



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA
PARAÍBA
CAMPUS SOUSA
BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

Francisco Leonardo Roque

**AVALIAÇÃO DO BIOVERM® (*Duddingtonia flagrans*) SOBRE OVOS E LARVAS DE
NEMATÓDEOS PARASITAS DE SUÍNOS**

SOUSA – PB

2022

Francisco Leonardo Roque

AVALIAÇÃO DO BIOVERM® (*Duddingtonia flagrans*) SOBRE OVOS E LARVAS DE
NEMATÓDEOS PARASITAS DE SUÍNOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte das exigências para a conclusão do Curso de Graduação de Bacharelado em Medicina Veterinária do Instituto Federal da Paraíba, Campus Sousa.

Orientador: Prof. Dr. Vinícius Longo Ribeiro Vilela

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Leandro da Silva Carvalho – Bibliotecário CRB 15/875

R786a Roque, Francisco Leonardo
Avaliação do Bioverm (*Duddingtonia flagrans*) sobre ovos e larvas de nematódeos parasitas de suínos / Francisco Leonardo Roque, 2022.
29 p.: il.

Orientador: Prof. Dr. Vinícius Longo Ribeiro Vilela.
TCC (Bacharelado em Medicina Veterinária) - IFPB, 2022.

1. Controle biológico. 2. *Duddingtonia flagrans*. 3. Helmintoses.
4. Fungos nematófagos. I. Vilela, Vinícius Longo Ribeiro. II. Título.

IFPB Sousa / BC

CDU 619

Aos meus familiares pelo apoio incondicional nesta jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida, por estar presente em minhas orações tanto nos momentos felizes como nos momentos difíceis que a vida impõe; pela saúde e proteção de toda a minha família.

Aos meus pais, Luiz e Graça pelo apoio e paciência em me guiar pelo caminho da educação, sempre acreditando em meu potencial, mesmo quando nem eu mesmo acreditava. Sou grato por ter vocês como pais, porque eu sei que vocês fizeram e fazem de tudo para ajudar aos seus filhos.

A meus irmãos Graciene, Graciele e Leandro, pelo incentivo e apoio para a realização do meu sonho.

À minha namorada, Lyandra, por ter plantado em mim a semente da importância dos estudos na formação das pessoas para a sociedade. Por ter apresentado o curso de Medicina Veterinária no IFPB. Por estar sempre ao meu lado, me apoiando e incentivando a ser cada vez uma pessoa melhor. Sem todos os seus conselhos, tudo isso não estaria se realizando. Obrigado por todo amor e carinho.

Aos professores do IFPB, por terem contribuído com o conhecimento durante esses anos de curso. Cada um de vocês foram importantes na minha formação profissional e pessoal.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Vinícius Longo e à minha co-orientadora, Prof. Dra. Thais Feitosa, por todos os conselhos e conhecimentos repassados ao longo desses anos. Obrigado por todos os ensinamentos compartilhados nas pesquisas que foram realizadas.

À minha turma 2017.1, em especial à Vitória, Matheus Estrela, Higor, Júnior e Luana. Vocês se tornaram pessoas importantes durante esses anos. Todos os dias que passamos juntos constituíram momentos importantes, que ficarão sempre marcados em minha memória.

A todos os colegas do Laboratório de Parasitologia Veterinária – LPV pelos momentos de brincadeiras e trabalho durante os experimentos realizados.

RESUMO

Objetivou-se avaliar o Bioverm® sobre ovos de *A. suum* e larvas estrogilídeos de suínos. Foram utilizados 12 suínos, machos, divididos em dois grupos (tratado e controle), com seis animais cada. No grupo tratado, foi fornecido, por animal, a dose única de 1g (10^5 clamidósporos de *Duddingtonia flagrans*) do Bioverm® para cada 10 kg de peso vivo, juntamente com ração comercial. No grupo controle foi fornecido apenas ração comercial, sem tratamento fúngico. Posteriormente, foram obtidas amostras fecais com aproximadamente 100g dos animais de cada grupo a partir de zero, 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas após a administração para a realização de dois ensaios experimentais (Ensaio A e B). No ensaio A, 1000 ovos de *Ascaris suum* foram adicionados sobre o meio AA 2% em placas de Petri contendo 2g de fezes, de acordo com seu respectivo horário. O mesmo procedimento foi realizado para o grupo controle, sem o fungo. Nos intervalos de sete, 14 e 21 dias, os ovos foram avaliados em microscopia óptica. No ensaio B, foram realizadas coproculturas para cada grupo, de acordo com os respectivos horários. Foi adicionada uma alíquota de 300µl de suspensão contendo 2000 L3 de estrogilídeos. As culturas fecais foram incubadas a 26 °C em uma incubadora BOD por 10 dias. Posteriormente, as amostras foram submetidas à técnica de Baerman, para quantificação das L3 não predadas. No ensaio A, observou-se efeito do tipo 1 sobre ovos de *A.suum*. No ensaio B, foi observada redução de 73,9% das L3 de estrogilídeos ($p<0,01$). Concluiu-se que não houve efeito ovicida do Bioverm® sobre *A. suum*, mas houve eficácia no controle de L3 de estrogilídeos de suínos.

Palavras-chave: controle biológico, *Duddingtonia flagrans*, helmintoses, fungos nematófagos.

ABSTRACT

The objective was to evaluate Bioverm® on swine nematode eggs and larvae. Twelve male pigs were divided into two groups of six animals each (treat and control). In the treated group, a single dose of 1g (10^5 chlamydospores of *Duddingtonia flagrans*) of Bioverm® was provided per animal for every 10 kg of live weight, along with commercial feed. In the control group, Only commercial food was provided, without fungal treatment. Subsequently, fecal samples were obtained with approximately 100g from the animals of each group from zero, 12, 24, 36, 48, 60 and 72 hours after administration for the accomplishment of two experimental tests (Assays A and B). In assay A, 1000 *Ascaris suum* eggs were added to AA 2% medium in Petri dishes containing 2g of feces, according to their respective schedule. The same procedure was performed for the control group, without the fungus. At intervals of seven, 14 and 21 days the eggs were evaluated under light microscopy. In assay B, stool cultures were performed for each group, according to the respective schedule. An aliquot of 300µl of suspension containing 2000 L3 of strongyles was added. Fecal cultures were incubated at 26 °C in a BOD incubator for 10 days. Posteriorly, the samples were submitted to the Baerman technique for quantification of non-predated L3. In trial A, a type 1 effect was observed on *A. suum* eggs. In assay B, a reduction of up to 73,9% of strongyles L3 was observed ($p < 0.01$). It was concluded that there was no ovicidal effect of Bioverm® on *A. suum*, but it was effective in controlling swine strongyles L3.

