

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS – PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**Ação de fungos nematófagos sobre helmintos gastrintestinais de pequenos ruminantes
no semiárido do Nordeste brasileiro**

VINÍCIUS LONGO RIBEIRO VILELA

PATOS-PB

Abril/ 2014



CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL – CAMPUS DE PATOS-PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**Ação de fungos nematófagos sobre helmintos gastrintestinais de ruminantes no
semiárido do Nordeste brasileiro**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária.

VINÍCIUS LONGO RIBEIRO VILELA

Prof.^a. Dr.^a. Ana Célia Rodrigues Athayde

Orientadora

Prof. Dr. Fabio Ribeiro Braga

Co-orientador

PATOS-PB

2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

V699a Vilela, Vinícius Longo Ribeiro

Ação de fungos nematófagos sobre helmintos gastrintestinais de ruminantes no semiárido do Nordeste brasileiro / Vinícius Longo Ribeiro Vilela. – Patos, 2014.
70f.

Tese (Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária) –
Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2014.

“Orientação: Profa. Dra. Ana Célia Rodrigues Athayde”.

“Co-orientação: Prof. Dr. Fabio Ribeiro Braga”.

Referências.

1. Saúde animal. 2. Ruminantes. 3. Controle Biológico. I. Título.

CDU 614.9

VINÍCIUS LONGO RIBEIRO VILELA

**Ação de fungos nematófagos sobre helmintos gastrintestinais de ruminantes no
semiárido do Nordeste brasileiro**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária.

DATA: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Ana Célia Rodrigues Athayde - Orientadora
Universidade Federal de Campina Grande - Patos-PB

Prof^a. Dr^a. Valeska Shelda Pessoa de Melo
Universidade Federal da Paraíba – Areia-PB

Prof^a. Dr^a. Anne Evelyne Franco de Souza
Universidade Federal da Paraíba – Areia-PB

Prof. Dr. Wilson Wouflan Silva
Universidade Federal de Campina Grande - Patos-PB

Prof. Dr. Onaldo Guedes Rodrigues
Universidade Federal de Campina Grande – Patos-PB

A Deus, por sempre iluminar minha vida.

*Aos meus pais, Vilela e Lourinha, por jamais
medirem esforços para a realização dos meus sonhos.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, por ter me concedido tudo que tenho até hoje, por ter colocado pessoas excepcionais na minha vida e por ter iluminado o meu caminho durante esta longa jornada.

Aos meus pais João Ribeiro Vilela Neto e Maria de Fátima Longo Vilela, pela educação, amor e por depositarem toda a confiança em mim, acreditando que eu poderia chegar até onde cheguei.

À minha esposa Thais Ferreira Feitosa. Agradeço por compartilhar comigo sonhos e poder realizá-los. Por ter me ajudado, trabalhado comigo para a realização desta tese, aconselhado, apoiado, dado amor e compreensão. Obrigado por ser minha companheira de todas as horas. Sem o seu apoio, não seria metade do que sou hoje.

À Professora Ana Célia Rodrigues Athayde. Obrigado não apenas por ter acreditado em mim, há oito anos quando nos conhecemos, mas também por todas as oportunidades oferecidas. Obrigado pelos ensinamentos e orientação durante estágios, PIVIC, PIBIC, TCC, Mestrado, por nunca ter me dado um “não”. Obrigado também por ter plantado em mim a semente da pesquisa e o sonho da docência. É um privilégio poder tê-la como uma segunda mãe.

Aos meus grandes amigos e equipe de trabalho Antonielson Santos, Dayana Firmino, Diego Vagner, Gabriela Longo, Samuel Cavalcante e Vanessa Diniz. É muito bom trabalhar em um ambiente descontraído e saudável. Graças à indispensável ajuda de vocês conseguimos terminar o experimento. Acordar cedo, de domingo a domingo, trabalhar pesado, durante 180 dias, e ainda com alegria nos rostos. Vocês são únicos! Fui abençoado por Deus ter colocado vocês na minha vida.

Agradeço também à pessoas como meu irmão Gustavo Longo Ribeiro Vilela, Maria do Socorro Pereira “Maria”, Lídio Ricardo e João Leite, que não participaram diretamente da realização desta tese, mas indiretamente me ajudaram a superar os problemas da vida, com palavras, ações e amizade.

Aos meus co-orientadores, Prof. Fabio Ribeiro Braga e Prof. Jackson Victor de Araújo, que mesmo à distância, sempre me ajudaram incansavelmente e proporcionaram a realização do experimento. Obrigado, acima de tudo, pela amizade.

Ao proprietário da Fazenda Farinha e amigo José Bezerra Araújo Filho “Bezerrinha”, obrigado pela concessão do espaço, dos animais, do suporte e,

principalmente, pela pronta disposição em me ajudar no que fosse necessário. Se no mundo existissem mais pessoas assim, com certeza ele seria melhor.

Aos funcionários da Fazenda Farinha, Damião e Marilene “Marinete”, pela ajuda prestada no experimento e pela lição de vida, um exemplo de que mesmo na simplicidade é possível existir a felicidade.

Aos professores Wilson Wouflan Silva e Onaldo Guedes Rodrigues, pela ajuda, confiança e cumplicidade na vida acadêmica, sempre dispostos a me ajudar quando precisei. Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, pelos ensinamentos e oportunidade concedida.

Aos funcionários Jonas Alves, Maria José, Damião e Quitéria, pela amizade, paciência e suporte prestados nesta trajetória.

À Universidade Federal de Campina Grande, por ter me concedido tantas oportunidades e tantos momentos inesquecíveis. Aqui iniciei um ciclo na graduação em Medicina Veterinária, fiz Mestrado e agora termino o Doutorado, fechando este ciclo com muito orgulho nesta Instituição.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão da bolsa.

Muito Obrigado!

RESUMO

Esta tese é composta por três artigos científicos. No primeiro capítulo, objetivou-se avaliar a coadministração dos fungos *Duddingtonia. flagrans* e *Monacrosporium thaumasium* sobre o controle de nematódeos gastrintestinais de ovinos adultos e jovens. Foram utilizados 32 ovinos divididos em dois grupos experimentais (Fungos e Controle), sendo cada grupo dividido em dois subgrupos (Adultas e Jovens). Durante seis meses, o grupo Fungos recebeu 3g de péletes/ 10 kg de p.v., duas vezes por semana; o Controle recebeu 3g de péletes sem fungos/ 10 kg de p.v. Observou-se 76% de redução no OPG do subgrupo Fungos - Adultos e 83% no subgrupo Fungos – Jovens. Esses subgrupos necessitaram de menos vermifugações salvatórias, apresentaram melhores índices de VG, ganho de peso e redução nos valores de L3/ kg de M.S. em seu piquete, do que o grupo Controle. O segundo capítulo avaliou a ação de *D. flagrans* associado ao Cloridrato de Levamisole 5% no controle das nematodioses gastrintestinais de ovinos. Foram utilizados 18 ovelhas adultas, sendo formados três grupos: grupo 1, recebeu 3g de péletes/ 10 kg de p.v., duas vezes por semana, durante seis meses e uma dosificação com Cl. de Levamisole a 5% a cada OPG ≥ 1500 (Fungo + Químico); no grupo 2, cada animal que apresentasse OPG ≥ 1500 recebia uma dosificação (Químico); no grupo 3, cada animal recebeu 3 g de péletes sem fungos para cada 10 kg de p.v. (Controle). No dia 180, a média de OPG do grupo Fungo + Químico foi de 480, do Químico de 1320 e do Controle de 2340. O grupo Fungo + Químico necessitou de menos dosificações, apresentou melhores valores de VG e menores números de L3/ kg M.S. O terceiro capítulo objetivou avaliar a utilização de *D. flagrans* no controle das nematodioses gastrintestinais de caprinos mantidos em confinamento. Foram utilizados 12 cabras Saanen, com quatro meses de idade. Os animais foram divididos em dois grupos: grupo 1, cada animal recebeu 3g de péletes/ 10 kg de p.v., duas vezes por semana, durante quatro meses (*D. flagrans*); grupo 2, cada animal recebeu ação 3 g de péletes sem fungos para cada 10 kg de p.v. (Controle). Observaram-se baixos valores de OPG no grupo *D. flagrans* durante todo o experimento, com diferença significativa ($p < 0,05$) a partir do dia 30. O grupo *D. flagrans* apresentou melhores médias de ganho de peso e melhores índices de VG. Concluiu-se que tanto a associação de *D. flagrans* e *M. thaumasium*, quanto o uso de *D. flagrans* e Cloridrato de Levamisole 5% e também o uso de *D. flagrans* em animais confinados, foram eficazes no controle das nematodioses gastrintestinais de pequenos ruminantes no semiárido do Nordeste brasileiro.

Palavras-chave: controle biológico, *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium*, *Haemonchus* sp.

ABSTRACT

This thesis consists of three papers. In the first chapter, it was evaluated the coadministration of *Duddingtonia. flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* in controlling young and adult sheep gastrointestinal nematodes. Were used 32 sheep, divided into two experimental groups (Fungi and Control), each group was divided into two subgroups (Adult and Young). For six months the Fungi group received pellets 3g/ 10 kg b.w. twice a week. Control group received 3g of pellets without fungus/ 10 kg b.w. We observed a reduction of 76% in EPG of Fungi - Adults subgroup and 83% in the Fungi - Young subgroup. The second chapter evaluated the action of *D. flagrans* associated with Levamisole 5 % in controlling sheep gastrointestinal nematodiosis. Were used 18 sheep, formed three groups: group 1 received pellets 3g/ 10 kg b.w., twice a week, for six months and a deworming with Levamisole Hydrochloride 5% of each EPG \geq 1500 (Fungus + Chemical); in group 2, each animal received a deworming when presented EPG \geq 1500 (Chemical); and in group 3, each animal received 3g/ 10 kg b.w. of pellets without fungus (Control) . At day 180, the EPG mean of Fungus + Chemical group was 480, Chemical was 1320 and Control was 2340. The Fungus + Chemical group required less deworming ($p < 0.05$), showed better PCV values and smaller numbers of L3/ kg D.M. The third chapter aimed to evaluate the use of *D. flagrans* in the control of gastrointestinal nematodes of feedlot goats. Were used 12 Saanen goats, four months old. The animals were divided into two groups: group 1, each animal received 3g of pellets/ 10 kg b.w., twice a week, during four months (*D. flagrans*); group 2, each animal received 3 g of pellets without fungi/ 10 kg b.w. (Control). We observed low EPG levels in *D. flagrans* group throughout the experiment, with a significant difference ($p < 0.05$) from day 30. *D. flagrans* group had better mean weight gain and highest PCV rates. It was concluded that both the association of *M. thaumasium* and *D. flagrans*, the use of *D. flagrans* and Levamisole Hydrochloride 5%, as the use of *D. flagrans* in feedlot animals were effective in controlling the gastrointestinal nematodiosis of small ruminants in semi-arid region of Northeastern Brazil.

Keywords: biological control, *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium*, *Haemonchus* sp.

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE TABELAS.....	11
LISTA DE FIGURAS.....	12
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15
3. CAPÍTULO I.....	17
3.1 Resumo.....	18
3.2 Abstract.....	19
3.3 Introdução.....	20
3.4 Material e Métodos.....	21
3.5 Resultados.....	24
3.6 Discussão.....	25
3.7 Conclusão	27
3.8 Referências	27
4. CAPÍTULO II.....	36
4.1 Resumo.....	37
4.2 Abstract.....	38
4.3 Introdução.....	39
4.4 Material e Métodos.....	40
4.5 Resultados.....	42
4.6 Discussão.....	44
4.7 Conclusão	46
4.8 Referências	46
5. CAPÍTULO III.....	55
5.1 Resumo.....	56
5.2 Abstract.....	57

5.3 Introdução.....	58
5.4 Material e Métodos.....	59
5.5 Resultados.....	61
5.6 Discussão.....	61
5.7 Conclusão	63
5.8 Referências	63
6. CONCLUSÃO.....	70
ANEXOS	71

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

	Pág.
Tabela 1 - Percentual de larvas infectantes de <i>Haemonchus</i> sp. (H), <i>Trichostrongylus</i> spp. (T), <i>Strongyloides</i> sp. (S) e <i>Oesophagostomum</i> sp. (O) em coproculturas de ovinos que receberam a associação de <i>D. flagras</i> e <i>M. thaumasium</i> (Fungos – Adultas e Jovens) e do grupo Controle – Adultas e Jovens, durante 180 dias no semiárido nordestino.....	30

CAPÍTULO II

Tabela 1 – Número de vermifugações realizadas nos grupos Fungo + Químico (<i>D. flagrans</i> - 0,6 g/ 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana e Cloridrato de Levamisole 5% - OPG \geq 1500) e Químico (Cloridrato de Levamisole 5% - OPG \geq 1500), durante 180 dias, no semiárido nordestino.....	50
--	----

Tabela 2 – Percentual de larvas infectantes de <i>Haemonchus</i> sp. (H), <i>Trichostrongylus</i> spp. (T), <i>Strongyloides</i> sp. (S) e <i>Oesophagostomum</i> sp. (O) em coproculturas de ovinos submetidos ao controle estratégico com péletes de <i>D. flagrans</i> e Cloridrato de Levamisole 5% (Fungo + Químico), Cloridrato de Levamisole 5% (Químico) e que não receberam tratamento (Controle), durante 180 dias no semiárido nordestino.....	51
--	----

CAPÍTULO III

Tabela 1 – Percentual de larvas infectantes de <i>Haemonchus</i> sp. (H), <i>Trichostrongylus</i> spp. (T), <i>Strongyloides</i> sp. (S) e <i>Oesophagostomum</i> sp. (O) em coproculturas de caprinos tratados com <i>D. flagrans</i> e do grupo Controle, mantidos em confinamento durante 120 dias no semiárido nordestino.....	66
---	----

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

	Pág.
Figura 1 – Médias e desvios padrões da contagem de Ovos Por Grama de fezes (OPG) de ovinos dos subgrupos Fungos – Adultas e Jovens, que receberam a associação de <i>D. flagrans</i> e <i>M. thaumasium</i> , e dos subgrupos Controle – Adultas e Jovens, durante 180 dias, no semiárido nordestino.....	31
Figura 2 – Médias e desvios padrões do peso vivo (Kg) de ovinos do subgrupo que recebeu a associação de <i>D. flagrans</i> e <i>M. thaumasium</i> (Fungos – Jovens) e do subgrupo Controle – Jovens, durante 180 dias, no semiárido nordestino.....	32
Figura 3 – Percentual de Volume Globular (VG) de ovinos dos subgrupos Fungos – Adultas e Jovens, que receberam a associação de <i>D. flagrans</i> e <i>M. thaumasium</i> , e dos subgrupos Controle – Adultas e Jovens, durante 180 dias, no semiárido nordestino.....	33
Figura 4 - Médias aritméticas do número de larvas infectantes por quilograma de matéria seca (L3/ kg M.S.) em piquetes pastejados por ovinos tratados com a associação de <i>D. flagrans</i> e <i>M. thaumasium</i> (grupo Fungos) e do grupo Controle....	34

