

SUSCETIBILIDADE *IN VITRO* DE FUNGOS NEMATÓFAGOS A FÁRMACOS ANTIPARASITÁRIOS: INTERAÇÕES E IMPLICAÇÕES NO CONTROLE BIOLÓGICO

JULIANA NUNES VIEIRA¹; FERNANDO DE SOUSA MAIA FILHO¹; GRACIALDA FERREIRA DE FERREIRA²; MARCOS MARREIRO VILLELA³; DANIELA ISABEL BRAYER PEREIRA³; PATRÍCIA DA SILVA NASCENTE³

¹ Programa de Pós-Graduação Parasitologia, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, UFPel - jujununesvieira@yahoo.com.br; fmaia2404@yahoo.com.br

² Graduação, Faculdade de Veterinária, UFPel - graci.f.ferreira@bol.com.br.

³ Professor Dr. Adjunto, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, UFPel - marcosmvillela@bol.com.br; danielabrayer@gmail.com; patsn@bol.com.br

1. INTRODUÇÃO

Dentre os fatores que interferem no desenvolvimento pleno da atividade pecuária, as helmintoses gastrintestinais ocupam lugar de destaque (MOTA et al., 2003). São responsáveis por expressivos prejuízos à pecuária por causarem atraso no desenvolvimento animal, morte e gastos excessivos com manejo, redução da produtividade do rebanho e aumento das perdas econômicas (ARAÚJO et al., 2004). O uso indiscriminado dos anti-helmínticos limitou a utilização da maioria dos compostos, evidenciado pelo aparecimento de resistência, existência de resíduos nos alimentos e ação ecotóxica, tornando-se um problema mundial em animais de produção (CEZAR et al., 2008). Estes inconvenientes têm estimulado a busca de métodos alternativos de controle, que complementem / reduzam o uso dos anti-helmínticos nas estratégias de controle das endoparasitoses em sistemas de produção em pastoreio (SAUMELL et al., 2008). Neste contexto, o controle biológico com fungos nematófagos aparece como uma estratégia promissora e com resultados satisfatórios (ALVES et al., 2003; BRAGA et al., 2008; FERREIRA et al., 2011).

A vantagem de se aliar o controle biológico com fungos nematófagos ao controle químico, é que o primeiro atua sobre as formas infectantes presentes nas fezes, enquanto o segundo, age sobre os nematódeos gastrintestinais que parasitam o animal. No Manejo Integrado de Pragas (MIP) o uso associado de pesticidas incompatíveis pode inibir o desenvolvimento e reprodução de fungos entomopatogênicos, afetando a estratégia de controle no MIP (NEVES et al., 2001; ALIZADEH et al., 2007). Experimentos têm sido conduzidos no sentido de verificar o efeito de produtos químicos sobre fungos entomopatogênicos e têm evidenciado a influência desses compostos sobre a viabilidade dos fungos (BARCI et al., 2009). É notável o número de pesquisas com fungos nematófagos no controle de parasitoses dos animais (GRONVOLD et al., 1996; ARAÚJO et al., 2004; GRAMINHA et al., 2005; CEZAR et al., 2008; SAUMELL et al., 2008; FERREIRA et al., 2011), entretanto, nenhuma delas avaliou a associação desses microrganismos com formulações antiparasitárias de uso frequente. Assim, a carência de estudos de compatibilidade, bem como a falta de uma metodologia de padronização para este tipo de teste, estimulou a realização desta pesquisa, que teve por objetivos verificar a atividade *in vitro* de fármacos preconizados para o tratamento anti-helmíntico de ruminantes sobre a viabilidade de fungos utilizados no controle biológico de parasitos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os fármacos albendazol, tiabendazol, ivermectina, levamisol e closantel foram adquiridos comercialmente de seus fabricantes e os fungos *Arthrobotrys oligospora*, *Duddingtonia flagrans*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Paecilomyces lilacinus*, *Paecilomyces marquandii* e *Paecilomyces variotii* foram cedidos pelo CENARGEN (Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia) – EMBRAPA (Distrito Federal).