Key words: Biological control, swine, helminthiases, nematophagous fungi.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Atuação de *Duddingtonia flagrans* presente no Bioverm®, com produção de armadilhas e interação com ovos de *Ascaris suum* de suínos. A, B e C: Ovos de *A. suum* circundados por conídios e hifas do *D. flagrans*- efeito do tipo 1 (seta vermelha). D: Ovo de *A. suum* larvado (seta preta).....19

Figura 2 - Total e redução percentual da recuperação de L3 de nematódeos gastrintestinais de suínos no ensaio B (Coproculturas). Letras diferentes em um mesmo espaço de tempo indicam diferença estatística no teste de Tukey a 1% de probabilidade.....21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Avaliação do produto biológico Bioverm® sobre ovos de <i>Ascaris suum</i> de suínos durante 21 dias no ensaio A.....	19
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal

D – *Duddingtonia flagrans*

OPG - Ovos Por Grama de Fezes

A – *Ascaris suum*

AA 2% - Agar água 2%

BOD – Demanda Bioquímica de Oxigênio

L3 – Larva Infectante

RPM – Rotação Por Minuto

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
2.1 Suinocultura no Brasil	13
2.2 Principais parasitos de suínos	13
2.3 Controle da verminose em suínos.....	14
2.4 Fungos helmintófagos no controle da verminose de animais	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 Local de realização do experimento	16
3.2 Fungo a ser utilizado.....	16
3.3 Ensaio <i>in vivo</i> – administração do Bioverm® e coleta de amostras fecais.....	16
3.4 Ensaio <i>in vitro</i> – Viabilidade fúngica após passagem pelo trato gastrintestinal de suínos e atividade predatória sobre ovos e larvas de parasitos	17
3.4.1 Ensaio A - Atividade ovicida sobre ovos de <i>A. suum</i>	17
3.4.2 Ensaio B - Atividade predatória da L3 de <i>Estrongilídeos</i>	18
3.5 Análises Estatísticas.....	18
3.6 Procedimentos éticos	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
5. CONCLUSÃO	23
6. REFERÊNCIAS	24

1. INTRODUÇÃO

A produção de carne suína no Brasil vem apresentando aumento significativo, alcançando 4,4 milhões de toneladas no ano de 2020. Além do aumento da produção, a exportação de carne suína também teve aumento, chegando a um milhão de toneladas, tendo como o principal destino a China, segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2021).

Os sistemas de criação de suínos podem ser classificados de acordo com o manejo adotado, podendo ser: sistema extensivo ou à solta; sistema semiextensivo; sistema intensivo de suínos criados ao ar livre (Siscal) e sistema intensivo de suínos confinados (Siscon). Além disso, eles podem ser classificados como convencionais ou orgânicos (CARVALHO & VIANA, 2011). No entanto, independente do sistema de criação utilizado, a presença da verminose se caracteriza uma realidade, sendo observado em sistema intensivo ou extensivo, causando assim impactos na produção de suínos (D'ALENCAR et al., 2011). Os impactos estão relacionados ao atraso no ganho de peso dos animais, o que atrasa a destinação desses para o abate, desencadeando aumento dos custos de produção com alimentação e medicação (ROEPSTORFF & NANSEN, 1994).

O sistema extensivo é comum em pequenas criações, em geral voltada à subsistência e com baixo nível tecnológico. A alimentação dos animais é, em geral, composta por sobras de alimentos e desperdícios agrícolas, sem orientação nutricional adequada. Além disso, praticamente não há assistência técnica à produção (GUIMARÃES et al., 2017). Neste sistema, as condições rústicas de nutrição, higiene e sanidade podem favorecer a incidência de verminose gastrointestinal, pois as formas infectantes dos parasitos permanecem viáveis no solo por longos períodos, proporcionando uma viável fonte de infecção para os animais (LODDI et al., 2015). D'Alencar et al. (2011), observaram uma maior prevalência do parasitismo gastrointestinal em suínos provenientes de propriedades de subsistência quando comparados àqueles oriundos de propriedades tecnificadas.

Entretanto, os sistemas de criações intensivos também podem ser observados a presença de nematoides, mesmo com um controle sanitário rígido, ambientes sanitizados periodicamente e com prática de vermifugação de forma sistemática. Ocorrendo assim, um menor desafio a reinfecções (FAUSTO et al., 2015; DIAS et al., 2011, 2017).

A verminose gastrointestinal em suínos é de causa multietiológica, sendo os principais gêneros de helmintos *Strongyloides*, *Ascaris*, *Hyostrogylus*, *Trichostrongylus* e *Oesophagostomum*. Esses parasitos são responsáveis por causar prejuízos nas criações de

suínos, relacionados ao retardo na produção e aos custos com tratamento profilático e curativo e, em casos extremos, a morte dos animais (D'ALENCAR et al., 2011; ARAÚJO et al., 2019).

A principal forma de controle da verminose em suínos é por meio da utilização de anti-helmínticos sintéticos do grupo dos benzimidazóis (Albendazole, Fenbendazole e Oxfendazole), avermectinas (Ivermectina); imidazotiazoles (Cloridrato de levamisole) e salicilanilidas (Closantel sódico) (BORGES, 2003). Entretanto, a utilização contínua e repetitiva desses anti-helmínticos vem desenvolvendo cepas de parasitos resistentes, dificultando seu controle (FORTES & MOLENTO, 2013). Desta forma, medidas alternativas para o controle da verminose em suínos vêm sendo estudadas, dentre elas, o controle biológico por fungos helmintófagos.

O controle da verminose com fungos hematófagos é realizado de forma prática, por ocorrer o fornecimento do fungo de forma oral. Após a administração, estes fungos são excretados juntamente com as fezes para o meio ambiente, onde atuam na fase de vida livre dos parasitas. Ao colonizar as fezes, os fungos produzem armadilhas ao entrar em contato com os ovos e larvas dos parasitos, levando-os à morte, reduzindo, assim, as taxas de reinfecção dos animais. Dentre as espécies fúngicas, as produtoras de clamidósporos se destacam pela capacidade de sobreviver à passagem pelo trato gastrintestinal dos animais, tendo como exemplos *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e algumas espécies de *Arthrobotrys* (CHANDRAWATHANI et al., 2004; ARAÚJO et al., 2004).