CAPÍTULO II

Figura 1 – Médias mensais e desvios padrões da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) de ovinos dos grupos Fungo + Químico (<i>D. flagrans</i> - 0,6 g/ 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana e Cloridrato de Levamisole 5% - OPG \geq 1500), Químico (Cloridrato de Levamisole 5% - OPG \geq 1500) e Controle, durante 180 dias no semiárido nordestino.....	49
Figura 2 – Médias mensais e desvios padrões do Volume Globular (VG) de ovinos dos grupos Fungo + Químico (<i>D. flagrans</i> - 0,6 g/ 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana e Cloridrato de Levamisole 5% - OPG \geq 1500), Químico	

(Cloridrato de Levamisole 5% - OPG \geq 1500) e Controle, durante 180 dias no semiárido nordestino..... 52

Figura 3 - Médias aritméticas e desvios padrões do número de larvas infectantes por quilograma de matéria seca (L3/ kg M.S.) de ovinos dos grupos Fungo + Químico (*D. flagrans* - 0,6 g/ 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana e Cloridrato de Levamisole 5% - OPG \geq 1500), Químico (Cloridrato de Levamisole 5% - OPG \geq 1500) e Controle, durante 180 dias no semiárido nordestino..... 53

CAPÍTULO III

Figura 1 – Médias mensais e desvios padrões da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) de caprinos do grupo *D. flagrans* (0,6 g/ 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana) e Controle, mantidos em confinamento durante 120 dias no semiárido nordestino..... 65

Figura 2 – Médias mensais e desvios padrões do peso (kg) de caprinos do grupo *D. flagrans* (0,6 g/ 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana) e Controle, mantidos em confinamento durante 120 dias no semiárido nordestino..... 67

Figura 3 – Médias mensais e desvios padrões do Volume Globular (VG) de caprinos do grupo *D. flagrans* (0,6 g/ 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana) e Controle, mantidos em confinamento durante 120 dias no semiárido nordestino... 68

INTRODUÇÃO

Apesar de numericamente expressivo, o rebanho de pequenos ruminantes da região Nordeste do Brasil mantém índices produtivos ainda baixos em função de vários fatores, dentre eles as helmintoses gastrintestinais. Estas enfermidades são responsáveis por elevadas perdas econômicas devido à redução no consumo de alimentos, perda de peso, crescimento retardado, baixa fertilidade, queda na produção de leite e, nos casos de infecções maciças, mortalidade acentuada (LIMA, et al., 2010).

Devido ao desenvolvimento da resistência anti-helmíntica, a utilização de agentes biológicos com atuação sobre ovos e larvas de nematóides tricostrongilídeos tem se mostrado uma alternativa para a higienização das pastagens e tem sido intensificada nos últimos anos. Os fungos nematófagos são os microorganismos mais estudados com este objetivo (CAMPOS et al., 2009).

Após passagem pelo trato gastrintestinal, os fungos são eliminados juntos com as fezes no meio ambiente, onde colonizam o bolo fecal, estabelecendo contato com as larvas eclodidas, produzindo armadilhas que as levam à morte, diminuindo assim a quantidade de larvas infectantes na pastagem, impedindo a reinfecção dos animais (SILVA et al., 2009).

Diversos estudos foram realizados comprovando a capacidade predatória dos fungos *Duddingtonia flagrans* e *Monacrosporium thaumasium* sobre helmintos de animais domésticos (LARSEN, 1999; CHANDRAWATHANI et al., 2004; ARAÚJO et al., 2007; BRAGA et al., 2011; SILVA et al., 2011).

Estudos avaliando o desempenho de fungos nematófagos no semiárido nordestino foram realizados por Araújo et al., (2007), que utilizaram *M. thaumasium* em doses semanais de 2 a 2,5g de micélio em caprinos no município de Sobral-CE, e por Vilela et al., (2012, 2013), que avaliaram *D. flagrans* e *M. thaumasium*, isoladamente, em doses semanais de 3g de micélio fúngico, também em caprinos, em Patos-PB. É desconhecido se a associação destas espécies pode acrescentar algum tipo de vantagem do ponto de vista biológico (Braga et al., 2009). Também faltam estudos associando a utilização de fungos nematófagos aos fármacos anti-helmínticos e seu uso em animais mantidos em confinamento.

Esta Tese de Doutorado é composta por três capítulos constituídos por artigos científicos originais. O Capítulo I é composto por um artigo submetido para publicação na revista *Veterinary Parasitology* - Qualis A1, e descreve pela primeira vez ação dos

fungos *D. flagrans* e *M. thaumasium* coadministrados a ovinos jovens e adultos no Nordeste brasileiro. O Capítulo II é composto por um artigo submetido à revista *Parasitology Research* – Qualis A1, e avaliou o controle estratégico das helmintoses gastrintestinais de ovinos por *D. flagrans* e Cloridrato de Levamisole 5%. O Capítulo III é composto por um artigo submetido à *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* – Qualis B1, e avaliou a utilização de péletes do fungo *D. flagrans* no controle das helmintoses gastrintestinais de caprinos mantidos em confinamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, J. V.; RODRIGUES, M. L. A.; SILVA, W. W.; VIEIRA, L. S. V. Controle biológico de nematóides gastrintestinais de caprinos em clima semi-árido pelo fungo *Monacrosporium thaumasium*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.8, p.1177-1181, 2007.

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; ARAUJO, J. M.; TAVELA, A. O.; FERREIRA, S. R.; SOARES, F. E. F.; BENJAMIN, L. A.; FRASSY, L. N. Influence of the preservation period in silica-gel on the predatory activity of the isolates of *Duddingtonia flagrans* on infective larvae of cyathostomins (Nematoda: Cyathostominae). **Experimental Parasitology**, v. 1, p. 95-100, 2011.

BRAGA, F.R., ARAÚJO, J.V., SILVA, A.R., ARAÚJO, J.M., CARVALHO, R.O., TAVELA, A.O., CAMPOS, A.K., CARVALHO, G.L. Biological control of horse cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in tropical southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 163, p. 335–340, 2009.

CAMPOS, A. K.; ARAÚJO, J. V.; GUIMARÃES, M. P.; DIAS, A. S. Resistance of different fungal structures of *Duddingtonia flagrans* to the digestive process and predatory ability on larvae of *Haemonchus contortus* and *Strongyloides papillosus* in goat feces. **Parasitology Research**. v. 105, p. 913-919, 2009.

CHANDRAWATHANI, P.; JAMMAH, 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.

LARSEN, M. Biological control of helminthes. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 2, p. 139-146, 1999.

LIMA, W. C.; ATHAYDE, A. C. R.; MEDEIROS, G. R.; LIMA, D. A. S. D.; BORBUREMA, J. B.; SANTOS, E. M.; VILELA, V. L. R.; AZEVEDO, S. S. Nematóides resistentes a alguns anti-helmínticos em rebanhos caprinos no Cariri paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 30, n. 12, p. 1002-1009, 2010.

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

SILVA, A. R.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; ALVES, C. D. F.; FRASSY, L. N. Activity of fungal conidia of the *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* on *Haemonchus contortus* infective larvae. **Journal of Helminthology**, v. 85, p. 138-141, 2011.

VILELA, V.L.R., FEITOSA, T.F., BRAGA, F.R., ARAÚJO, J.V., LUCENA, S.C., DANTAS, E.S., ATHAYDE, A.C.R., SILVA, W.W. Efficacy of *Monacrosporium thaumasium* in the control of goat gastrointestinal helminthiasis in a semi-arid region of Brazil. **Parasitology Research**, v. 112, p. 871-877, 2013.

VILELA, V.L.R., FEITOSA, T.F., BRAGA, F.R., ARAÚJO, J.V., SOUTO, D.V.O., SANTOS, H.E.S., SILVA, G.L.L., ATHAYDE, A.C.R. Biological control of goat gastrointestinal helminthiasis by *Duddingtonia flagrans* in a semi-arid region of the northeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 188, p. 127-133, 2012.

CAPÍTULO I

Coadministração de fungos nematófagos no controle biológico de nematódeos gastrintestinais de ovinos no Nordeste brasileiro

Artigo submetido à
publicação na *Veterinary
Parasitology* (Qualis – A1)

Coadministração de fungos nematófagos no controle biológico de nematódeos gastrintestinais de ovinos no Nordeste brasileiro

Vinícius Longo Ribeiro Vilela^{1*}, Thais Ferreira Feitosa¹, Fabio Ribeiro Braga^{2,3}, Jackson Victor de Araújo², Antonielson dos Santos¹, Dayana Firmino de Moraes⁴, Diego Vagner de Oliveira Souto¹, Ana Célia Rodrigues Athayde^{1,4}

¹ Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), CEP: 58.108-110, Patos-PB, Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, CEP: 36.570-000, Viçosa-MG, Brasil.

³ Universidade Vila Velha, CEP: 29.102.770, Vila Velha-ES, Brasil.

⁴ Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, UFCG, Patos-PB, Brasil.

* Autor para correspondência. Tel: +55 83 3422 2214; fax: +55 83 3422 2246. E-mail: vilelavlr@yahoo.com.br

RESUMO

A ação predatória de fungos nematófagos, utilizados isoladamente, no controle biológico de nematódeos gastrintestinais de animais vem sendo comprovada. Porém, é incerto se a associação destas espécies pode trazer algum tipo de vantagem biológica na predação de L3. Com isso, objetivou-se avaliar a coadministração dos fungos *D. flagrans* e *M. thaumasium* em matriz de alginato de sódio sobre o controle de nematódeos gastrintestinais de ovinos adultos e jovens no semiárido do Nordeste brasileiro. Uma área de 1,0 ha foi dividida em dois piquetes, onde foram formados dois grupos constituídos de seis fêmeas adultas e dez machos jovens, ou seja, dois grupos experimentais (Fungos e Controle) e em cada grupo, dois subgrupos de acordo com a categoria animal (Adultas e Jovens). No grupo Fungos, cada animal recebeu na ração 3 g de péletes (0,6g de micélio fúngico, sendo 0,3g de *D. flagrans* e 0,3g de *M. thaumasium*) para cada 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana, durante seis meses; no Grupo Controle, cada animal recebeu na ração 3 g de péletes sem fungos para cada 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana, durante seis meses. Observou-se 76% de redução no OPG do subgrupo Fungos - Adultos e 83% no subgrupo Fungos - Jovens quando comparados a seus respectivos grupos Controle. Os subgrupos que receberam

esses fungos necessitaram de menos vermifugações salvatórias, apresentaram melhores índices de VG nos dias 150 e 180 ($p < 0,05$), ganho de peso de 18,7 kg e redução de 91,6% nos valores de L3/ kg de M.S. em seu piquete, quando comparados aos grupos Controle. Com isso, conclui-se que a coadministração de *D. flagrans* e *M. thaumasium* foi eficaz no controle de nematódeos gastrintestinais de ovinos adultos e jovens no semiárido do Nordeste brasileiro.

Palavras-Chave: *Duddingtonia flagrans*, fungos nematófagos, *Monacrosporium thaumasium*, ovinocultura.

Coadministration of nematophagous fungi in the biological control of sheep gastrointestinal nematodes in Northeastern Brazil

ABSTRACT

The predatory action of nematophagous fungi, used singly, on the biological control of gastrointestinal nematodes have been comproved. However, it is unclear if thus species association can bring some type of advantage on the biological standpoint on the L3 predation. This study aimed to evaluate the coadministration of fungi *D. flagrans* and *M. thaumasium* in sodium alginate matrix on gastrointestinal nematodes of young and adults sheep in the semiarid region of Northeastern Brazil. An area of 1 ha was divided into two paddocks, where two groups consisting of six adult females and ten young males formed two experimental groups (Fungi and Control). In each group, two subgroups have been formed in accordance with the animal type (Adult and Young). In Fungi group, each animal received in the feed 3g of the pellets (0.6 g of fungal mycelium, with 0.3g of *D. flagrans* and 0.3g of *M. thaumasium*) for each 10 kg of body weight, twice a week, for six months; in Control group, each animal received in the feed 3g of the pellets without fungus for each 10 kg of body weight, twice a week, for six months. Were observed a reduction of 76 % in the EPG of subgroup Fungi - Adults and 83 % in the subgroup Fungi - Young, when compared to their respective Control subgroups. The groups that received these fungi needed less salvage deworming, presented best PCV percentages in the days 150 and 180 ($p < 0,05$), best weight gain (18.7 kg) and a reduction of 91.6% in the number of L3/ kg D.M. in its paddock, when compared to Control groups. Thus, it is concluded that *D. flagrans* and

M. thaumasium coadministration was effective in the control of gastrointestinal nematodes of adults and young sheep in the semiarid region of Northeastern Brazil.

Keywords: *Duddingtonia flagrans*, nematophagous fungi, *Monacrosporium thaumasium*, sheep farming

INTRODUÇÃO

A busca por alternativas capazes de controlar os helmintos gastrintestinais de pequenos ruminantes tem sido amplamente estimulada. Neste contexto, a utilização de fungos nematófagos tem se demonstrado promissora em diversos experimentos em todo o mundo, uma vez que a premissa do controle da fase parasitária destes animais é verdadeira (Paraud et al., 2007; Silva et al., 2009; Sagués et al., 2011; Vilela et al., 2013). Após passagem pelo aparelho digestório, estes fungos são eliminados juntos com as fezes no meio ambiente, onde colonizam o bolo fecal, estabelecendo contato com as larvas infectantes, produzindo armadilhas que as levam à morte, diminuindo assim a quantidade de L3 na pastagem, impedindo a reinfecção dos animais (Silva et al., 2009).

As espécies *Duddingtonia flagrans* e *Monacrosporium thaumasium* são as mais estudadas e que apresentam maior potencial de comercialização. São produtoras de estruturas resistentes, os clamidósporos, e capazes de passar pelo trato gastrintestinal de animais em matrizes de alginato de sódio. Entretanto, podem haver diferenças na ação dos diferentes isolados destas espécies, como tem sido mencionado em algumas investigações em diferentes regiões (Araújo et al., 2004; Tavela et al., 2013).

A efetividade dos isolados fúngicos de *D. flagrans* e *M. thaumasium*, utilizados neste experimento, já vem sendo comprovada em diversos experimentos no Brasil (Braga et al., 2009; Tavela et al., 2011; Assis et al., 2013, Braga e Araújo, 2014), mais especificamente, na região semiárida (Araújo et al., 2007; Vilela et al., 2012; Vilela et al., 2013). Entretanto, estes fungos foram avaliados isoladamente e ainda não foram testados no controle de nematódeos parasitos gastrintestinais de ovinos nesta região.

Contudo, é desconhecido se a associação destas espécies pode acrescentar algum tipo de vantagem do ponto de vista biológico, ou sej, no ciclo evolutivo destes parasitos (Braga et al., 2009). Ainda de acordo com Mota et al. (2003), é importante que os fungos administrados isoladamente ou, neste caso, em associação, sejam avaliados em condições *in vivo*, para que suas ações ocorram em ambiente fecal. A esse respeito

Tavela et al. (2013) observaram a viabilidade na coadministração de *D. flagrans* e *M. thaumasium* sobre L3 de ciatostomíneos após passagem pelo aparelho gastrointestinal de equinos, no entanto, salvo algumas particularidades, não existem relatos dessa coadministração no controle de nematódeos de ovinos a campo.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a coadministração dos fungos *D. flagrans* e *M. thaumasium* em matriz de alginato de sódio no controle de nematódeos parasitos gastrintestinais de ovinos adultos e jovens no semiárido do Nordeste brasileiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Fungos e produção da massa micelial

Foram utilizados isolados de dois fungos predadores de nematódeos: *D. flagrans* (AC001) e *M. thaumasium* (NF34). Estes isolados foram obtidos de solos da região da Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, Brasil e tem sido mantidos no laboratório de parasitologia da Universidade Federal de Viçosa.