O teste de suscetibilidade foi realizado pela técnica de Microdiluição em Caldo (MC), de acordo com o documento de referência M38-A2 (CLSI, 2008) adaptado para a realização de testes com fármacos antiparasitários. Todos os testes foram realizados em duplicata com três repetições.

Para leitura do teste foi realizada comparação visual do crescimento do fungo ocorrido nos poços referentes às diferentes concentrações testadas, com o seu crescimento no poço-controle positivo. A menor concentração capaz de inibir o crescimento do fungo com relação ao poço controle-positivo foi identificada como a CIM (Concentração Inibitória Mínima) do fármaco para esta amostra.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As CIM dos diferentes fármacos frente aos fungos nematófagos testados estão demonstradas na Tabela 1.

Observou-se que os fungos testados apresentaram maior suscetibilidade aos antiparasitários levamisol e closantel, com exceção das espécies *D. flagrans* que foi mais suscetível ao albendazol e *A. oligospora* que foi mais suscetível ao tiabendazol.

As CIMs observadas variaram de 0,937 a 0,039 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para o levamisol e o closantel. Já frente aos antiparasitários ivermectina, albendazol e tiabendazol, evidenciou-se CIMs que variaram de 4,0 a 0,031 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Tabela 1 – Valores das Concentrações Inibitórias Mínimas ($\mu\text{g mL}^{-1}$) dos cinco fármacos antiparasitários estudados frente aos sete fungos nematófagos

Antiparasitários	ivermectina	albendazol	tiabendazol	levamisol	closantel
Fungos Nematofagos					
<i>A. oligospora</i>	0,5	4,0	0,125	0,234	0,312
<i>D. flagrans</i>	0,5	0,031	0,062	0,117	0,039
<i>P. fumosoroseus</i>	2,0	2,0	2,0	0,68	0,312
<i>P. lilacinus</i>	2,0	2,0	2,0	0,937	0,312
<i>P. marquandii</i>	2,0	4,0	2,0	0,234	0,625
<i>P. variotii</i>	2,0	2,0	2,0	0,468	0,625

Na pecuária, o uso associado de controle químico e biológico pode ser uma estratégia viável, diminuindo custos, resistência, toxicidade e manejo, além de reduzir os resíduos nos produtos de origem animal e no ambiente (SOARES; MONTEIRO, 2011). Contudo, não há estudos que visam avaliar as alterações em diferentes variáveis de desenvolvimento de fungos nematófagos causadas pela utilização conjunta destes com fármacos antiparasitários, mesmo esta sendo uma prática de interesse dos pecuaristas que buscam o controle eficiente das endoparasitoses dos ruminantes.

O presente estudo é pioneiro na pesquisa de suscetibilidade de fungos nematófagos aos anti-helmintos utilizados frequentemente no controle químico de parasitoses em animais de produção. Os resultados obtidos evidenciaram que os fungos testados podem ser inibidos pelos fármacos ivermectina, albendazol, tiabendazol, levamisol e closantel.

Estudos mostram que produtos químicos utilizados na agricultura podem ter efeitos antagônicos, nulos ou sinérgicos sobre a atividade inseticida/acaricida de entomopatógenos presentes no agroecossistema (OLIVEIRA et al., 2002). Segundo MOINO JR; ALVES (1998) investigações *in vitro* possuem a vantagem de expor ao máximo o patógeno à ação do produto químico, fato que não ocorre em condições de campo, onde vários fatores servem de obstáculo a essa exposição. Assim, constatada a inocuidade de um produto em laboratório, não há dúvidas sobre a sua seletividade no campo. Por outro lado, a toxicidade de um produto a um microrganismo *in vitro* nem sempre está correlacionada à sua elevada toxicidade em campo, mas sim, à possibilidade da ocorrência de danos dessa natureza. Desta forma, deve-se levar em consideração que os experimentos do presente trabalho foram conduzidos *in vitro*, e que os resultados aqui gerados podem não se repetir em estudos *in vivo*. Para isso, pesquisas que objetivam avaliar a toxicidade dos fármacos em tais condições são necessárias.