No ano de 2019 foi lançado no mercado um produto brasileiro de controle biológico denominado Bioverm® (GhenVet Saúde Animal Ltda.), que foi licenciado para comercialização pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) sob o nº. SP-10.261/2019. A composição do Bioverm® inclui clamidósporos do fungo *D. flagrans*, sendo indicada para o controle da helmintíase gastrintestinal em ruminantes, equinos e suínos. Experimentos já realizados em bovinos, equinos e ovinos demonstraram redução da carga parasitária no ambiente e conseqüentemente nos animais, além da melhora do desempenho produtivo do animal, com o aumento do peso (HOLSBACK et al.; OLIVEIRA et al.; FAUSTO et al., 2021).

Devido à necessidade de serem estudadas e descritas formas alternativas de controle da verminose gastrintestinal de suínos, este trabalho objetivou avaliar a eficácia do produto comercial Bioverm®, contendo clamidósporos de *D. flagrans*, sobre ovos de *Ascaris suum* e larvas infectantes de estrogilídeos parasitos gastrintestinais de suínos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Suinocultura no Brasil

O setor da suinocultura do Brasil vem demonstrando um crescimento constante ao longo dos últimos anos, apresentando uma produção de 4,4 milhões toneladas de carne, com 1,9 milhões de matrizes em alojamento, aumento do consumo de carne suína para 16 kg/habitantes e o seu destino da produção de carne de 23% para a exportação, tendo como principal destino a China (51% - 513 mil toneladas) e 77% para o mercado interno (ABPA, 2021).

O efetivo de suíno no Brasil é de 39 milhões de animais e na região do Nordeste é de 4 milhões (IBGE, 2017). Nessa Região, principalmente no Semiárido, a criação de suínos ocorre predominantemente em pequenas propriedades, com sistema semiextensivo, apresentando poucas unidades de animais, sem um controle de sanidade adequado, sua vermifugação ocorre de forma esporádica, caracterizando assim por adquirir o peso de abate de forma tardia, sem nenhum melhoramento genético, nem orientação nutricional para ganho de peso (DIAS et al., 2017).

No entanto, nas Regiões Sul do Brasil, os produtores familiares em pequenos estabelecimentos agropecuários constituem o grupo mais numeroso. Geralmente, são integrados a agroindústrias ou cooperativas, com unidades de creche ou terminação ou na produção de leitões (MIELE, 2017). Os Estados de Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Paraná são os maiores responsáveis pelo abate e exportação de suínos do Brasil (ABPA, 2021).

Apesar do sistema ser intensivo, a presença da verminose nesse modelo de criação também pode ser observada levando a perdas econômicas que são subestimadas (CARREIRO et al., 2016). Uma metanálise realizado por Kepper et al., (2011), sobre os efeitos do endoparasitismo em suínos demonstrou um aumento de dias na fase de terminação para atingir o peso de abate devido principalmente a redução de consumo de ração e efeito do parasitismo.

2.2 Principais parasitos de suínos

O pouco conhecimento sobre helmintos de suínos e de suas consequências para a suinocultura impede o reconhecimento da necessidade da aplicação de medidas de controle, contribuindo para a manutenção da infecção nos plantéis e para a ocorrência de prejuízos que são subestimados (D'ALENCAR et al., 2011).

Araújo (2019), avaliando a prevalência da verminose no semiárido da Paraíba observou que de 187 exames realizadas obteve 43 (22,9%) animais positivos para nematódeos gastrintestinal. Nas 55 coproculturas realizadas para identificação das larvas de terceiro estágio, destas, 44 (80%) apresentaram-se positivas para larvas, identificando-se os gêneros *Oesophagostomum* 56,8% (25/44), *Strongyloides* 43,1% (19/44), *Hyostrogylus* 18,1% (8/44) e infecção mista em 47,7% (21/44) das amostras.

Loddi et al. (2015), observaram as seguintes prevalências: 91,89% para nematoides gastrintestinais (34/37), 29,73% para *Strongyloides spp.* (11/37), 18,92% para *Ascaris spp.* (7/37), além de dois animais positivos para coccídeos (5,4%).

A infecção por *A. suum* pode afetar todo o ciclo de produção dos suínos, mas os fatores de alojamento e manejo muitas vezes determinam qual faixa etária mostra a maior prevalência. Além disso, a infecção por esse parasita em sua maioria dos casos não é observada a presença de sinais clínicos, porém na fase aguda os suínos podem demonstrar presença de tosse transitória. No exame post-mortem, esse helminto pode ser encontrado no lume intestinal e no fígado pode ser observada a presença de manchas brancas (BOES et al., 2010; DIAS et al., 2011).

Além disso, mesmo em propriedades tecnificadas pode ser observada a presença desse parasita na criação, principalmente em animais jovens, mesmo realizando a prática de vermifugação dos suínos. Dessa forma, a espécie *A. suum* é a principal parasitose na suinocultura nacional que decorre em grandes perdas econômicas, principalmente relacionadas a condenação do fígado de suínos abatidos (DIAS et al., 2011, 2016).

2.3 Controle da verminose em suínos

Para a realização do controle da verminose é fundamental que o produto utilizado seja capaz de assegurar a saúde e segurança dos organismos vivos, além de considerar fatores essenciais para o tratamento estratégico baseado na epidemiologia do parasito observado no sistema de criação (MOTA et al., 2003).

D'Alencar et al. (2011), avaliando a prevalência de helmintos gastrintestinais de suínos abatidos de granjas tecnificadas e de subsistência no Recife e Zona da Mata do estado de Pernambuco observou que todas realizavam a utilização de anti-helmínticos, sendo uma maior prevalência de fenbendazole em 66,7% (6/9) com uso contínuo na ração de forma profilática, a ivermectina em 22,2% (2/9) das granjas e ivermectina e cloridrato de levamisole em 11,1% (1/9).