O micélio fúngico foi obtido pela transferência de discos de cultura (aproximadamente 4 mm de diâmetro) dos isolados fúngicos (*D. flagrans* e *M. thaumasium*) em 2% de ágar-água (2% AA) para frascos Erlenmeyer de 250 mL com 150 mL do meio líquido GPY (glicose, peptona sódica e extrato de levedura), e incubados sob agitação de 120 rpm no escuro, a 26 °C, por dez dias. Após esse período, o micélio foi removido, filtrado e pesado em balança analítica de precisão. Todos os procedimentos seguiram a metodologia de Araújo et al. (2010).

Ensaio experimental e animais

O experimento foi realizado na Fazenda Farinha, localizada na cidade de Patos, Paraíba, Nordeste do Brasil, latitude 7°1'28" S, longitude 37°16'48" W, de Abril a Setembro de 2013. A região possui um clima semiárido, com duas estações: chuvosa, de janeiro a maio, quando ocorrem em média 98,6% da precipitação anual, e seca (Vilela et al., 2008).

Uma área de 1,0 hectare de pastagem Tifton (*Cynodon dactylon*), diariamente irrigada, foi dividida em dois piquetes. Cada piquete foi previamente infestado durante 30 dias pelo pastejo de dez ovinos Dorper, machos, cinco meses de idade, média de

OPG de 4870 ± 990 , sendo 70% *Haemonchus* sp., 22% *Trichostrongylus* spp., 6% *Strongyloides* sp. e 2% *Oesophagostomum* sp.

Para a escolha do anti-helmíntico a ser utilizado, 24 ovinos foram divididos em quatro grupos e submetidos ao teste de Redução da Contagem de Ovos Fecais (RCOF), de acordo com Coles et al. (1992). Os anti-helmínticos utilizados foram Moxidectina 0,2%, Albendazole 5%, Ivermectina 0,08% e Cloridrato de Levamisole 5%, que apresentou maior RCOF (95%), sendo o fármaco escolhido.

Foram utilizados 32 ovinos da raça Dorper, dos quais 12 fêmeas adultas e 20 machos jovens, com idade média de quatro meses. Quinze dias antes do início do experimento, os animais receberam por via oral o vermífugo Cloridrato de Levamisol (5mg/ kg de peso vivo), durante três dias consecutivos. Sete dias após a primeira vermifugação foi realizada a contagem de Ovos Por Grama de fezes (OPG), pela técnica de Gordon e Whitlock (1939), três exames realizados da mesma amostra, onde todos os animais apresentaram resultado negativo.

Foram formados dois grupos constituídos de seis fêmeas adultas e dez machos jovens, ou seja, dois grupos experimentais (Fungos e Controle) e em cada grupo, dois subgrupos de acordo com a categoria animal (Adultas e Jovens). No grupo Fungos, cada animal recebeu na ração 3 g de péletes (0,6g de micélio fúngico, sendo 0,3g de *D. flagrans* e 0,3g de *M. thaumasium*) para cada 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana, durante seis meses; no Grupo Controle, cada animal recebeu na ração 3 g de péletes sem fungos para cada 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana, durante seis meses. Cada grupo permaneceu em um piquete obedecendo à taxa de lotação de 1,5 Unidade Animal por hectare. Diariamente, todos os animais receberam suplementação com concentrado protéico-energético na concentração de 0,75% de peso vivo, sal mineral balanceado e água *ad libitum*. Para prevenir mortalidade, tratamentos anti-helmínticos salvatórios foram realizados individualmente quando os animais apresentavam Volume Globular (VG) inferior a 16%. O vermífugo utilizado foi o Cloridrato de Levamisol (5 mg/kg de peso vivo).

Coletas de fezes e sangue de todos os animais eram realizadas a cada 15 dias, para as análises de OPG, Coproculturas (Roberts e O'Sullivan, 1950) e VG (Ferreira Neto et al.,1981). A cada 15 dias, os animais jovens dos dois grupos eram pesados para o acompanhamento do desenvolvimento ponderal.

Para a determinação dos níveis de infestação ambiental por L3, mensalmente, cinco amostras de 200g de massa foliar eram coletadas de áreas distintas em cada

piquete, totalizando aproximadamente 1000g (Raynaud e Gruner, 1982). Posteriormente, as amostras eram acondicionadas individualmente em baldes plásticos, com capacidade de 10L, preenchidos com água a temperatura de 37 °C, onde permaneciam em repouso por quatro horas para liberação das larvas. Em seguida, retirava-se a massa foliar cuidadosamente, para não suspender as larvas, desprezava-se o sobrenadante, coava-se o precipitado em tâmis de 200µm para posterior decantação em copo de Hoffman. O sedimento era examinado em microscópio óptico e as larvas quantificadas e identificadas. Posteriormente, era feita uma média aritmética do total de larvas recuperadas nas cinco amostras de cada piquete analisado. A massa foliar anteriormente retirada dos baldes plásticos era acondicionada em recipientes metálicos e levadas à estufa de ventilação forçada a 45 °C, por 48 h, depois a matéria seca era pesada para determinação dos valores de L3/ kg de matéria seca.

Dados meteorológicos como temperatura, umidade relativa e pluviosidade foram coletados mensalmente em estação especializada da Universidade Federal de Campina Grande, campus de Patos-PB. Durante o experimento, a temperatura variou de 22 a 36 °C, a umidade relativa do ar de 51 a 93% e a precipitação pluviométrica mensal foi de 150 mm³ em abril, 80 mm³ em maio, 70 mm³ em junho e 45 mm³ em julho, agosto e setembro de 2013.

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via e teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os valores de OPG foram analisados utilizando a transformação logarítmica $\text{Log}(x + 1)$, entretanto, eles estão presentes nas figuras como médias aritméticas dos valores não transformados. As análises foram realizadas utilizando o BioEstat 5.0 Software (Ayres et al., 2003).

RESULTADOS

Observou-se que o subgrupo Fungos – Adultas diferiu estatisticamente dos demais a partir do dia 60 ($p < 0,05$), reduzindo a média de OPG que era 1890 no dia 30,

para 560 no dia 180 (Figura 1). A redução no OPG do subgrupo Fungos - Jovens foi ainda mais acentuada, reduzindo de 6090 no dia 30, para 780 no dia 180, diferindo estatisticamente do subgrupo Controle – Jovens a partir do dia 60. Os subgrupos Controle – Adultas e Jovens mantiveram os níveis de OPG elevados ao longo do experimento.

No subgrupo Fungos – Adultas, nenhum animal necessitou de vermifugação salvatória ao longo do experimento. Entretanto, no subgrupo Controle – Adultas, a partir do dia 90, alguns animais necessitaram de vermifugação: duas ovelhas foram vermifugadas uma vez (uma no dia 90 e a outra no dia 150); uma ovelha: duas vezes (dias 90 e 150) e outra: três vezes (dias 90, 120 e 180), totalizando sete vermifugações.

No subgrupo Fungos – Jovens, cinco animais necessitaram de vermifugação salvatória: um ovino vermifugado uma vez; três ovinos: três vezes e um: quatro vezes, totalizando 14 vermifugações, sendo 11 destas nos primeiros 90 dias de experimento. No grupo Controle – Jovens, todos os animais foram vermifugados pelo menos uma vez: dois ovinos foram vermifugados uma vez, cinco ovinos: duas vezes e três: três vezes, totalizando 21 vermifugações bem distribuídas durante o período do experimento (10 vermifugações até o dia 90 e 11 do dia 91 ao 180).

Nas coproculturas, observou-se que *Haemonchus* sp. foi o gênero de helminto mais prevalente, com percentuais que variaram de 72% a 96% (Tabela 1). *Trichostrongylus* spp. foi o segundo mais prevalente, seguido de *Strongyloides* sp. e *Oesophagostomum* sp.

O subgrupo Fungos – Jovens apresentou ganho de peso estatisticamente superior ($p < 0,05$) ao subgrupo Controle – Jovens a partir dos 90 dias de experimento, com média de peso ao final do experimento de 29,8 kg (ganho de peso médio de 18,7 kg) contra 19,4 kg (ganho de peso médio de 8,1 kg) do subgrupo Controle – Jovens (Figura 2).

Os subgrupos que receberam a associação de fungos nematófagos (Fungos – Adultas e Jovens) apresentaram percentuais de VG estatisticamente superiores ($p < 0,05$) aos dos subgrupos Controle nos dias 150 e 180 (Figura 3).

Observou-se elevada taxa de infestação ambiental nos piquetes no início do experimento, entretanto, as médias de L3/ kg M.S. recuperadas da pastagem apresentaram diferença estatisticamente significativas ($p < 0,05$) nos dias 60, 150 e 180 (Figura 4), destacando-se o dia 180, quando o piquete dos grupos que recebiam a associação dos fungos apresentou 91,6% a menos de L3/ kg M.S. do que o piquete dos grupos Controle.

DISCUSSÃO

Estudos avaliando a coadministração de fungos nematófagos ainda são escassos, sendo este o primeiro trabalho a avaliar *in vivo* a administração associada de fungos nematófagos a partir de péletes em matriz de alginato de sódio.

O uso desses fungos na dosagem de 3 g de péletes/ 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana, provou ser eficaz no controle de nematódeos gastrintestinais de ovinos, principalmente adultos, onde os índices de OPG permaneceram estatisticamente inferiores ($p < 0,05$) ao longo do experimento, sem a administração de vermifugações salvatórias, chegando ao dia 180 com 76% de redução no OPG em comparação ao grupo Controle, que ainda necessitou de sete vermifugações. Resultados similares foram observados por Silva et al. (2009), que administraram péletes de alginato de sódio contendo *D. flagrans*, na dosagem de 1g/ 10 kg peso vivo (0,2 g de micélio), duas vezes por semana, durante cinco meses, no Sudeste do Brasil, e obtiveram 71,6% de redução no OPG.

Uma acentuada redução no OPG também foi observada no subgrupo Fungos – Jovens, que chegaram ao dia 180 com 83% de redução no OPG comparado ao subgrupo Controle – Jovens, e tendo ainda recebido a metade de vermifugações salvatórias (10/21). As reduções de OPG obtidas neste experimento foram superiores às obtidas utilizando ambos os fungos isoladamente em caprinos, na mesma dosagem, também em ambiente semiárido, durante seis meses e com desafio de pressão de pastejo cinco vezes menor, onde o uso isolado de *D. flagrans* reduziu em 58,9% (Vilela et al., 2012) e *M. thaumasium* reduziu 34% o OPG dos animais (Vilela et al., 2013). Entretanto, a elevada redução parasitária observada neste experimento ocorreu de forma gradativa e ao longo de meses, devendo-se utilizar vermifugações em animais jovens, principalmente durante o início da utilização dos fungos nematófagos e/ ou nos primeiros meses de vida destes animais, para evitar mortes.

Foi observado que *Haemonchus* sp. foi o gênero de helminto mais prevalente nas coproculturas, corroborando com Vieira et al. (2014), que, em estudo da prevalência das helmintoses gastrintestinais de caprinos no Sertão da Paraíba, observaram *Haemonchus* sp. como o mais prevalente nesta região, como 83,2% da carga parasitária destes animais.

O subgrupo Fungos – Jovens apresentou ganho de peso médio de 18,7 kg, estatisticamente superior ($p < 0,05$) ao subgrupo Controle – Jovens, com ganho de peso médio de 8,1 kg. Em trabalho semelhante com caprinos jovens SPRD, administrando péletes do fungo *D. flagrans* isoladamente, Vilela et al. (2012) observaram ganho de peso médio de 9,3 kg, enquanto o grupo Controle obteve redução no peso de 1,1 kg. Silva et al. (2009) não observaram diferença estatística significativa ($p > 0,05$) no ganho de peso de ovelhas tratadas com *D. flagrans* em comparação ao grupo controle, provavelmente porque seus animais eram adultos (entre 24 e 48 meses) e estavam recebendo suplementação para manutenção de peso. O elevado ganho de peso observado nesse experimento deve-se, além de uma boa resposta na utilização da associação dos fungos, ao fato de que os animais utilizados, da raça Dorper, apresentam elevada conversão alimentar e rendimento de carcaça quando estão em boas condições alimentares e sanitárias (Snowder e Duckett, 2003).

Os subgrupos que receberam a associação de fungos nematófagos (Fungos – Adultas e Jovens) apresentaram percentuais de VG estatisticamente superiores ($p < 0,05$) aos dos subgrupos Controle nos últimos 60 dias de experimento. Resultados semelhantes foram observados por Vilela et al. (2013), que, ao administrarem péletes com *M. thaumasium* isoladamente para caprinos, observaram níveis de VG estatisticamente superiores aos do grupo controle. Discordando dos resultados encontrados por Silva et al. (2010), em que os níveis de VG de ovinos que receberam péletes de *D. flagrans* isoladamente foram levemente inferiores aos do grupo controle.

Observou-se acentuada redução nos níveis de infestação do piquete do grupo tratado com a associação de fungos, com destaque para o dia 180, quando este apresentou 91,6% a menos de L3/ kg M.S. do que o piquete do grupo Controle. Almeida et al. (2012) observaram redução nos níveis de infestação ambiental significativamente inferiores ao grupo controle ($p < 0,05$) após cinco meses de administração de péletes de *D. flagrans* a equinos no Sudeste do Brasil. Graminha et al. (2005) e Silva et al. (2009) também observaram reduções no número de L3/ kg M.S. ao administrarem fungos nematófagos a ovinos. Dados pluviométricos podem não ter influenciado os resultados obtidos neste experimento, uma vez que os piquetes eram irrigados diariamente. Entretanto, este fato justifica os elevados níveis de infestação ambiental no piquete do grupo Controle nos últimos 90 dias de experimento, quando os níveis de chuva observados não passaram de 45 mm³ mensalmente. Estes resultados demonstram que houve uma interação benéfica entre os fungos *D. flagrans* e *M. thaumasium* na predação

de larvas no ambiente, reduzindo significativamente seus números, diminuindo, com isso, a reinfecção dos animais, capacitando-os a diminuir as suas cargas parasitárias, o que é comprovado pela redução de 76% no OPG destes animais.

CONCLUSÃO

A associação de *D. flagrans* e *M. thamasium* provou ser eficaz no controle das helmintoses gastrintestinais de ovinos adultos e jovens no semiárido do Nordeste brasileiro.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer o suporte financeiro recebido da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG.