4. CONCLUSÕES

No presente estudo, a partir da metodologia empregada, conclui-se que todos os fármacos testados apresentaram efeito inibitório frente aos fungos utilizados em controle biológico. Desta forma, os resultados ora apresentados permitem antever que o conhecimento da compatibilidade dos produtos químicos sobre o desenvolvimento dos fungos é essencial para os programas de controle integrado de parasitoses em animais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALIZADEH, A.; SAMIH, M. A.; KHEZRI, M.; RISEH, R. S. Compatibility of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. with Several Pesticides. **International Journal of Agriculture and Biology**, Faisalabad – Pakistan, v. 9, p. 31–34, 2007.
- ALVES, P. H.; ARAÚJO, J. V.; GUIMARÃES, M. P.; ASSIS, R. C. L.; SARTI, P.; CAMPOS, A. K. Aplicação de formulação do fungo predador de nematóides *Monacrosporium thaumasium* (Drechsler, 1937) no controle de nematóides de bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 6, p. 568-573, 2003.

- ARAÚJO, J. V.; MOTA, M. A.; CAMPOS, A. K. Controle Biológico de helmintos parasitos de animais por fungos nematófagos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Ouro Preto, v.13, supl. 1, p. 165-170, 2004.
- BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; CARVALHO, R. O.; SILVA, A. R.; ARAUJO, J. M.; TAVELA, A. O. Observação in vitro da ação dos fungos nematófagos *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Pochonia chlamydosporia* sobre ovos de *Eurytrema coelomaticum*. **Parasitologia Latinoamericana**, Chile, v. 63, n. 1-2-3-4, p. 40 - 45, 2008.
- CEZAR, A. S.; CATTO, J. B.; BIANCHIN, I. Controle alternativo de nematódeos gastrintestinais dos ruminantes: atualidade e perspectivas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, p. 2083-2091, 2008.
- Clinical and Laboratory Standards Institute Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved standard Document M38-A2. Wayne, P.A.: CLSI. (2008).
- FERREIRA, S. R.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; ARAUJO, J. M.; FERNANDES, F. M. In vitro predatory activity of nematophagous fungi *Duddingtonia flagrans* on infective larvae of *Oesophagostomum* spp. after passing through gastrointestinal tract of pigs. **Tropical Animal Health Production**, v. 43, n 8, p. 1589-1593, 2011.
- GRAMINHA, E. B. N.; MONTEIRO, A. C.; SILVA, H. C.; OLIVEIRA, G. P.; COSTA, A. J. Controle de nematódeos parasitos gastrintestinais por *Arthrobotrys musiformis* em ovinos naturalmente infestados mantidos em pastagens. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 40, n. 9, p. 927-933, 2005.
- GRØNVOLD, J.; HENRIKSEN, S. A.; LARSEN, M.; NANSEN, P.; WOLSTRUP, J. Biological control. Aspects of biological control with special reference to arthropods, protozoans and helminths of domesticated animals. **Veterinary Parasitology**, Ireland, v. 64, n. (1-2), p. 47-64, 1996.
- MOINO JR, A.; ALVES, S. B. Efeito de Imidacloprid e Fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e no Comportamento de *Limpeza de Heterotermes tenuis* (Hagen). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 27, p. 611-619, 1998.
- MOTA, M. A.; CAMPOS, A. K.; ARAÚJO, J. V.; Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 3, p. 93-100, 2003.
- NEVES, P. M. O. J.; HIROSE, E.; TCHUJO, P. T.; MOINO, J. R. A. Compatibility of Entomopathogenic Fungi with Neonicotinoid Insecticides. **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 263-268, 2001.
- OLIVEIRA, R. C.; NEVES, P. M. O. J.; GUZZO, E. C.; ALVES, V. S. Compatibilidade de fungos entomopatogênicos com agroquímicos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 23, n. 2, p. 211-216, 2002.
- SAUMELL, C.; FUSÉ, L.; IGLESIAS, L.; FERNÁNDEZ, S.; FIEL, C. Enfoque bioecológico del potencial de los hongos nematófagos en el control biológico de tricostrongilídeos de rumiantes. **Revista de Medicina Veterinária**, São Paulo, v. 89, p. 45-54, 2008.
- SOARES, F. B.; MONTEIRO, A. C. Compatibilidade de *Metarhizium anisopliae* com carrapaticidas químicos. **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo, v. 78, p. 385-391, 2011.