Araújo (2019), avaliando os parasitos gastrintestinais de suínos de 55 propriedades criados em sistema de produção de agricultura familiar no semiárido paraibano observou que 187 amostras de fezes coletas, 42 animais não eram submetidos a prática de vermifugação, onde desses animais 13 (31%) foram positivos para nematódeos, enquanto dos 145 animais que eram submetidos a vermifugação somente 16 (11%) foram positivos.

No entanto, apesar da prática da vermifugação pode ser observada a presença de nematoides principalmente devido a erros de manejos, sendo fundamental o controle das formas infectantes do helminto presentes no meio, pois assim, a probabilidade de reinfecção seria também reduzida, o que possibilitaria a diminuição da frequência do uso de anti-helmíntico (DIAS et al., 2011). Os principais erros de manejos estão relacionados a uma densidade populacional aumentada, o estresse térmico, a ineficiência na limpeza nas instalações onde os animais vivem e as condições climáticas como temperaturas altas e umidade do ambiente (URQUHART et al., 1998).

2.4 Fungos helmintófagos no controle da verminose de animais

Os gêneros *Arthrobotrys*, *Duddingtonia* e *Monacrosporium* são as principais espécies de fungos helmintófagos estudados. Sua principal característica é a produção de armadilhas que podem ser diferenciadas em seis tipos: (a) hifas adesivas não diferenciadas; (b) ramificações de hifas que sofrem anastomose, formando redes adesivas tridimensionais; (c) ramificações adesivas, que, às vezes, podem se unir formando um adesivo bidimensional simples redes; (d) nódulos adesivos; (e) anéis de constrição; e (f) anéis não constringentes. No entanto, as redes adesivas são os tipos de armadilha mais encontrados nos fungos predadores (BRAGA & ARAÚJO., 2014).

O fungo *D. flagrans* captura os nematódeos através da produção de armadilhas e logo após ocorre a penetração das hifas na cutícula do nematoide, onde ocorre o crescimento destas hifas e a digestão dos conteúdos internos (MOTA et al., 2003). Devido ao seu mecanismo de ação, vários trabalhos têm demonstrado que *D. flagrans* é bastante eficaz para reduzir o número de larvas na matéria fecal e, como consequência, na pastagem (JOBIM et al., 2008). Além desse fungo, são descritos na literatura outros fungos nematófagos que são utilizados no controle da verminose como *Monacrosporium thaumasium* e *Arthrobotrys conoides* (ARAÚJO et al., 2004).

Diante disso, o uso de fungos apresenta potencial para o controle biológico, demonstrando ser uma alternativa viável e segura para animais, humanos e meio ambiente.

Assim, com esse viés atualmente foi lançado no mercado um produto biológico contendo clamidospóros do fungo *Duddingtonia flagrans*, com nome comercial de Bioverm.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local de realização do experimento

Os ensaios experimentais foram conduzidos no setor de Suinocultura e no Laboratório de Parasitologia Veterinária (LPV) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba (IFPB), campus Sousa-PB.

3.2 Fungo a ser utilizado

Foi utilizado produto antiparasitário de uso veterinário denominado de Bioverm[®] (GhenVet Saúde Animal, Paulínia, SP, Brasil). Apresentando em sua composição 10^5 /g clamidósporos de *D. flagrans*, sendo comercializado na forma de pó de fina granulometria, embalados em sacos de polipropileno de cor cristal e hermeticamente lacrados.

3.3 Ensaio *in vivo* – administração do Bioverm[®] e coleta de amostras fecais

Foram utilizados doze suínos, machos, mestiços, com idades entre três e cinco meses, com peso médio de 60-80 kg, que foram mantidos em baias no setor de Suinocultura do IFPB campus Sousa-PB, com ração comercial específica para suínos e água *ad libitum*. Estes animais foram tratados previamente com o anti-helmíntico Cloridrato de Levamisol 7,5% (Ripercol[®] L – Zoetis Indústria de Produtos Veterinários LTDA), na dose de 1mL/ 20Kg, via subcutânea. Após dez dias do tratamento, foram realizadas três contagens de Ovos Por Grama de Fezes (OPG), de acordo com Gordon e Whitlock (1939). Após a confirmação de OPG zero, os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos (tratado e controle), com seis suínos cada.

No grupo tratado, foi fornecido por animal a dose única de 1g (10^5 clamidósporos de *D. flagrans*) do produto Bioverm[®] para cada 10 Kg de peso vivo, conjuntamente com ração comercial. No grupo controle, cada animal recebeu 1g de ração comercial para cada 10 kg de peso vivo. Posteriormente, foram obtidas amostras fecais com aproximadamente 100g dos animais de cada grupo a partir de 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas após a administração, conforme descrito por Araújo et al. (2010).

3.4 Ensaio *in vitro*– Viabilidade fúngica após passagem pelo trato gastrointestinal de suínos e atividade predatória sobre ovos e larvas de parasitos

Ovos de *A. suum* e de estrongilídeos foram obtidos por meio de recuperação fecal, após coleta de fezes em suínos positivos em técnica de OPG para parasitos gastrintestinais, no setor de Suinocultura do IFPB. Nas amostras positivas apenas para *A. suum*, ovos foram recuperados de acordo com a técnica dos quatro tâmises metálicos de Girão & Ueno (1982). Os ovos dos nematóides foram recuperados do tâmis com menor abertura entre malhas e diluídos com água destilada de modo a comporem uma suspensão, com aproximadamente 150.000 ovos. Amostras positivas apenas para estrongilídeos foram destinadas à realização de coproculturas, de acordo com Roberts e O'Sullivan (1950), para a obtenção de larvas infectantes de terceiro estágio. Amostras positivas para mais de um parasito foram descartadas.

3.4.1 Ensaio A - Atividade ovicida sobre ovos de *A. suum*

Mil ovos de *A. suum* foram adicionados sobre o meio AA 2% em placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro contendo 2g de fezes de suínos de acordo com cada horário de coleta de zero (antes da administração fúngica) e 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas após a administração do produto. O mesmo procedimento foi realizado em placas de Petri contendo apenas o meio AA 2% (sem fungo), constituindo o grupo controle. Cada um dos grupos foi constituído por 10 repetições. Posteriormente, nos intervalos de 7, 14 e 21 dias, aproximadamente 100 ovos foram retirados de cada placa de acordo com a técnica descrita por Araújo et al. (1995). Os ovos foram então colocados em lâminas de vidro com uma gota de azul de Amam 1% e avaliados em microscopia de luz de acordo com os parâmetros estabelecidos por Lysek et al. (1982):

- 1) efeito do tipo 1, efeito lítico sem prejuízo morfológico à casca do ovo, onde hifas são observadas aderidas à casca;
- 2) efeito do tipo 2, efeito lítico com alteração morfológica da casca e embrião do ovo, sem penetração de hifas através da casca;
- 3) efeito do tipo 3, efeito lítico com alteração morfológica do embrião e da casca, além de penetração de hifas e colonização interna do ovo.