REFERÊNCIAS

- Almeida, G.L., Santurio, J.M., Jardim Filho, J.O., Zanette, R.A., Camillo, G., Flores, A.G., Silva, J.H.S., Rue, M.L., 2012. Predatory activity of the fungus *Duddingtonia flagrans* in equine strongyle infective larvae on natural pasture in the Southern Region of Brazil. *Parasitol. Res.* 110, 657-662.
- Araújo, J.M., Araújo, J.V., Braga, F.R., Carvalho, R.O., 2010. In vitro predatory activity of nematophagous fungi and after passing through gastrointestinal tract of equine on infective larvae of *Strongyloides westeri*. *Parasitol. Res.* 107, 103–108.
- Araújo, J.V., Assis, R.C.L., Campos, A.K., Mota, M.A., 2004. Atividade in vitro dos fungos nematófagos dos gêneros *Arthrobotrys*, *Duddingtonia* e *Monacrosporium* sobre nematóides trichostrongilídeos (Nematoda: Trichostrongyloidea) parasitos gastrintestinais de bovinos. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 13, 65–71.

Araújo, J.V., Rodrigues, M.L.A., Silva, W.W., Vieira, L.S., 2007. Controle biológico de nematóides gastrintestinais de caprinos em clima semiárido pelo fungo *Monacrosporium thaumasium*. *Pesq. Agropec. Bras.* 42, 1177–1181.

Assis, R.C.L., Luns, F.D., Araújo, J.V., Braga, F.R., Assis, R.L., Marcelino, J.L., Freitas, P.C., Andrade, M.A.S., 2013. Comparison between the action of nematode predatory fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* in the biological control of bovine gastrointestinal nematodiasis in tropical southeastern Brazil, *Vet. Parasitol.* 193, 134-140.

Ayres, M., Ayres, J.R.M., Ayres, D.L., Santos, A.S. (Eds.), 2003. Aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas e médicas. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, Brasília CNPq, 290 pp.

Braga, F.R., Araújo, J.V., 2014. Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. *App. Microbiol.* 98, 71-82.

Braga, F.R., Araújo, J.V., Silva, A.R., Araújo, J.M., Carvalho, R.O., Tavela, A.O., Campos, A.K., Carvalho, G.L., 2009. Biological control of horse cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in tropical southeastern Brazil. *Vet. Parasitol.* 163, 335–340.

Coles, G.C., Bauer, C., Borgsteede, F.H., Geerts, S., Klei, T.R., Taylor, M.A., Waller, P.J. 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.* 44, 35-44.

Ferreira Neto, J.M., Viana, E.S., Magalhães, L.M. (Eds.), 1981. *Patologia Clínica Veterinária*. Rabelo, Belo Horizonte, 79 pp.

Gordon, H.M., Whitlock, H.V., 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *J. Coun. Sci. Ind. Res.* 12, 50–52.

Graminha, E.B.N., Monteiro, A.C., Silva, H.C., Oliveira, G.P., Costa, A.J., 2005. Controle de nematóides parasitos gastrintestinais por *Arthrobotrys musiformis* em ovinos naturalmente infestados mantidos em pastagens. *Pesq. Agropec. Bras.* 40, 927–933.

Mota, M.A., Campos, A.K., Araújo, J.V., 2003. Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. *Pesq. Vet. Bras.* 23, 93–100.

Paraud, C., Pors, I., Chartier, C., 2007. Efficiency of feeding *Duddingtonia flagrans* chlamydospores to control nematode parasites of first-season grazing goats in France. *Vet. Res. Commun.* 31, 305–317.

Raynaud, J.P., Gruner, L., 1982. Fiasibility of herbage sampling in large extensive pastures and avaliability of cattle nematode infective larvae in mountain pastures. *Vet. Parasitol.* 10, 57-64.

Roberts, F.H.S., O’Sullivan, J.P., 1950. Methods of egg counts and larval cultures for Strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. *Aust. J. Agr. Res.* 1, 99–102.

Sagués, M.F., Fusé, L.A., Fenández, A.S., Iglesias, L.E., Moreno, F.C., Saumell, C.A., 2011. Efficacy of an energy block containing *Duddingtonia flagrans* in the control of gastrointestinal nematodes of sheep. *Parasitol. Res.* 109, 707–713.

Silva, A.R., Araújo, J.V., Braga, F.R., Frassy, L.N., Tavela, A.O., Carvalho, R.O., Castejon, F.V., 2009. Biological control of sheep gastrointestinal nematodiasis in a tropical region of the southeast of Brazil with the nematode predatory fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium*. *Parasitol. Res.* 105, 1707–1713.

Silva, B.F., Carrijo-Mauad, J.R., Braga, F.R., Campos, A.K., Araújo, J.V., Amarante, A.F.T., 2010. Efficacy of *Duddingtonia flagrans* and *Arthobotrys robusta* in controlling sheep parasitic gastroenteritis. *Parasitol. Res.* 106, 1343–1350.

Snouder, G.D, Duckett, S.K., 2003. Evaluation of the South African Dorper as a terminal sire breed for growth, carcass, and palatability characteristics. *J. Anim. Sci.* 81,368-375.

Tavela, A.O., Araújo, J.V., Braga, F.R., Silva, A.R., Carvalho, R.O., Araujo, J.M., Ferreira, S.R., Carvalho, G.R., 2011. Biological control of cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) with nematophagous fungus *Monacrosporium thaumasium* in Tropical Southeastern Brazil. *Vet. Parasitol.* 175, 92–96.

Tavela, A.O., Araújo, J.V., Braga, F.R., Silveira, W.S., Silva, V.H.D., Carretta Júnior, M., Borges, L.A., Araújo, J.M., Benjamin, L.A., Carvalho, G.R., Paula, A.T., 2013. Coadministration of sodium alginate pellets containing the fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* on cyathostomin infective larvae after passing through the gastrointestinal tract of horses. *Res. Vet. Sc.* 94, 568–572.

Vieira, V.D., Feitosa, T.F., Vilela, V.L.R., Azevêdo, S.S., Almeida Neto, J.L., Morais, D.F., Ribeiro, A.R.C., Athayde, A.C.R., 2014. Prevalence and risk factors associated with goat gastrointestinal helminthiasis in the Sertão region of Paraíba State, Brazil. *Trop. Anim. Health Prod.* 46, 355-361.

Vilela, V.L.R., Feitosa, T.F., Braga, F.R., Araújo, J.V., Lucena, S.C., Dantas, E.S., Athayde, A.C.R., Silva, W.W., 2013. Efficacy of *Monacrosporium thaumasium* in the control of goat gastrointestinal helminthiasis in a semi-arid region of Brazil. *Parasitol. Res.* 112, 871–877.

Vilela, V.L.R., Feitosa, T.F., Braga, F.R., Araújo, J.V., Souto, D.V.O., Santos, H.E.S., Silva, G.L.L., Athayde, A.C.R., 2012. Biological control of goat gastrointestinal helminthiasis by *Duddingtonia flagrans* in a semi-arid region of the northeastern Brazil. *Vet. Parasitol.* 188, 127–133.

Vilela, V.L.R., Solano, G.B., Araújo, M.M., Sousa, R.V.R., Silva, W.A., Feitosa, T.F., Athayde, A.C.R., 2008. Ensaio preliminares para a validação do Método FAMACHA® em condições de semiárido paraibano. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 17,164–167.

Tabela 1 – Percentual de larvas infectantes de *Haemonchus* sp. (H), *Trichostrongylus* spp. (T), *Strongyloides* sp. (S) e *Oesophagostomum* sp. (O) em coproculturas de ovinos que receberam a associação de *D. flagras* e *M. thaumasium* (Fungos – Adultas e Jovens) e do grupo Controle – Adultas e Jovens, durante 180 dias no semiárido nordestino.

Grupos		Dia 30	Dia 60	Dia 90	Dia 120	Dia 150	Dia 180
Fungos - Adultas	H	85	78	93	90	89	89
	T	12	15	6	9	7	11
	S	-	6	-	1	2	-
	O	3	1	1	-	2	-
Controle - Adultas	H	87	93	90	78	75	96
	T	13	5	10	20	20	4
	S	-	1	-	2	2	-
	O	-	1	-	-	3	-
Fungos – Jovens	H	75	72	72	79	86	81
	T	20	15	18	11	10	13
	S	4	12	10	10	3	6
	O	-	1	-	-	1	-
Controle - Jovens	H	78	82	75	73	79	82
	T	10	4	16	14	21	15
	S	12	13	9	3	-	2
	O	-	1	-	-	-	1

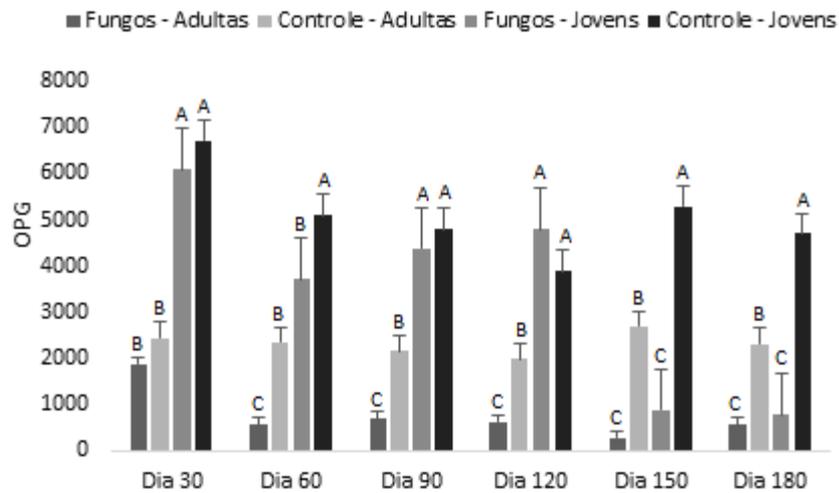


Figura 1 – Médias e desvios padrões da contagem de Ovos Por Grama de fezes (OPG) de ovinos dos subgrupos Fungos – Adultas e Jovens, que receberam a associação de *D. flagrans* e *M. thaumasium*, e dos subgrupos Controle – Adultas e Jovens, durante 180 dias, no semiárido nordestino. Os valores com as mesmas letras são estatisticamente similares pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

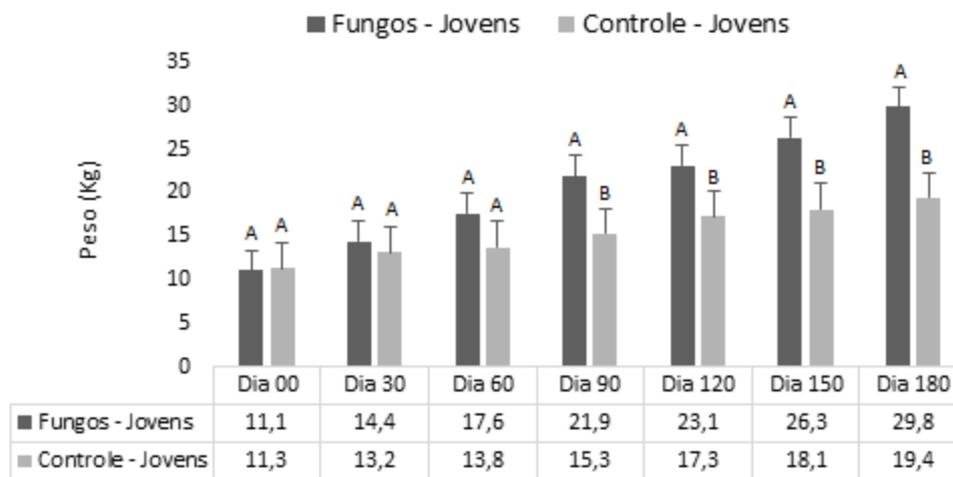


Figura 2 – Médias e desvios padrões do peso vivo (Kg) de ovinos do subgrupo que recebeu a associação de *D. flagrans* e *M. thaumasium* (Fungos – Jovens) e do subgrupo Controle – Jovens, durante 180 dias, no semiárido nordestino. Os valores com as mesmas letras são estatisticamente similares pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

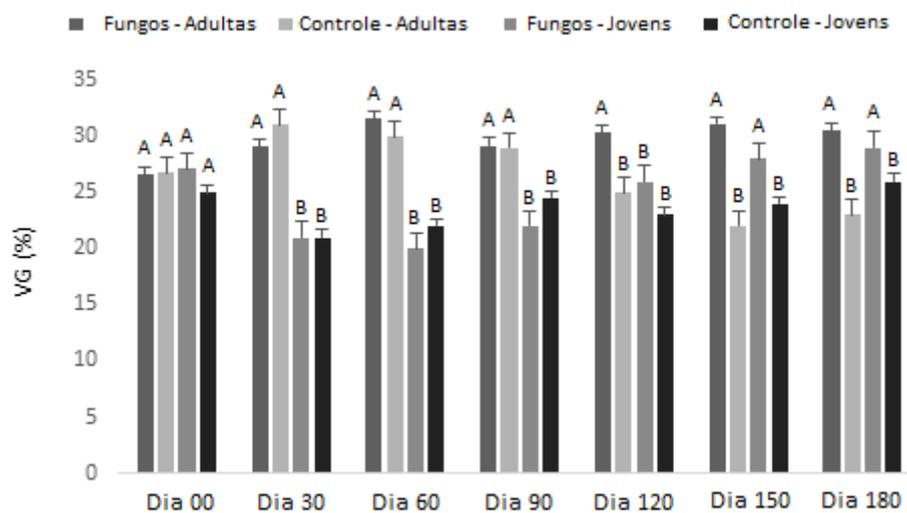


Figura 3 – Percentual de Volume Globular (VG) de ovinos dos subgrupos Fungos – Adultas e Jovens, que receberam a associação de *D. flagrans* e *M. thaumasium*, e dos subgrupos Controle – Adultas e Jovens, durante 180 dias, no semiárido nordestino. Os valores com as mesmas letras são estatisticamente similares pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

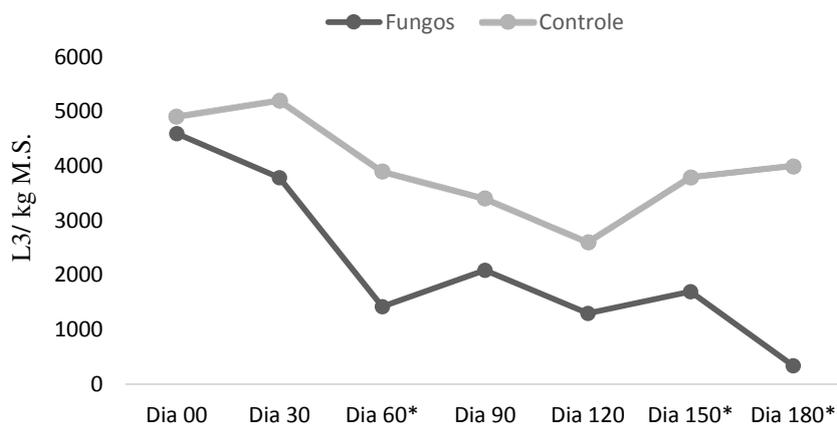


Figura 4 - Médias aritméticas do número de larvas infectantes por quilograma de matéria seca (L3/ kg M.S.) em piquetes pastejados por ovinos tratados com a associação de *D. flagrans* e *M. thaumasium* (grupo Fungos) e do grupo Controle. Asteriscos indicam os dias com diferenças estatísticas significativas entre os grupos – Teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p<0,05$).

