos. **Parasitol veterinário**. 179:277–82, 2011.

PEREGRINE, A. S., MCEWEN, B., BIENZLE, D., KOCH, T. G. & WEESE, J. S. Larval cyathostomiasis in horses in Ontario: an emerging disease? The **Canadian Veterinary Journal**, 47(1):80-82, 2006.

PICCOLI, C.; MARQUES, S. M. T.; APPEL, G.; DA SILVEIRA, E.; SIQUEIRA, G. B.; LOOS, D. E.; MATTOS, M. J. T. Helminhos intestinais em cavalos de trabalho e de lazer de Porto Alegre/RS. **Science and Animal Health**, v.3, n.1, p.56-64, 2015.

PIEREZAN, F., RISSI, D. R., OLIVEIRA FILHO, J. C., LUCENA, R. B., TOCHETTO, C., FLORES, M. M., . . . Barros, C. S. L. Enterite granulomatosa associada a larvas de ciatostomíneos em eqüinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 29(5):382-386, 2009.

TZELOS, T. Strongyle egg reappearance period after moxidectin treatment and its relationship with management factors in UK equine populations. **Veterinary Parasitology**, 237: 70-76, 2017.

YANG, J.L. WANG, J. XINGLAI, Y. FENG, X. LI, C. ZOU, J. XU, Y. REN, Q. MI, J. WU, S. LIU, Y. LIU, X. HUANG, H. WANG, X. NIU, J. LI, L. LIANG, Y. LUO, K. JI, W. ZHO. Z YU, G. LI, Y. LIU, L. LI, M. QIAO, L. FENG, K.O. ZHANG. Genomic and proteomic analyses of the fungus *Arthrobotrys oligospora* provide insights into nematode-trap formation. PLoS. **Pathog.**, 7, pp. 100-17, 2011.

## CONCLUSÕES GERAIS

Conforme os resultados apresentados, no primeiro estudo realizado com equinos, foi possível detectar a presença de resistência anti-helmíntica dos ciatostomíneos à ivermectina. No entanto, ainda se observava alta eficácia da associação de praziquantel + doramectina e moxidectina em rebanhos de equinos na região estudada. Onde foi identificada a prevalência de Ciatostomíneos, já *Strongylus vulgaris* foram encontrados apenas em uma propriedade onde apresentavam longos intervalos entre os tratamentos.

Diante da necessidade de adoção de estratégias integradas de controle, a utilização dos fungos nematófagos *Duddingtonia flagrans* e *Mucor circinelloides* demonstrou potencial como alternativa promissora no controle de nematoides gastrintestinais de equinos mantidos a pasto. Dessa forma, o uso desses agentes biológicos pode contribuir como ferramenta complementar em programas de controle parasitário, auxiliando na redução da dependência de anti-helmínticos e favorecendo um manejo mais sustentável.