3.4.2 Ensaio B - Atividade predatória da L3 de Estrongilídeos

As fezes coletadas dos animais, em cada intervalo, foram homogeneizadas e 15g foram adicionadas em cada coprocultura, com adição de vermiculita expandida, sendo realizadas em triplicata para cada amostra. Foi adicionado uma alíquota de 300µl de suspensão contendo 2000 L3 de strongilídeos, seguindo a metodologia de Rodrigues et al. (2021). As culturas fecais foram incubadas a 26 ° C em uma incubadora BOD por 10 dias. Após esse período as L3 não predadas foram retiradas com auxílio de uma espátula metálica e submetido a técnica de Baermann (UENO & GONÇALVES, 1998). O conteúdo foi lavado e centrifugado por três vezes em tubos de ensaio por cinco minutos a 1.500 rpm. Em seguida, foi descartado o sobrenadante sem a presença de larvas, e o volume dos tubos igualado para 3 mL, e o número de larvas estimado em cinco alíquotas de 50µl (RODRIGUES et al., 2021).

3.5 Análises Estatísticas

A taxa de predação de larvas foi estimada comparando-se a média do número de larvas recuperadas nos grupos tratado e controle. Segundo equação desenvolvida por Mendoza-De-Guives et al. (1999).

$$\text{Redução (\%)} = \frac{\text{Média L3 recuperados do GC} - \text{Média L3 recuperados do GT}}{\text{Média L3 recuperada do GC}} \times 100$$

GC – Grupo Controle; GT – Grupo Tratado

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk. As amostras apresentaram distribuição normal, sendo submetidas ao teste T para amostras independentes ao nível de 5% de probabilidade. Os resultados foram analisados no programa GraphPad Prism 9.0.

3.6 Procedimentos éticos

A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba (CEUA/IFPB), de acordo com as normas e regulamentos vigentes, sob número de registro 23000.000665.2020-71.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ensaio A, o produto biológico Bioverm[®] durante o período experimental demonstrou efeito do tipo 1 sobre ovos de *A.suum*, sem danos aos embriões (Tabela 1). Esse resultado foi semelhante ao de Araújo et al. (2008), no qual avaliando três fungos *Duddingtonia flagrans*,

Monacrosporium sinense e *Pochonia chlamydosporia* sobre ovos de *A. suum*, observou que o *D. flagrans*, apresentou também uma atividade do tipo 1 nos ovos desse parasito. Assim, esse achado indica que esse fungo não possui atividade ovicida, uma vez que Lysek (1976) considera apenas como ovicida os fungos com efeito do tipo 3 sobre ovos de nematóides.

Tabela 1 – Avaliação do produto biológico Bioverm® sobre ovos de *Ascaris suum* de suínos durante 21 dias no ensaio A.

Período	Grupos	Horários						
		0h	12h	24h	36h	48h	60h	72h
7 Dias	Bioverm	-	-	T1	T1	T1	-	-
	Controle	-	-	-	-	-	-	-
14 Dias	Bioverm	-	-	T1	T1	T1	-	-
	Controle	-	-	-	-	-	-	-
21 Dias	Bioverm	-	-	T1	T1	T1	-	-
	Controle	-	-	-	-	-	-	-

T1: Efeito lítico sem prejuízo morfológico à casca do ovo, onde as hifas são observadas aderidas à casca.

No ensaio A, nas placas de Petri observou-se uma intensa produção espontânea de armadilhas, principalmente hifas adesivas e conídios, com presença dessas estruturas ao redor dos ovos, principalmente nos intervalos de 24h, 36h e 48h, no qual ocorreu atuação sobre os ovos de *A. suum* do tipo 1, não sendo observado efeito do tipo 2 e 3 que pudesse alterar a viabilidade dos ovos. Além disso, após os 21 dias foi observada a presença de larvas nos ovos, conferindo-lhes status de infectantes, podendo ser capazes de infectar os animais (Figura 1).