CAPÍTULO II

**Controle estratégico de nematódeos gastrintestinais de ovinos com a utilização de
Duddingtonia flagrans e Cloridrato de Levamisole 5%**

Artigo submetido à
publicação na Parasitology
Research (Qualis – A1)

Controle estratégico de nematódeos gastrintestinais de ovinos com a utilização de *Duddingtonia flagrans* e Cloridrato de Levamisole 5%

Vinícius Longo Ribeiro Vilela^{1*}, Thais Ferreira Feitosa¹, Fabio Ribeiro Braga^{2,3}, Jackson Victor de Araújo², Vanessa Diniz Vieira¹, Gabriela Lucena Longo da Silva⁴, Samuel Cavalcante de Lucena⁴, Ana Célia Rodrigues Athayde^{1,4}

¹ Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), CEP: 58.108-110, Patos-PB, Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, CEP: 36.570-000, Viçosa-MG, Brasil.

³ Universidade Vila Velha, CEP: 29.102.770, Vila Velha-ES, Brasil.

⁴ Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, UFCG, Patos-PB, Brasil.

* Autor para correspondência. Tel: +55 83 3422 2214; fax: +55 83 3422 2246. E-mail: vilelavlr@yahoo.com.br

RESUMO

Objetivou-se avaliar a ação de péletes de *D. flagrans* associado ao tratamento anti-helmíntico estratégico com Cloridrato de Levamisole 5% no controle das nematodioses gastrintestinais de ovinos no semiárido brasileiro. Foram utilizados 18 ovinos da raça Dorper, fêmeas, idades entre 24 e 36 meses, média de peso de 50 kg. Foram formados três grupos constituídos de seis ovelhas. No grupo 1, cada animal recebeu na ração 3 g de péletes (0,6g de micélio fúngico de *D. flagrans*) para cada 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana, durante seis meses e uma dosificação com Cloridrato de Levamisole a 5% a cada OPG \geq 1500 (Fungo + Químico); no grupo 2, cada animal que apresentasse OPG \geq 1500 recebia uma dosificação com Cloridrato de Levamisole a 5% (Químico); no grupo 3, cada animal recebeu na ração 3 g de péletes sem fungos para cada 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana, durante seis meses, servindo como grupo Controle. Foram realizados OPG, coproculturas, VG e pesagem dos animais a cada 15 dias. Mensalmente, amostras de capim de cada piquete eram coletadas para a quantificação de L3/ kg M.S. As médias de OPG dos grupos começaram a diferir estatisticamente ($p < 0,05$) a partir do dia 30. No dia 180, a média de OPG do grupo Fungo + Químico foi de 480, do Químico de 1320 e do Controle de 2340. O grupo Fungo + Químico

necessitou de menos dosificações de Cl. de Levamisole 5% quando OPG \geq 1500 ($p < 0,05$), apenas oito, já o Químico necessitou de 17. *Haemonchus* sp. foi o gênero de helminto mais prevalente em todas as coproculturas. O grupo Fungo + Químico apresentou superioridade nos valores de VG durante todo o experimento ($p < 0,05$). Observou-se uma redução significativa ($p < 0,05$) na recuperação de L3 no pasto no piquete do grupo Fungo + Químico a partir do dia 30, chegando ao dia 180 com média de 800 L3/ kg M.S. Concluiu-se que a utilização de péletes de *D. flagrans* associada ao tratamento anti-helmíntico estratégico com Cloridrato de Levamisole 5% foi eficaz no controle das nematodioses gastrintestinais de ovelhas mantidas em pastagem irrigada no semiárido brasileiro.

Palavras-chave: controle integrado, fungos nematófagos, *Haemonchus* sp., ovinocultura.

Strategic control of sheep gastrointestinal nematodes using *Duddingtonia flagrans* and Levamisole Hydrochloride 5%

ABSTRACT

The objective was to evaluate the action of *D. flagrans* pellets associated with strategic anthelmintic treatment with Levamisole Hydrochloride 5% in the control of sheep gastrointestinal nematodiosis in the Brazilian semiarid. Were used 18 Dorper sheep, females, aged between 24 and 36 months, mean weight of 50 kg. Were formed three groups consisting of six sheep. In group 1, each animal received 3g of the pellets (0.6g of *D. flagrans* mycelium) for each 10 kg of body weight, twice a week for six months and a deworming with Levamisole Hydrochloride 5% each EPG \geq 1500 (Fungus + Chemical); in group 2, each animal received a dosage of levamisole hydrochloride with a 5 % when EPG \geq 1,500 (Chemical); and group 3, each animal received 3g of pellets without fungi for each 10 kg of body weight, twice a week for six month , serving as Control group. Were realized EPG, larval cultures, PCV and weighing in the animals every 15 days. Monthly, samples of grass from each paddock were collected for quantification of L3/ kg D. M. The groups EPG mean began to statistically differ from day 30 ($p < 0.05$). At day 180, the EPG mean of Fungus + Chemical group was 480, Chemical group was 1320 and Control group was 2340. The Fungus + Chemical group

required less deworming with Levamisole Hydrochloride 5% % when OPG \geq 1500 ($p < 0.05$), only eight, Chemical group required 17. *Haemonchus* sp. was the most prevalent helminth gender in all larval culture. The Fungus + Chemical group showed superiority in PCV values throughout the experiment ($p < 0.05$). There was a significant reduction ($p < 0.05$) in the recovery of L3 on pasture on the Fungus + Chemical paddock from day 30, peaking at day 180 with an average of 800 L3/ kg D.M. In conclusion, the use pellets of *D. flagrans* associated with strategic anthelmintic treatment with Levamisole Hydrochloride 5 % was effective in controlling gastrointestinal nematodiosis of sheep kept in irrigated pasture in the Brazilian semiarid region.

Keywords: integrated control, nematophagous fungi, *Haemonchus* sp., farming sheep.

INTRODUÇÃO

A pesquisa sobre a aplicação do fungo predador de nematódeos *Duddingtonia flagrans* (Silva et al. 2009; Silva et al. 2010) para o tratamento de nematodioses gastrointestinais de ovinos tem demonstrado seu potencial como agente de controle biológico contra os estágios de vida livre desses nematódeos sob condições experimentais *in vivo*.

Os fungos nematófagos são normalmente administrados aos animais em formulações à base de matriz de alginato de sódio. Estas formulações foram avaliadas experimentalmente no controle de nemátodeos parasitas de animais e têm proporcionado bons resultados em condições de laboratório e de campo (Braga e Araújo 2014).

Entretanto, por se tratarem de estudos voltados para a avaliação da eficácia de diversas espécies de fungos em diferentes espécies de animais, com diferentes dosagens ambientes testados (Araújo et al. 2007; Braga et al. 2009; Vilela et al. 2012; Tavela et al. 2013), poucos são os estudos avaliando a efetividade da administração de fungos nematófagos em um sistema de controle integrado de nematodioses, associada à utilização de compostos químicos.

A utilização de controle biológico é baseado na premissa de que o tratamento com fungos nematófagos não pode substituir o controle químico. De acordo com Sanyal et al. (2004), enquanto o regime de controle de parasitas que envolve o uso de anti-helmínticos químicos não pode ser implementada num sistema de pecuária orgânica, a

combinação de anti-helmínticos e de controle biológico pode ser implementada na maioria dos sistemas de produção de animais convencionais.

Objetivou-se avaliar a ação de formulações peletizadas em matriz de alginato de sódio de *D. flagrans* associada ao tratamento anti-helmíntico estratégico com Cloridrato de Levamisole 5% no controle das nematodioses gastrintestinais de ovinos no semiárido brasileiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Fungos e produção da massa micelial

Isolado de *Duddingtonia flagrans* (AC001) foi mantido no escuro, a 4 °C, em tubos contendo CMA 2% (corn-meal-agar). O isolado, oriundo de solos da região de Viçosa, Minas Gerais, foi obtido pelo método descrito por Duddington (1955), e modificado por Santos et al. (1991).

O micélio fúngico foi obtido pela transferência de discos de cultura (aproximadamente 5 mm de diâmetro) dos isolados em CMA 2% para frascos Erlenmeyers 250 mL com 150 mL do meio líquido batata-dextrose (Difco), pH 6.5, e incubados sob agitação de 120 x g no escuro a 26 °C, por 10 dias. Após esse período, o micélio foi removido, filtrado e pesado em balança analítica de precisão. Todos os procedimentos seguiram a metodologia de Araújo et al. (2010).

Ensaio experimental e animais

O experimento foi realizado na Fazenda Farinha, localizada na cidade de Patos, Paraíba, Nordeste do Brasil, latitude 7°1'28" S, longitude 37°16'48" W, de Abril a Setembro de 2013. A região possui um clima semiárido, com duas estações: chuvosa, de janeiro a maio, quando ocorrem em média 98,6% da precipitação anual, e seca (Vilela et al. 2008).

Uma área de 0,6 hectare de pastagem Tifton (*Corydon dactylon*), diariamente irrigada, foi dividida em três piquetes, cada piquete foi previamente infestado durante 30 dias pelo pastejo de quatro ovinos Dorper, machos, cinco meses de idade, média de OPG de 4870 ± 990, sendo 70% *Haemonchus* sp., 22% *Trichostrongylus* spp., 6% *Strongyloides* sp. e 2% *Oesophagostomum* sp.

Para a escolha do anti-helmíntico a ser utilizado, 24 ovinos foram divididos em quatro grupos e submetidos ao teste de Redução da Contagem de Ovos Fecais (RCOF), de acordo com Coles et al. (1992). Os anti-helmínticos testados foram Moxidectina 0,2%, Albendazole 5%, Ivermectina 0,08% e Cloridrato de Levamisole 5%, que apresentou maior RCOF (95%), sendo o fármaco escolhido.

Foram utilizados 18 ovinos da raça Dorper, fêmeas, idades entre 24 e 36 meses, média de peso de 50 kg. Quinze dias antes do início do experimento, os animais receberam por via oral o Cloridrato de Levamisole (5 mg/kg de peso vivo), durante três dias consecutivos. Sete dias após a primeira vermifugação foi realizada a contagem de Ovos Por Grama de fezes (OPG), pela técnica de Gordon e Whitlock (1939), três exames realizados da mesma amostra, onde todos os animais apresentaram resultado negativo.

Foram formados três grupos constituídos de seis ovelhas. No grupo 1, cada animal recebeu na ração 3 g de péletes (0,6g de micélio fúngico de *D. flagrans*) para cada 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana, durante seis meses e, a cada análise que os animais apresentassem $OPG \geq 1500$, recebiam uma dosificação com Cloridrato de Levamisole a 5% (Fungo + Químico); no grupo 2, cada animal que apresentasse $OPG \geq 1500$ recebia uma dosificação com Cloridrato de Levamisole a 5% (Químico); no grupo 3, cada animal recebeu na ração 3 g de péletes sem fungos para cada 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana, durante seis meses, servindo como grupo Controle. Cada grupo permaneceu em um piquete obedecendo à taxa de lotação de 1,5 Unidade Animal por hectare.

De acordo com Ueno e Gonçalves (1998), ovinos com $OPG \geq 1500$ apresentam carga parasitária pesada. Para prevenir mortalidade, tratamentos anti-helmínticos salvatórios foram realizados individualmente quando os animais apresentavam Volume Globular (VG) inferior a 16%. O vermífugo utilizado foi o Cloridrato de Levamisole (5mg/ kg de peso vivo).

Diariamente, todos os animais receberam suplementação com concentrado protéico-energético na concentração de 0,75% de peso vivo, sal mineral balanceado e água *ad libitum*.

Coletas de fezes e sangue de todos os animais eram realizadas a cada 15 dias, para as análises de OPG, Coproculturas (Roberts e O'Sullivan 1950) e VG (Ferreira Neto et al. 1981). A cada 15 dias, os animais também eram pesados para o acompanhamento da manutenção do peso.

Para a determinação mensal dos níveis de infestação ambiental por L3, cinco amostras de 200g de massa foliar eram coletadas de áreas distintas em cada piquete, totalizando aproximadamente 1000g (Raynaud e Gruner 1982). Posteriormente, as amostras eram acondicionadas individualmente em baldes plásticos, com capacidade de 10L, preenchidos com água à temperatura de 37 °C, onde permaneciam em repouso por quatro horas para liberação das larvas. Em seguida, retirava-se a massa foliar cuidadosamente, para não suspender as larvas, desprezava-se o sobrenadante, coava-se o precipitado em tâmis de 200µm para posterior decantação em copo de Hoffman. O sedimento era examinado em microscópio óptico e as larvas quantificadas e identificadas. Posteriormente, era feita uma média aritmética do total de larvas recuperadas nas cinco amostras de cada piquete analisado. A massa foliar anteriormente retirada dos baldes plásticos era acondicionada em recipientes metálicos e levadas à estufa de ventilação forçada a 45 °C por 48 h. Posteriormente, depois a matéria seca era pesada para determinação dos valores de L3/ kg de matéria seca.

Dados meteorológicos como temperatura, umidade relativa e pluviosidade foram coletados mensalmente em estação especializada da Universidade Federal de Campina Grande, campus de Patos-PB. Durante o experimento, a temperatura variou de 22 a 36 °C, a umidade relativa do ar de 51 a 93% e a precipitação pluviométrica mensal foi de 150 mm³ em abril, 80 mm³ em maio, 70 mm³ em junho e 45 mm³ em julho, agosto e setembro de 2013.

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via e teste de Tukey ou Teste F a 5% de probabilidade. Os valores de OPG foram analisados utilizando a transformação logarítmica $\text{Log}(x + 1)$, entretanto, eles estão presentes nas figuras como médias aritméticas dos valores não transformados. As análises foram realizadas utilizando o BioEstat 5.0 Software (Ayres et al. 2003).

RESULTADOS

As médias de OPG dos grupos começaram a diferir estatisticamente ($p < 0,05$) a partir do dia 30 (Figura 1). No grupo tratado com *D. flagrans* e Cl. Levamisole 5% (Fungo + Químico), o OPG aos 30 dias de experimento foi de 250, mantendo-se em

níveis baixos durante todo o experimento, chegando ao dia 180 com média de 480. Houve diferença estatística entre os grupos Químico e Controle durante a maior parte do experimento (dias 30, 120, 150 e 180), porém permanecendo com valores de OPG elevados ao longo do experimento, exceto nos dias 60 e 90. Ao final do experimento, a média de OPG para o grupo Químico foi de 1320, para o grupo Controle foi de 2340.

Quanto ao número de tratamentos com Cloridrato de Levamisole 5% quando $OPG \geq 1500$, observou-se diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os grupos Fungo + Químico e Químico (Tabela 1). O primeiro grupo, que associou o tratamento químico ao *D. flagrans* apresentou ao longo do experimento apenas oito $OPG \geq 1500$, ou seja, oito vermifugações, sendo estas realizadas até o dia 120. Já no grupo Químico, foram observados 17 $OPG \geq 1500$, necessitando de 17 vermifugações, sendo estas bem distribuídas até o final do experimento.

No grupo Fungo + Químico, nenhum animal necessitou de vermifugação salvatória ao longo do experimento. Entretanto, no grupo Químico, duas ovelhas receberam vermifugação salvatória: uma no dia 90 e outra no dia 150. Já no grupo Controle foram necessárias sete vermifugações salvatórias: uma ovelha recebeu três doses, nos dias 90, 150 e 180; e duas ovelhas receberam duas dosificações, ambas nos dias 90 e 120.

Observou-se que o *Haemonchus* sp. foi o gênero de helminto mais prevalente em todas as coproculturas, seguido pelo *Trichostrongylus* spp., *Strongyloides* sp. e *Oesophagostomum* sp. (Tabela 2).

O grupo Fungo + Químico apresentou superioridade nos valores de VG durante todo o experimento ($p < 0,05$), diferindo do grupo Controle a partir do dia 30 (Figura 2). Os valores de VG do grupo Químico permaneceram em níveis intermediários, quando comparados aos demais grupos, diferindo do grupo Controle apenas nos dias 30 e 60.

Não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) no peso dos animais dos diferentes grupos, onde mantiveram a média de peso de 50 kg durante o experimento.

Observou-se elevada taxa de infestação ambiental nos piquetes no início do experimento (média de 4500 L3/ kg M.S. em cada grupo), entretanto, as médias de L3 recuperadas da pastagem apresentaram diferença estatisticamente significativas ($p < 0,05$) a partir do dia 30, quando o grupo Fungo + Químico iniciou uma redução gradativa, chegando ao dia 180 com média de 800 L3/ kg M.S. O grupo Químico diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) do grupo Controle apenas no dia 30 (Figura 3).

DISCUSSÃO

A média de OPG do grupo Fungo + Químico começou a diferir estatisticamente ($p < 0,05$) a partir do dia 30. Nesse grupo, no dia 180, a RCOF, em comparação ao grupo Controle foi de 80%. Vilela et al. (2012) obtiveram redução de 59% no OPG de caprinos submetidos ao tratamento com péletes de *D. flagrans* no semiárido paraibano, utilizando pressão de pastejo de 0,3 UA/ ha. Entretanto, naquele estudo eram realizadas vermifugações apenas quando os animais apresentassem elevada anemia, quando o VG $\leq 16\%$, podendo explicar os valores divergentes entre os estudos. A utilização de tratamento químico auxiliou para que ocorresse uma acelerada redução na carga parasitária dos animais no grupo Fungo + Químico, mesmo com uma pressão de pastejo cinco vezes maior, de 1,5 UA/ ha .

Houve diferença estatística entre os grupos Químico e Controle durante a maior parte do experimento (dias 30, 120, 150 e 180), porém o grupo Químico permaneceu com OPG elevado ao longo do experimento. Ao final, a RCOF desse grupo comparado ao Controle foi de 44%. Apesar de apresentar uma boa eficácia anti-helmíntica no rebanho avaliado (95%), a alta pressão de pastejo associada a alta infestação ambiental por L3 de nematódeos gastrintestinais, levava a uma alta reinfecção dos animais, fazendo com que o grupo Químico permanecessem com o OPG elevado durante todo o experimento.

Observou-se diferença estatística significativa ($p < 0,05$) quanto ao número de tratamentos com Cloridrato de Levamisole 5% quando OPG ≥ 1500 . No grupo Fungo + Químico foram realizadas apenas oito vermifugações, principalmente no início do experimento. Já no grupo Químico, foram necessárias 17 vermifugações, bem distribuídas até o final do experimento. Ainda no grupo Fungo + Químico, nenhum animal necessitou de vermifugação salvatória ao longo do experimento. No grupo Químico, duas ovelhas receberam vermifugações salvatórias. Já no grupo Controle foram necessárias sete vermifugações salvatórias. Segundo Araújo et al. (1998), o parasitismo clínico não ocorre quando são administrados fungos nematófagos devido à diminuição de larvas no pasto, reduzindo a reinfecção dos animais, deixando-os aptos a desenvolver imunidade natural contra os nematódeos.

Haemonchus sp. foi o gênero de helminto mais prevalente em todas as coproculturas. A prevalência desse gênero em rebanhos caprinos na mesorregião do

Sertão da Paraíba, Nordeste do Brasil, foi observada por Vieira et al. (2014), representando 83,2% da carga parasitária dos animais.

O grupo Fungo + Químico apresentou superioridade nos valores de VG durante todo o experimento ($p < 0,05$), diferindo do grupo Controle a partir do dia 30. Vilela et al. (2013) também observaram melhores índices de VG de caprinos que receberam péletes de *D. flagrans* durante seis meses no semiárido nordestino, quando comparados ao grupo Controle. Entretanto, Silva et al. (2010) não observaram diferença estatística significativa ($p > 0,05$) no VG em ovinos que receberam péletes de *D. flagrans* no Sudeste do Brasil.

Não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) no peso dos animais dos diferentes grupos. Silva et al. (2009) também não observaram alterações significativas no peso de ovelhas submetidas ao tratamento com péletes contendo *D. flagrans* e *Monacrosporium thaumasium* no Sudeste do Brasil, provavelmente por serem animais adultos, submetidos a uma dieta de manutenção de peso.

Houve uma redução gradativa de L3 na pastagem do piquete do grupo Fungo + Químico a partir do dia 30, chegando ao final do experimento com níveis 80% menores que os encontrados no piquete do grupo Controle. O grupo Químico diferiu estatisticamente do grupo Controle apenas no dia 30, chegando ao dia 180 com níveis de infestação por L3 no pasto apenas 22,5% menores que o grupo Controle. Dias et al. (2007) também obtiveram reduções no número de L3/ kg M.S. de 85% após seis meses de administração de péletes de *D. flagrans* a bovinos no Sudeste do Brasil. Segundo estes autores, a utilização de fungos nematófagos consegue reduzir o número de larvas infectantes na pastagem após um mês. Entretanto, Larsen et al. (1996) apenas observou diferença estatística ($p < 0,05$) no número de L3/ kg M.S. entre equinos tratados com *D. flagrans* e o grupo controle nos últimos dois meses de experimento.

No presente estudo, o controle da infestação ambiental pelo *D. flagrans*, associado à utilização de tratamento químico com Cloridrato de Levamisole 5% quando o OPG dos animais ultrapassava os níveis aceitáveis, resultou em uma eficácia da estratégia de tratamento anti-helmíntico, onde os animais do grupo Fungo + Químico mantiveram uma baixa carga parasitária durante todo o experimento, refletindo em menor número de vermifugações e melhores ganho de peso, índices de VG e reduções de L3/ kg M.S.

CONCLUSÃO

Concluiu-se que a utilização de péletes de *D. flagrans* associada ao tratamento anti-helmíntico estratégico com Cloridrato de Levamisole 5% foi eficaz no controle das nematodioses gastrintestinais de ovelhas mantidas em pastagem irrigada no semiárido brasileiro.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer o suporte financeiro recebido da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG.

REFERÊNCIAS

Araújo JM, Araújo JV, Braga FR, Carvalho RO (2010) *In vitro* predatory activity of nematophagous fungi and after passing through gastrointestinal tract of equine on infective larvae of *Strongyloides westeri*. Parasitol Res 107: 103–108

Araújo JV, Gomes APS, Guimarães MP (1998) Biological control of bovine gastrointestinal nematode parasites in Southern Brazil by nematode-trapping fungus *Arthrobotrys robusta*. Rev Bras Parasitol Vet 7: 117-122

Araújo JV, Rodrigues MLA, Silva WW, Vieira LS (2007) Controle biológico de nematóides gastrintestinais de caprinos em clima semiárido pelo fungo *Monacrosporium thaumasium*. Pesq Agropec Bras 42: 1177–1181

Ayres M, Ayres JRM, Ayres DL, Santos AS (2003) Aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas e médicas, 4th edn. Sociedade Civil Mamirauá, Belém

Braga FR, Araújo JV (2014) Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. App Microbiol 98: 71-82

Braga FR, Araújo JV, Silva AR, Araújo JM, Carvalho RO, Tavela AO, Campos AK, Carvalho GL (2009). Biological control of horse cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in tropical southeastern Brazil. *Vet Parasitol* 163: 335–340

Coles GC, Bauer C, Borgsteede FH, Geerts S, Klei TR, Taylor MA, Waller PJ (1992) World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet Parasitol* 44: 35-44

Dias AS, Araújo JV, Campos AK, Braga FR, Fonseca TA (2007) Application of a formulation of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in the control of the cattle gastrointestinal nematodiosis. *World J Microbiol Biotechnol* 23: 1245-1252

Duddington CL (1995) Notes on the technique of handling predaceous fungi. *Trans Br Mycol Soc* 38: 97-103

Ferreira Neto JM, Viana ES, Magalhães LM (1981) *Patologia Clínica Veterinária*, 1st edn. Rabelo, Belo Horizonte

Gordon HM, Whitlock HV (1939) A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *J Coun Sci Ind Res* 12: 50–52

Larsen MM, Nansen P, Grondahl C, Thamsborg SM, Groncold J, Wolstrup J, Henriksen SA, Monrad J (1996) The capacity of the fungus *Duddingtonia flagrans* to prevent strongyle infections in foals on pasture. *Parasitol* 113: 1-6

Raynaud JP, Gruner L (1982) Fiasibility of herbage sampling in large extensive pastures and availability of cattle nematode infective larvae in mountain pastures. *Vet Parasitol* 10: 57-64

Roberts FHS, O'Sullivan JP (1950) Methods of egg counts and larval cultures for Strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. *Aust J Agr Res* 1: 99–102

Santos M, Ferraz S, Muchovej J (1991) Detection and ecology of nematophagous fungi from Brazil soils. *Nematol Bras* 15: 121-134

Sanyal PK, Chauhan JB, Mukhopadhyaya PN (2004) Implications of fungicidal effects of Benzimidazole compounds on *Duddingtonia flagrans* in integrated nematode parasite management in livestock. *Vet Res Commun* 28:375-385

Silva AR, Araújo JV, Braga FR, Frassy LN, Tavela AO, Carvalho RO, Castejon FV (2009) Biological control of sheep gastrointestinal nematodiasis in a tropical region of the southeast of Brazil with the nematode predatory fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium*. *Parasitol Res* 105: 1707–1713

Silva BF, Carrijo-Mauad JR, Braga FR, Campos AK, Araújo JV, Amarante AFT (2010) Efficacy of *Duddingtonia flagrans* and *Arthobotrys robusta* in controlling sheep parasitic gastroenteritis. *Parasitol Res* 106: 1343–1350

Tavela AO, Araújo JV, Braga FR, Silveira WS, Silva VHD, Carretta Júnior M, Borges LA, Araújo JM, Benjamin LA, Carvalho GR, Paula AT (2013) Coadministration of sodium alginate pellets containing the fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* on cyathostomin infective larvae after passing through the gastrointestinal tract of horses. *Res Vet Sc* 94: 568–572

Ueno H, Gonçalves PC (1998) Manual para diagnóstico de helmintoses de ruminantes, 4th edn. Japan International Cooperation Agency, Tokyo

Vieira VD, Feitosa TF, Vilela VLR, Azevedo SS, Almeida Neto JL, Morais DF, Ribeiro ARC, Athayde ACR (2014) Prevalence and risk factors associated with goat gastrointestinal helminthiasis in the Sertão region of Paraíba State, Brazil. *Trop Anim Health Prod* 46: 355-361

Vilela VLR, Feitosa TF, Braga FR, Araújo JV, Lucena SC, Dantas ES, Athayde ACR, Silva WW (2013) Efficacy of *Monacrosporium thaumasium* in the control of goat gastrointestinal helminthiasis in a semi-arid region of Brazil. *Parasitol Res* 112: 871–877

Vilela VLR, Feitosa TF, Braga FR, Araújo JV, Souto DVO, Santos HES, Silva GLL, Athayde ACR (2012). Biological control of goat gastrointestinal helminthiasis by *Duddingtonia flagrans* in a semi-arid region of the northeastern Brazil. *Vet Parasitol* 188: 127–133

Vilela VLR, Solano GB, Araújo MM, Sousa RVR, Silva WA, Feitosa TF, Athayde ACR (2008) Ensaio preliminar para a validação do Método FAMACHA© em condições de semiárido paraibano. *Rev Bras Parasitol Vet* 17:164–167

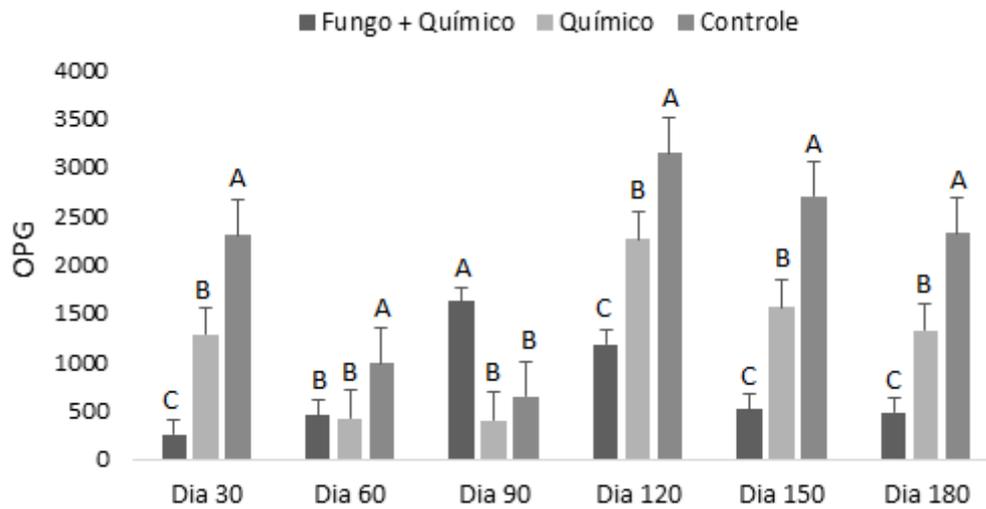


Figura 1 – Médias mensais e desvios padrões da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) de ovinos dos grupos Fungo + Químico (*D. flagrans* - 0,6 g/ 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana e Cloridrato de Levamisole 5% - OPG \geq 1500), Químico (Cloridrato de Levamisole 5% - OPG \geq 1500) e Controle, durante 180 dias no semiárido nordestino. Os valores seguidos por letras iguais são estatisticamente similares ($p > 0,05$) – Teste de Tukey a 5%.

Tabela 1 – Número de vermifugações realizadas nos grupos Fungo + Químico (*D. flagrans* - 0,6 g/ 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana e Cloridrato de Levamisole 5% - OPG \geq 1500) e Químico (Cloridrato de Levamisole 5% - OPG \geq 1500), durante 180 dias, no semiárido nordestino.

Grupos	Dias						Total
	30	60	90	120	150	180	
Fungo + Químico	2	3	2	1	-	-	8*
Químico	3	4	2	2	3	3	17
							valor de <i>P</i> 0,01

* Representa diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo Teste F a 5% de significância.

Tabela 2 – Percentual de larvas infectantes de *Haemonchus* sp. (H), *Trichostrongylus* spp. (T), *Strongyloides* sp. (S) e *Oesophagostomum* sp. (O) em coproculturas de ovinos submetidos ao controle estratégico com péletes de *D. flagrans* e Cloridrato de Levamisole 5% (Fungo + Químico), Cloridrato de Levamisole 5% (Químico) e que não receberam tratamento (Controle), durante 180 dias no semiárido nordestino.