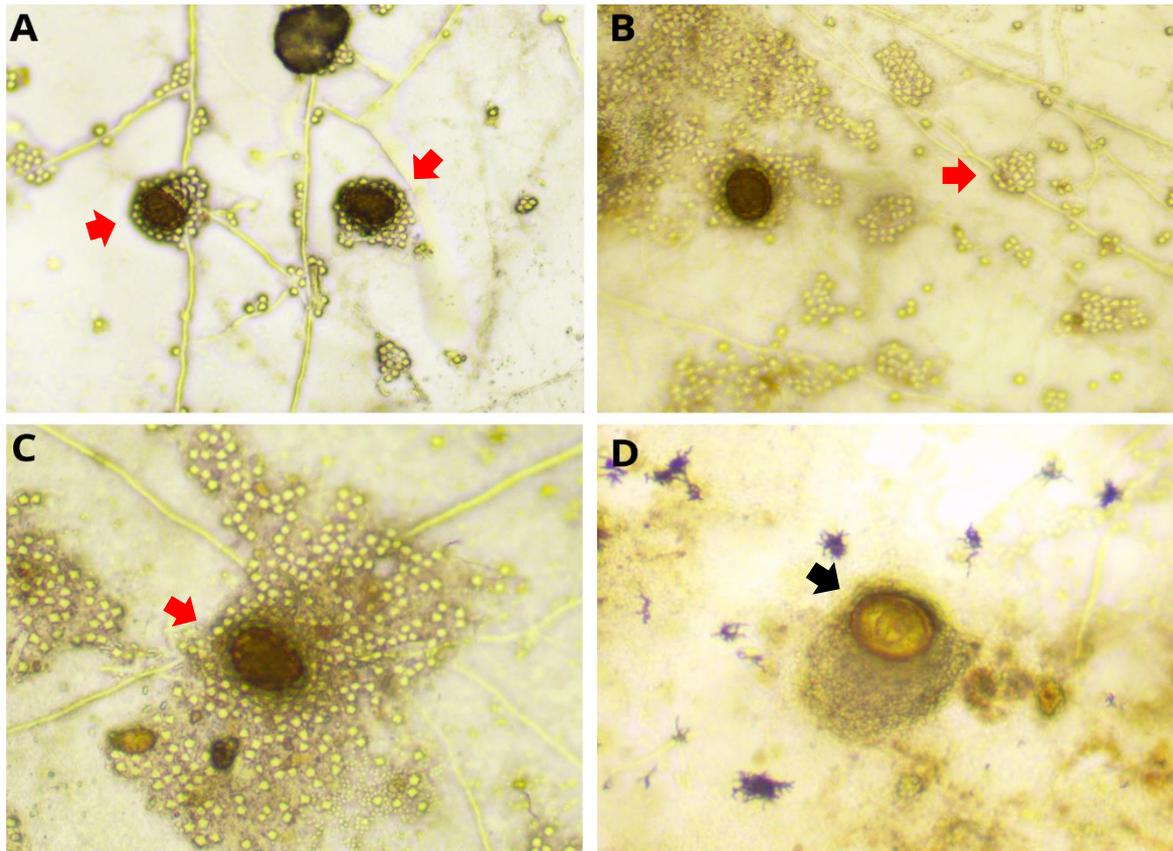


Figura 1–Atuação de *Duddingtonia flagrans* presente no Bioverm[®], com produção de armadilhas e interação com ovos de *Ascaris suum* de suínos. A, B e C: Ovos de *A. suum* circundados por conídios e hifas do *D. flagrans*- efeito do tipo 1 (seta vermelha); D: ovo de *A. suum* larvado (seta preta).

Os ovos desse parasita apresentam uma resistência associada à presença de uma casca muito espessa com três camadas, sendo a mais externa a albuminosa, que confere uma aparência irregular ao ovo (MONTEIRO, 2017). Essas camadas são constituídas por quitina (camada de proteína), lipoproteína (camada vitelina), e mucopolissacarídeo (camada ácida de proteína uterina) (BROWNELL & NELSON, 2006).

A atuação dos fungos ovicidas ocorre a partir do contato do ovo com as hifas, ocorrendo a formação do *appresorium*, que é uma estrutura usado para adesão e penetração no ovo do parasita, essa penetração ocorre especialmente devido a ação de enzimas produzidas pelo fungo e por um processo mecânico. Estas enzimas irão danificar a cápsula por ação quitinolítica e proteolítica (LYSEK, 1978; LÝSEK & STERBA, 1991; MALAGÓN, 2014). Assim, durante o período experimental foi observado aderência das estruturas do fungo aos ovos de *A. suum*, porém não foi observado uma ação que pudesse inviabilizar os ovos.

No ensaio B, foi observado redução das L3 de estrongilídeos de suínos nas coproculturas, apresentando um pico de atuação sobre as larvas em 24 horas após o fornecimento do produto, ocorrendo, assim, uma redução de 73,9% das larvas infectantes (Figura2).

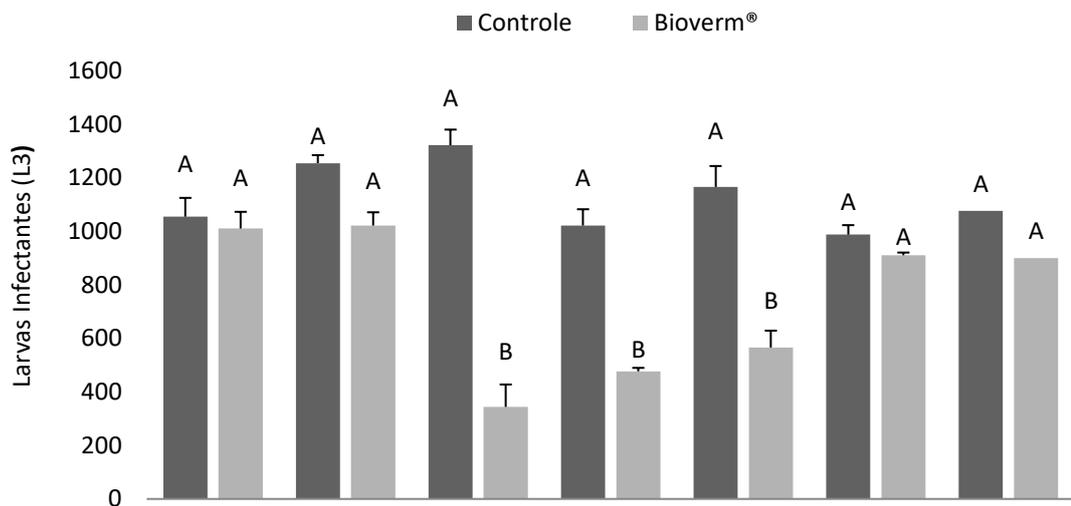


Figura 2 - Total e redução percentual da recuperação de L3 de nematódeos gastrintestinais de suínos no ensaio B (Coproculturas). Letras diferentes em um mesmo espaço de tempo indicam diferença estatística no teste de Tukey a 1% de probabilidade.

A eficácia observada na presente pesquisa demonstra viabilidade fúngica após o trânsito pelo sistema gastrintestinal de suínos. Rodrigues et al. (2017), utilizando *D. flagrans* formulado em farelo de arroz no controle de *Oesophagostomum spp.* de suínos, após a passagem pelo trato gastrintestinal, observaram redução das L3 ao longo do período experimental, com uma maior efetividade de 63% em 24 horas. Esses resultados são semelhantes aos observados nesse experimento do ensaio B utilizando o produto biológico.

Braga et al. (2020), avaliando a passagem do produto Bioverm® pelo trato gastrintestinal em ovinos observaram a atividade predatória de 91,5% das L3 de *Haemonchus contortus* e *Strongyloides papillosus*, o produto demonstrou eficácia após 12 horas e permaneceu com resultados semelhantes por até 60 horas.

Experimento realizado por Rodrigues et al. (2021), em bovinos utilizando o Bioverm® tanto em ensaio em placas de Petri como em coproculturas, observaram pico de predação larval em 48 horas após a administração do produto, com uma redução superior a 80%.