Grupos		Dia 30	Dia 60	Dia 90	Dia 120	Dia 150	Dia 180
Fungo + Químico	H	90	87	79	78	88	91
	T	9	8	17	16	7	8
	S	1	2	2	5	4	1
	O	-	3	2	1	1	-
Químico	H	87	87	92	90	89	85
	T	10	6	4	8	6	12
	S	1	5	3	2	4	3
	O	2	2	1	-	1	-
Controle	H	85	90	92	90	87	86
	T	11	4	5	6	7	10
	S	-	3	2	4	3	3
	O	4	3	1	-	3	1

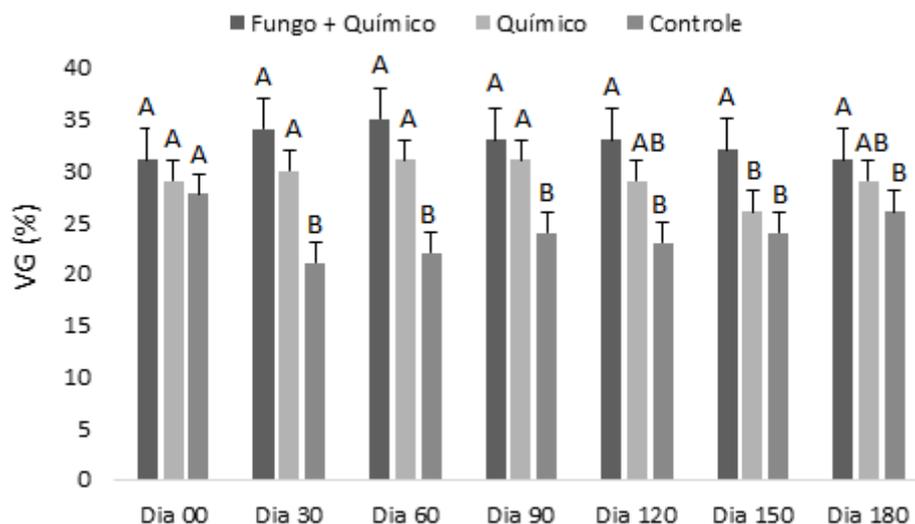


Figura 2 – Médias mensais e desvios padrões do Volume Globular (VG) de ovinos dos grupos Fungo + Químico (*D. flagrans* - 0,6 g/ 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana e Cloridrato de Levamisole 5% - OPG \geq 1500), Químico (Cloridrato de Levamisole 5% - OPG \geq 1500) e Controle, durante 180 dias no semiárido nordestino. Os valores seguidos por letras iguais são estatisticamente similares ($p > 0,05$) – Teste de Tukey a 5%.

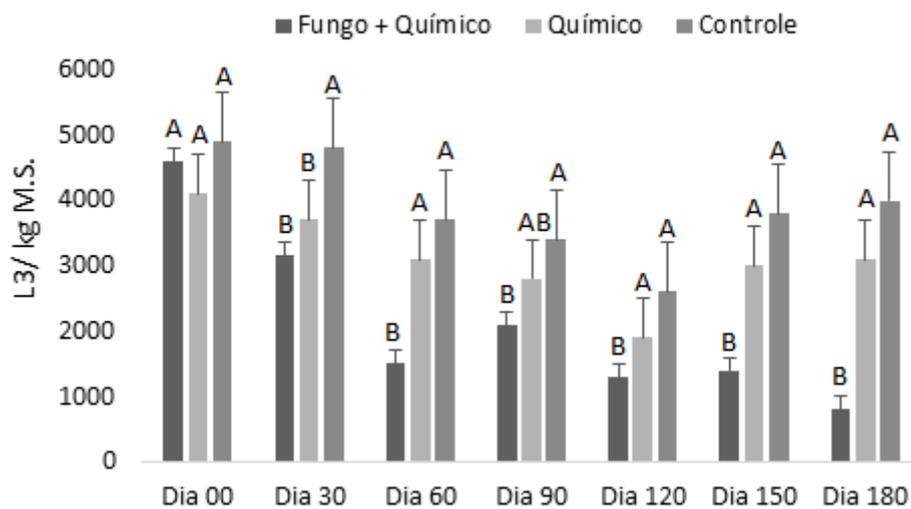


Figura 3 - Médias aritméticas e desvios padrões do número de larvas infectantes por quilograma de matéria seca (L3/ kg M.S.) de ovinos dos grupos Fungo + Químico (*D. flagrans* - 0,6 g/ 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana e Cloridrato de Levamisole 5% - OPG \geq 1500), Químico (Cloridrato de Levamisole 5% - OPG \geq 1500) e Controle, durante 180 dias no semiárido nordestino. Os valores seguidos por letras iguais são estatisticamente similares ($p > 0,05$) – Teste de Tukey a 5%.

CAPÍTULO III

Utilização de *Duddingtonia flagrans* no controle das nematodioses gastrintestinais de caprinos mantidos em confinamento

Artigo submetido à
publicação na Revista
Brasileira de Parasitologia
Veterinária (Qualis – B1)

Utilização de *Duddingtonia flagrans* no controle das nematodioses gastrintestinais de caprinos mantidos em confinamento

Vinícius Longo Ribeiro Vilela^{1*}, Thais Ferreira Feitosa¹, Fabio Ribeiro Braga^{2,3}, Jackson Victor de Araújo², Vanessa Diniz Vieira¹, Antonielson dos Santos¹, Dayana Firmino de Moraes⁴, Diego Vagner de Oliveira Souto¹, Ana Célia Rodrigues Athayde^{1,4}

¹ Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), CEP: 58.108-110, Patos-PB, Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, CEP: 36.570-000, Viçosa-MG, Brasil.

³ Universidade Vila Velha, CEP: 29.102.770, Vila Velha-ES, Brasil.

⁴ Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, UFCG, Patos-PB, Brasil.

* Autor para correspondência. Tel: +55 83 3422 2214; fax: +55 83 3422 2246. E-mail: vilelavlr@yahoo.com.br

RESUMO

Objetivou-se avaliar a utilização da formulação peletizada em matriz de alginato de sódio de *D. flagrans* no controle biológico das nematodioses gastrintestinais de caprinos mantidos confinamento no semiárido do Nordeste brasileiro. Foram utilizados 12 caprinos da raça Saanen, fêmeas, com quatro meses de idade, média de peso de 12 kg, sem tratamento anti-helmíntico prévio e com OPG ≥ 500 . Os animais foram divididos em dois grupos: grupo 1, cada animal recebeu na ração 3 g de péletes (0,6g de micélio fúngico de *D. flagrans*) para cada 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana, durante quatro meses; grupo 2, cada animal recebeu na ração 3 g de péletes sem fungos para cada 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana, durante quatro meses, servindo como grupo controle. Cada grupo permaneceu em uma baía de 9 m². Foram realizados OPG, VG, Coproculturas e pesagem dos animais a cada 15 dias. Observaram-se baixos valores de OPG no grupo *D. flagrans* durante todo o experimento, com diferença significativa ($p < 0,05$) a partir do dia 30 e, ao final do experimento, os valores de OPG foram de apenas 150. No grupo Controle, o OPG final foi de 1950. *Haemonchus* sp. foi o gênero de helminto mais prevalente em todas as coproculturas. O grupo *D. flagrans* apresentou uma média de ganho de peso de 8,8 kg ao final do experimento ($p < 0,05$), o

grupo Controle, 4,8 kg. Também foram observados os melhores índices de VG ($p<0,05$) no grupo *D. flagrans* durante todo o experimento. Concluiu-se que a utilização de péletes em matriz de alginato de sódio de *D. flagrans* foi eficaz no controle das nematodioses gastrintestinais de caprinos mantidos em confinamento no semiárido do Nordeste brasileiro.

Palavras-chave: caprinocultura, controle biológico, *Haemonchus* sp., verminose.

Use of *Duddingtonia flagrans* in the control of gastrointestinal nematodiosis of feedlot goats

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the use of a sodium alginate matrix pelletized formulation of *D. flagrans* in the biological control of gastrointestinal nematodiosis of feedlot goat in semiarid of Northeastern Brazil. Were used 12 Saanen female goats, four months-old, average weight of 12 kg, without anthelmintic treatment and with EPG ≥ 500 . The animals were divided into two groups: group 1, each animal received 3g of pellets (0.6g of *D. flagrans* mycelium) for each 10 kg of body weight, twice a week, during four months; group 2, each animal received 3g of pellets without fungus for each 10 kg of body weight, twice a week, during four months, serving as a Control group. Each group remained in a stall of 9 m². Were realized EPG, PCV, larval cultures and weighing in all animals every 15 days. We observed low levels of EPG in group *D. flagrans* throughout the experiment, with a significant difference ($p < 0.05$) from day 30, and at the end of the experiment, the values of EPG were only 150. In the Control group, EPG was 1950 at the end of the experiment. *Haemonchus* sp. was more prevalent helminth gender in all larval cultures. *D. flagrans* group showed a mean weight gain of 8.8 kg at the end of the experiment ($p < 0.05$), the control group, 4.8 kg. The best PCV results ($p < 0.05$) were also observed in group *D. flagrans* throughout the experiment. We conclude that the use of pellets of *D. flagrans* in sodium alginate matrix was effective in controlling gastrointestinal nematodiosis of feedlot goats in the semiarid Northeastern Brazil.

Keywords: farming goat, biological control, *Haemonchus* sp., worm.

INTRODUÇÃO

A caprinocultura é uma atividade de grande importância para o Nordeste brasileiro, principalmente no semiárido, onde a carne caprina é considerada a principal fonte de proteína animal. Apesar de numericamente expressivo, esse rebanho caprino apresenta índices produtivos considerados baixos em função de diversos fatores, dentre eles as helmintoses gastrintestinais.

Por outro lado, devido à falta de informações técnicas dos produtores o uso indiscriminado de anti-helmínticos desenvolveu a resistência às diversas moléculas disponíveis no mercado, principalmente Ivermectina, Moxidectina, Levamisole e Albendazole, gerando grandes problemas no controle das parasitoses no semiárido do Brasil (LIMA et al., 2010; VIEIRA et al., 2014).

Nesse contexto, a busca por alternativas capazes de controlar as helmintoses gastrintestinais em pequenos ruminantes vem sendo amplamente estimulada. A utilização de fungos nematófagos em formulações a base de alginato de sódio tem sido uma opção promissora para o controle *in vitro* e *in vivo* de parasitas de diversas espécies de animais domésticos, incluindo caprinos, por produzirem armadilhas que capturam e fixam os nematódeos, matando-os por destruição de seus órgãos internos (PARAUD et al., 2007; BRAGA et al., 2009; SILVA et al., 2011; VILELA et al., 2013). O fungo peletizado em alginato de sódio pode ser mantido em estoque e é confeccionado com materiais inertes, o que mostra seu potencial de utilização em rebanhos. Os péletes, após administrados por via oral aos animais, são eliminados nas fezes por até 120 horas (CAVALCANTE et al., 2009). O parasitismo clínico não ocorre quando são administrados fungos nematófagos devido à diminuição de larvas no pasto, reduzindo a reinfecção dos animais, deixando-os aptos a desenvolver imunidade natural contra os nematódeos (ARAÚJO, 1998).

A espécie *Duddingtonia flagrans* é a mais estudada no controle das helmintoses gastrintestinais de animais domésticos, sendo considerada a mais promissora (LARSEN, 1998; FAEDO et al., 2002). Além disso, tem sido utilizado com sucesso no controle a campo de helmintos parasitos de animais de produção (BRAGA e ARAÚJO, 2014). Caprinos estabulados constantemente necessitam de vermifugações, por aumentarem a carga parasitária ao se reinfectarem com larvas de nematódeos gastrintestinais. Entretanto, não existem estudos avaliando a ação de fungos nematófagos no controle da reinfecção de animais confinados.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a utilização da formulação peletizada em matriz de alginato de sódio do *D. flagrans* no controle biológico das nematodioses gastrintestinais de caprinos mantidos confinamento no semiárido do estado da Paraíba, Nordeste brasileiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Fungos e produção da massa micelial

Foi utilizado um isolado do fungo predador de nematódeos *D. flagrans* (AC001). Este isolado foi obtido de solos da região da Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, Brasil e tem sido mantidos no laboratório de parasitologia da Universidade Federal de Viçosa.

O micélio fúngico foi obtido pela transferência de discos de cultura (aproximadamente 4 mm de diâmetro) dos isolados fúngicos (*D. flagrans* e *M. thaumasium*) em 2% de ágar-água (2% AA) para frascos Erlenmeyer de 250 mL com 150 mL do meio líquido GPY (glicose, peptona sódica e extrato de levedura), e incubados sob agitação de 120 rpm no escuro, a 26 °C, por dez dias. Após esse período, o micélio foi removido, filtrado e pesado em balança analítica de precisão. Todos os procedimentos seguiram a metodologia de Araújo et al. (2010).

Ensaio experimental e animais

O experimento foi realizado na Fazenda Farinha, localizada na cidade de Patos, Paraíba, Nordeste do Brasil, latitude 7°1'28" S, longitude 37°16'48" W, de Junho a Setembro de 2013. A região possui um clima semiárido, com duas estações: chuvosa, de janeiro a maio, quando ocorrem em média 98,6% da precipitação anual, e seca (VILELA et al., 2008).

O experimento foi realizado em um galpão que apresentava duas baias de 9 m², cada. As baias apresentavam piso em concreto, cobertura em telhas de barro, comedouros e bebedouros. As baias recebiam higienização completa a cada 15 dias, em que a cama composta por raspa de madeira era completamente substituída, pisos e paredes eram lavados e desinfetados com hipoclorito de sódio 1%. Em cada baia foi alocado um grupo experimental.

Para a escolha do anti-helmíntico a ser utilizado, 18 caprinos foram divididos em três grupos e submetidos ao teste de Redução da Contagem de Ovos Fecais (RCOF), de acordo com Coles et al. (1992). Os anti-helmínticos utilizados foram Moxidectina 0,2%, Ivermectina 0,08% e Cloridrato de Levamisole 5%, que apresentou maior RCOF (91%), sendo o fármaco escolhido.

Foram utilizados 12 caprinos da raça Saanen, fêmeas, com quatro meses de idade, média de peso de 12 kg, sem tratamento anti-helmíntico prévio e com OPG \geq 500. Os animais foram divididos em dois grupos: grupo 1, cada animal recebeu na ração 3 g de péletes (0,6g de micélio fúngico de *D. flagrans*) para cada 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana, durante quatro meses; grupo 2, cada animal recebeu na ração 3 g de péletes sem fungos para cada 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana, durante seis meses, servindo como grupo controle.

Os animais foram submetidos a uma dieta completa, à base de milho e farelo de soja, na dosagem de 1,5% do peso vivo, além de feno de capim Tifton (*Corydon dactylon*) e mistura mineral completa e água *ad libitum*, de modo a atender as exigências nutricionais para ovelhas, de acordo com o NRC (1985).

Para prevenir mortalidade, tratamentos anti-helmínticos salvatórios foram realizados individualmente quando os animais apresentavam Volume Globular (VG) inferior a 16%, o vermífugo utilizado era o Cloridrato de Levamisole (5 mg/kg de peso vivo).