Fausto et al. (2021), avaliando o Bioverm® em equinos por um período de seis meses observaram redução de L3 nas pastagens, redução do OPG e maior ganho de peso dos animais que receberam o produto em comparação ao grupo controle. Em outros experimentos a campo, realizados com ovinos e bovinos, foi observado uma redução do OPG em até 90% a partir do terceiro mês de uso (HOLSBACK et al; 2021; OLIVEIRA et al. 2021). Demonstrando assim a efetividade do controle de larvas infectantes presentes nas fezes causado pelo *D. flagrans* contido no Bioverm®.

5. CONCLUSÃO

Concluiu-se que o produto biológico Bioverm® apresentou viabilidade após a passagem pelo trato gastrointestinal de suínos. No ensaio A, não ocorreu efeito ovicida sobre ovos de *A. suum*. No ensaio B, foi observada redução das larvas infectantes de estrogilídeos demonstrando o seu potencial de predação de larvas no controle da verminose. O desenvolvimento de um novo produto com a associação entre fungo predador e fungo ovicida pode ser uma alternativa para melhorar o controle da verminose em suínos, comumente parasitados por *A. suum* e estrogilídeos.

6. REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, H. G. Parasitos gastrintestinais de suínos criados em sistema de produção de agricultura familiar no semiárido paraibano, nordeste do Brasil. **Dissertação Mestrado** – 54 f., Patos, 2019.
- ARAÚJO, J. M.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; & CARVALHO, R. O. In vitro predatory activity of nematophagous fungi and after passing through gastrointestinal tract of equine on infective larvae of *Strongyloides westeri*. **Parasitology Research**, v. 107(1), p. 103–108. 2010.
- ARAÚJO, J. M.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; & CARVALHO, R. O. In vitro predatory activity of nematophagous fungi and after passing through gastrointestinal tract of equine on infective larvae of *Strongyloides westeri*. **Parasitology Research**, v. 107(1), p. 103–108. 2010.
- ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; SILVA, A. R.; ARAÚJO, J. M.; TAVELA, A. O. In vitro evaluation of the effect of the nematophagous fungi *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium sinense*, and *Pochonia chlamydosporia* on *Ascaris suum* eggs. **Parasitology Research**, v. 102, p. 787–790, 2008.
- ARAÚJO, J. V.; SANTOS, M. A.; FERRAZ, S. Efeito ovicida de fungos nematófagos sobre ovos embrionados de *Toxocara canis*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**v. 47: p. 37–42. 1995.
- ARAÚJO, J. V.; ASSIS, R. C. L.; CAMPOS, A. K.; MOTA, M. A. Atividade in vitro dos fungos nematófagos dos gêneros *Arthrobotrys*, *Duddingtonia* e *Monacrosporium* sobre nematoides tricostrongilídeos (nematoda: Trichostrongyloidea) parasitos gastrintestinais de bovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, n.2, p.65-71, 2004.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL – **ABPA**. Relatório anual 2021. Carne suína, 51-65p. Acesso em; https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2021/04/ABPA_Relatorio_Anual_2021_web.pdf. Data: 29/11/2021.
- BOES, J.; KANORA, A.; HAVNC, K. T.; CHRISTIANSEN, S.; VESTERGAARD-NIELSENE, K.; JOS JACOBS. ALBANA, L. Effect of *Ascaris suum* infection on performance of fattening pigs. **Veterinary Parasitology**v. 172, p. 269–276, 2010.
- BORGES C. C. L. Atividade in vitro de anti-helmínticos sobre larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de caprinos, utilizando a técnica de coprocultura quantitativa (Ueno, 1995). **Parasitologia Latino americanav.** 58, p. 142-147, 2003.
- BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V. Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. **Appl Microbiol Biotechnol**v. 98: p.71–82 2014.
- BRAGA, F. R.; FERRAZ, C. M.; SILVA, E. N.; ARAÚJO, J. V. Efficiency of the Bioverm® (*Duddingtonia flagrans*) fungal formulation to control in vivo and in vitro of *Haemonchus contortus* and *Strongyloides papillosus* in sheep. **3 Biotech**.2020.

BRANCO DE OLIVEIRA, L. S. S C.; 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**, v. 10, p. 548,2021.

BROWNELL, S. A.; NELSON, K. L. Inactivation of Single-Celled *Ascaris suum* Eggs by Low-Pressure UV Radiation. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 72, N. 3, p. 2178–2184, 2006.

CARREIRO C. C.; COELHO C. D.; JORGE J. L. B. P.; COSTA N. O. G.; PAIVA R. V.; CARVALHO, P. L. C.; VIANA, E. F. Suinocultura SISCAL e SISCON: análise e comparação dos custos de produção. **Custos e @gronegócio online** - v. 7, n. 3, p. 2-20, 2011.

CHANDRAWATHANI, P.; JAMNAH, O.; ADNAN M.; WALLER, P. J.; LARSEN, M.; GILLESPIE, A.T. Field studies on the biological control of nematode parasites of sheep in the tropics, using the microfungus *Duddingtonia flagrans*. **Veterinary Parasitology**v. 120, p. 177–187, 2004.

D’ALENCAR, S.; FARIAS, M. P. O.; ROSAS, E. O.; LIMA, M. M.; ALVES, L. C.; FAUSTINO, M. A. G. Influência do manejo higiênico-sanitário na infecção por helmintos gastrintestinais em suínos de granjas tecnificadas e de subsistência abatidos na região metropolitana de recife e zona da mata do estado de pernambuco, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.78, n.2, p.207-215, 2011.

DIAS, A. S.; TANURE, A. M.; MANHÃES, H. G. V. C. Condemnation flivers of swuine in age of abai tho rassociated to parasitismo of *Ascaris suum* in zona da mata region, Minas Gerais state. **Scientific Electronic Archives**, v. 9, n. 3, p. 6-10, 2016.

DIAS, A. S.; TANURE, A. M.; MANHÃES, H. G. V. C. Condenação de fígados associado a parasitismo por *Ascaris suum* em suínos oriundos de criatórios, na Zona da Mata, Minas Gerais. **Scientific Electronic Archives**, v. 10 (2), p. 1-3, 2017.

DIAS, A. S.; TANURE, A. M.; MANHÃES, H. G. V. C. Ocorrência de *Ascaris suum* em suínos abatidos na Zona da Mata, Minas Gerais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science.**, São Paulo, v. 48, n. 2, p. 101-106, 2011.

FAUSTO, G. C.; FAUSTO, M. C.; VIEIRA, I. 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**v. 295, 2021.

FAUSTO, M. C.; OLIVEIRA, I. C.; FAUSTO, G. C.; CARVALHO, L. M.; VALENTE, F. L.; CAMPOS, A. K.; ARAÚJO, J. V. *Ascaris suum* in pig sof the Zona da Mata, Minas Gerais State, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 24, p. 375-378, 2015.

FORTES, F. S.; MOLENTO, M. B. Resistência anti-helmíntica em *nematoides* gastrintestinais de pequenos ruminantes: avanços e limitações para seu diagnóstico. **Pesquisa Veterinária Brasileira** v. 33(12) p. 1391-1402, 2013.

GIRÃO, E. S.; UENO, H. Nova técnica de contagem de ovos para o diagnóstico de fascioloses crônicas em ruminantes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE **Revista Brasileira de Plantas**

Medicinais, Botucatu, v.12, n.4, p.421-426, 2010. **PARASITOLOGIA**, 7., 1982, Porto Alegre. Resumo... Porto Alegre, p.36, 1982.

GORDON, H. L.; WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council of Scientific and Industrial Research**, v.12, n.1, p.50-52, 1939.

GUIMARÃES, D.; AMARAL, G.; MAIA, G.; LEMOS, M.; ITO, M.; CUSTODIO, S. Suinocultura: Estrutura da cadeia produtiva, panorama do setor no Brasil e no mundo e o apoio do BNDES. **Agroindústria | BNDES Setorial**v. 45, p. 85-136, 2017.

HOLSBACK. L.; LIMA, H. E.; PORTO, P. P.; MARQUEZ, E. S.; ZACARIAS, F. G. S.; PORTO, E. P. Biological control of nematodes by nematode-trapping fungi *Duddingtonia flagrans* in naturally infected sheep in southern Brazil. **German Journal of Veterinary Research**. v. 2 p. 17-26. 2021.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário 2017**. Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação. Rio de Janeiro, v. 8, p.1-105, 2019.

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

KIPPER, M.; ANDRETTA, I.; MONTEIRO, S. G.; LOVATTO, P. A.; LEHNEN, C. R. Meta-analysis of the effects of endoparasites on pig performance. **Veterinary Parasitology**, v. 181, p. 316–320, 2011.

LODDI, M. M.; LEITE, D. M. G.; ROCHA, R. A.; ANDRZEJESKI, A. C.; MARTINS, J. S. Levantamento preliminar da análise parasitária de suínos adaptados localmente na região centro-sul do estado do Paraná-Brasil. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11 n.22; p.2111, 2015.

LYSEK, H. A scanning electron microscope study of the effects of an ovicidal fungus on the eggs of *Ascaris lumbricoides*. **Parasitology**v. 77, p. 139–141, 1978.

LYSEK, H. Classification of ovicide fungi according to type of ovicidity. **Acta University Palack Olumuev**. 76, p. 9-13, 1976.

LÝSEK, H.; STERBA, J. Colonization of *Ascaris Lumbricoides* Eggs by the Fungus MALAGÓN, J. Á. Posibilidades de control de helmintozoonosis por ascáridos mediante el uso de hongos telúricos. **Tese de Mestrado em Medicina Veterinária**. Santiago de Compostela: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade de Santiago de Compostela. 2014.

MENDOZA-DE-GUIVES, P., DAVIES, K. G., CLARCK, S. J., & BEHNKE, J. M. Predatory behaviour of trapping fungi Against sr mutants of *Caenorhabditis elegans* and different plant and animal parasitic nematodes. **Parasitology**, v. 119(1), p. 95–104, 1999.

MIELE, M. A Suinocultura no Brasil e as Tecnologias no Âmbito do Plano ABC. **Comunicado Técnico 549**. Embrapa Suínos e Aves. p.13, 2017.

MONTEIRO, S. G. **Parasitologia na medicina veterinária**. 2. ed. – Rio de Janeiro: Roca, p.370, 2017.

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

OEPSTORFF, A.; NANSEN, P. Epidemiology and control of helminth infection in pigs under intensive and non-intensive production systems. **Veterinary Parasitology**, v. 54, n. 1/3, p. 69-85, 1994.

ROBERTS, F.H.S.; O’SULLIVAN, J.P. 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.

RODRIGUES J. A.; ROQUE F. L.; ÁLVARES 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 comercial fungal formulation containing *Duddingtoniaflagrans* (Bioverm®) for control lingbovine gastrointestinal nematodes. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**. v. 30(2):p. 1-6, 2021.

RODRIGUES, J. A.; ALVARES, F. B. V.; SILVA, J. T.; FERREIRA, L. C.; COSTA, P. W. L.; SARMENTO, W. F. Predatory effect sof the fungus *Arthrobotrys cladodes* on sheep gastrointestinal nematodes. **Biocontrol Science and Technology**; v. 30(8): p. 830-839, 2020.

RODRIGUES, J. A.; ROQUE, F. L.; ÁLVARES, 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. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**. v. 30(2), p.1-6, 2021.

RODRIGUES, J. V. F.; BRAGA, F. R.; CAMPOS, A. K.; CARVALHO, L. M.; ARAUJO, J. M.; AGUIAR, A. R.; FERRAZ, C. M.; SILVEIRA, W. F.; VALADÃO, M. C.; OLIVEIRA, T.; FREITAS, S. G.; ARAÚJO, J. V. *Duddingtonia flagrans* formulated in rice bran in the control of *Oesophagostomum spp.* intestinal parasite of swine, **Experimental Parasitology**. p. 23, 2017.

CARREIRO, C. C.; COELHO, C. D.; JORGE, J. L. B. P.; COSTA, N. O. G.; PAIVA, R. V.; TEIXEIRA FILHO, W. L.; ROSA, A. G.; JESUS, V. L. T. Parasitos intestinais em suínos confinados em uma criação no município de Pinheiral- RJ. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 38(Supl.2) p. 117-122, 2016.

TEIXEIRA FILHO W. L.; ROSA A. G.; JESUS V. L. T. Parasitos intestinais em UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses deruminantes**. V. 4, p.166.1998.

URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; DUNN, A. M.; JENNINGS, F. W. **Parasitologia veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 273 p. *Verticillium Chlamydosporium* Goddard. **Folia Parasitologica**, v. 38, p. 255-259, 1991.