Coletas de fezes e sangue de todos os animais eram realizadas a cada 15 dias, para as análises de OPG (GORDON e WHITLOCK, 1939), Coproculturas (ROBERTS e O'SULLIVAN, 1950) e VG (FERREIRA NETO et al.,1981). A cada 15 dias, os animais também eram pesados para o acompanhamento do desenvolvimento ponderal.

Dados meteorológicos como temperatura, umidade relativa e pluviosidade foram coletados mensalmente em estação especializada da Universidade Federal de Campina Grande, campus de Patos-PB. Durante o experimento, a temperatura variou de 26 a 36 °C, a umidade relativa do ar de 51 a 88% e a precipitação pluviométrica mensal foi de 70 mm³ em junho e 45 mm³ em julho, agosto e setembro de 2013.

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via e teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os valores de OPG foram analisados utilizando a

transformação logarítmica $\text{Log}(x + 1)$, entretanto, eles estão presentes nas figuras como médias aritméticas dos valores não transformados. As análises foram realizadas utilizando o BioEstat 5.0 Software (Ayres et al., 2007).

RESULTADOS

Observaram-se baixos valores de OPG no grupo *D. flagrans* durante todo o experimento, com diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) quando comparado ao grupo Controle no dia 30 e a partir do dia 60 (Figura 1). Ao final do experimento, os índices de OPG do grupo *D. flagrans* foram de apenas 150, já no grupo Controle, o OPG foi de 1950.

Nenhum animal do grupo *D. flagrans* necessitou de vermifugação salvatória. Entretanto, no grupo Controle, dois caprinos foram vermifugados: um no dia 45 e outro no dia 60.

Haemonchus sp. foi o gênero de helminto mais prevalente em todas as coproculturas, seguido por *Trichostrongylus* spp., *Strongyloides* sp. e *Oesophagostomum* sp. (Tabela 1).

Houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os grupos em relação ao ganho de peso a partir do dia 90 (Figura 2). O grupo *D. flagrans* apresentou uma média de ganho de peso de 8,8 kg ao longo do experimento. Já no grupo Controle, a média de ganho de peso foi de 4,8 kg.

Os grupos diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) em relação ao percentual de VG nos dias 30, 45, 75, 105 e 120. Os melhores índices de VG foram observados no grupo *D. flagrans* durante todo o experimento (Figura 3).

DISCUSSÃO

O grupo *D. flagrans* apresentou baixos valores de OPG durante todo o experimento ($p < 0,05$), chegando ao dia 120 com carga parasitária 92% menor do que o grupo Controle. Uma redução de 59% no OPG de caprinos, inferior ao observado no presente estudo, foi observada por Vilela et al. (2012) após a utilização de péletes de *D. flagrans* durante seis meses no semiárido nordestino. Porém, esses animais eram mantidos em regime extensivo e se alimentavam de pastagem nativa da Caatinga, o que aumentava os índices de reinfecção.

Devido à carga parasitária do grupo *D. flagrans* permanecer baixa ao longo do experimento, nenhuma vermifugação salvatória foi necessária para estes animais. Por outro lado, dois animais do grupo Controle necessitaram de vermifugação ao apresentar $VG \leq 16\%$.

Haemonchus sp. foi o gênero de helminto mais prevalente em todas as coproculturas. De acordo com Vieira et al. (2014), que realizaram um estudo de prevalência das helmintoses gastrintestinais de caprinos no semiárido paraibano, o gênero *Haemonchus* sp., representa 83,2% da fauna helmíntica dos animais.

A partir do dia 90, observou-se melhor ganho de peso no grupo *D. flagrans* ($p < 0,05$), com uma média de 8,8 kg ao final do experimento. Já no grupo Controle, a média de ganho de peso foi de 4,8 kg. Pesquisas realizadas por Araújo et al. (2007), Vilela et al. (2012) e Vilela et al. (2013) também observaram maior ganho de peso ($p < 0,05$) em grupos de caprinos que recebiam formulações peletizadas em matriz de alginato de sódio contendo fungos nematófagos no semiárido do Brasil. Devido à diminuição da reinfecção dos animais, estes tornam-se aptos a debelar as infecções helmínticas pré-existentes, aumentando o ganho de peso.

Os melhores índices de VG foram observados no grupo *D. flagrans* durante todo o experimento. Resultados semelhantes foram observados por Vilela et al. (2012), que observaram melhores percentuais de VG após 60, 90 e 120 dias da administração de péletes de *D. flagrans* a caprinos. Entretanto, Silva et al. (2010) não encontraram diferença estatística significativa ($p > 0,05$) no VG em ovinos que receberam péletes de *D. flagrans* no Sudeste do Brasil.

Animais mantidos em confinamento em baias pouco higienizadas com piso não ripado constantemente necessitam de vermifugações, mesmo recebendo pastagem livre de L3 de nematódeos gastrintestinais, uma vez que nessas condições desenvolve-se um ambiente favorável de umidade nas fezes, pela urina dos animais, propiciando o desenvolvimento das L3, possibilitando a reinfecção.

A utilização da formulação peletizada em matriz de alginato de sódio do fungo *D. flagrans* foi capaz de reduzir a reinfecção dos animais, pela predação de L3 no ambiente, nesse caso, na baia do grupo *D. flagrans*, reduzindo a carga parasitária a ponto de não serem necessárias vermifugações salvatórias, o que refletiu diretamente sobre os melhores índices de VG e ganho de peso.

CONCLUSÃO

Concluiu-se que a formulação peletizada em matriz de alginato de sódio de *D. flagrans* foi eficaz no controle biológico das nematodioses gastrintestinais de caprinos mantidos confinamento no semiárido do Nordeste brasileiro.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer o suporte financeiro recebido da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e da Fundação de Ampara à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG.

REFERÊNCIAS

Araújo JM, Araújo JV, Braga FR, Carvalho RO. *In vitro* predatory activity of nematophagous fungi and after passing through gastrointestinal tract of equine on infective larvae of *Strongyloides westeri*. *Parasitol Res* 2010; 107: 103–108.

Araújo JV, Gomes APS, Guimarães MP. Biological control of bovine gastrointestinal nematode parasites in Southern Brazil by nematode-trapping fungus *Arthrobotrys robusta*. *Rev Bras Parasitol Vet* 1998; 7: 117-122.

Araújo JV, Rodrigues MLA, Silva WW, Vieira LS. Controle biológico de nematóides gastrintestinais de caprinos em clima semi-árido pelo fungo *Monacrosporium thaumasium*. *Pesq Agropec Bras* 2007; 42: 1177-1181.

Ayres M, Ayres JRM, Ayres DL, Santos AS. *Aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas e médicas*. Belém: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília CNPq, 2003. p. 290.

Braga FR, Araújo JV. Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. *App Microbiol* 2014; 98: 71-82.

Braga FR, Araújo JV, Silva AR, Araújo JM, Carvalho RO, Tavela AO, Campos AK, Carvalho GL. Biological control of horse cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in tropical southeastern Brazil. *Vet Parasitol* 2009; 163: 335-340.

Cavalcante ACR, Vieira LS, Chagas ACS, Molento MB. *Doenças parasitárias de caprinos e ovinos: epidemiologia e controle*. Brasília: EMBRAPA; 2009. p. 603.

Coles GC, Bauer C, Borgsteede FH, Geerts S, Klei TR, Taylor MA, Waller PJ. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet Parasitol* 1992; 44: 35-44.

Faedo M, Larsen M, Dimander SO, Yates GW, Hoglund J, Waller PJ. Growth of the fungus *Duddingtonia flagrans* in soil surrounding feces deposited by cattle or sheep fed the fungus to control nematode parasites. *Biol Control* 2002; 23: 64-70.

Ferreira Neto JM, Viana ES, Magalhães LM. *Patologia Clínica Veterinária*. Belo Horizonte: Rabelo; 1981. p. 79.

Gordon HM, Whitlock HV. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *J Coun Sci Ind Res* 1939; 12: 50-52.

Larsen M, Faedo M, Waller PJ, Hennessy DR. The potencial of nematophagous fungi to control the free living stages of nematode parasites of sheep: studies with *Duddingtonia flagrans*. *Vet Parasitol* 1998; 76: 121-128.

Lima WC, Athayde ACR, Medeiros GR, Lima DASD, Borburema JB, Santos EM, Vilela VLR, Azevedo SS. Nematóides resistentes a alguns anti-helmínticos em rebanhos caprinos no Cariri paraibano. *Pesq Vet Bras* 2010; 30: 1002-1009.

National Research Council (NRC). *Nutrient requirements of domestic animals: Nutrient requeriments of sheep*. Washington: National Academy Press; 1985. p. 91.

Paraud C, Pors I, Chartier C. Efficiency of feeding *Duddingtonia flagrans* chlamydozoospores to control nematode parasites of first-season grazing goats in France. *Vet Res Commun* 2007; 31: 305-317.

Roberts FHS, O'Sullivan JP. Methods of egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. *Aust J Agr Res* 1950; 1: 99-102.

Silva AR, Araújo JV, Braga FR, Alves CDF, Frassy LN. Activity of fungal conidia of the *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* on *Haemonchus contortus* infective larvae. *J Helminthol* 2011; 85: 138-141.

Silva BF, Carrijo-Mauad JR, Braga FR, Campos AK, Araújo JV, Amarante AFT. Efficacy of *Duddingtonia flagrans* and *Arthobotrys robusta* in controlling sheep parasitic gastroenteritis. *Parasitol Res* 2010; 106: 1343-1350.

Vieira VD, Feitosa TF, Vilela VLR, Azevedo SS, Almeida Neto JL, Morais DF, Ribeiro ARC, Athayde ACR. Prevalence and risk factors associated with goat gastrointestinal helminthiasis in the Sertão region of Paraíba State, Brazil. *Trop Anim Health Prod* 2014; 46: 355-361.

Vilela VLR, Feitosa TF, Braga FR, Araújo JV, Lucena SC, Dantas ES, Athayde ACR, Silva WW. Efficacy of *Monacrosporium thaumasium* in the control of goat gastrointestinal helminthiasis in a semi-arid region of Brazil. *Parasitol Res* 2013; 112: 871-877.

Vilela VLR, Feitosa TF, Braga FR, Araújo JV, Souto DVO, Santos HES, Silva GLL, Athayde ACR. Biological control of goat gastrointestinal helminthiasis by *Duddingtonia flagrans* in a semi-arid region of the northeastern Brazil. *Vet Parasitol* 2012; 188: 127-133.

Vilela VLR, Solano GB, Araújo MM, Sousa RVR, Silva WAS, Feitosa TF, Athayde ACR. Ensaio preliminar para a validação do Método FAMACHA[®] em condições de semiárido paraibano. *Rev Bras Parasitol Vet* 2008; 17: 164-167.

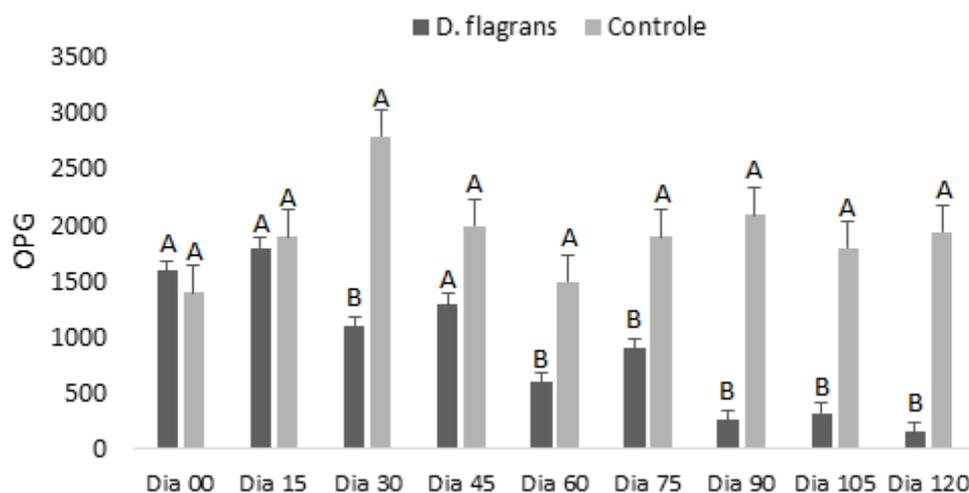


Figura 1 – Médias mensais e desvios padrões da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) de caprinos do grupo *D. flagrans* (0,6 g/ 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana) e Controle, mantidos em confinamento durante 120 dias no semiárido nordestino. Os valores seguidos por letras iguais são estatisticamente similares ($p>0,05$) – Teste de Tukey a 5%.

Tabela 1 – Percentual de larvas infectantes de *Haemonchus* sp. (H), *Trichostrongylus* spp. (T), *Strongyloides* sp. (S) e *Oesophagostomum* sp. (O) em coproculturas de caprinos tratados com *D. flagrans* e do grupo Controle, mantidos em confinamento durante 120 dias no semiárido nordestino.

Grupos		Dias								
		00	15	30	45	60	75	90	105	120
<i>D. flagrans</i>	H	89	89	92	88	90	81	76	88	91
	T	10	6	4	8	6	12	16	7	8
	S	1	5	3	2	4	3	5	4	1
	O	-	-	1	2	-	4	3	1	-
Controle	H	88	93	92	88	90	86	89	83	82
	T	11	4	5	6	7	10	9	11	12
	S	-	3	2	4	3	3	2	4	3
	O	1	-	1	2	-	1	-	2	3

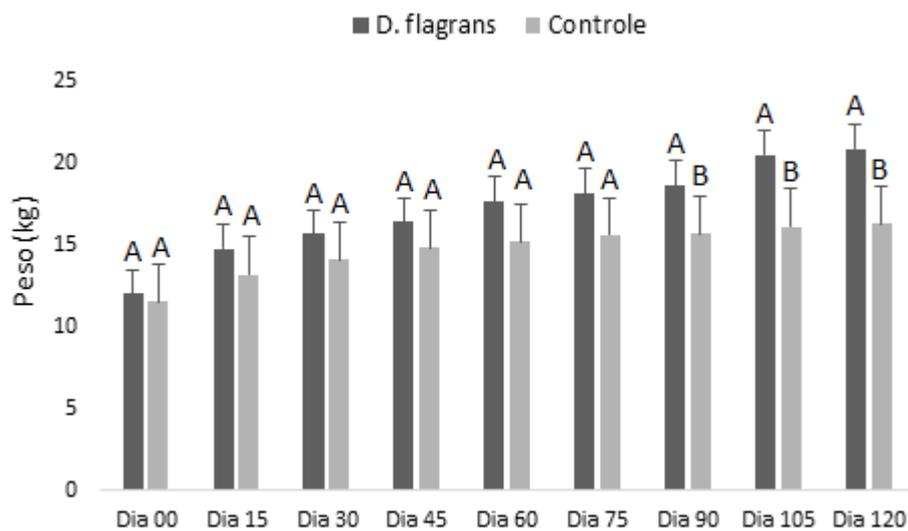


Figura 2 – Médias mensais e desvios padrões do peso (kg) de caprinos do grupo *D. flagrans* (0,6 g/ 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana) e Controle, mantidos em confinamento durante 120 dias no semiárido nordestino. Os valores seguidos por letras iguais são estatisticamente similares ($p > 0,05$) – Teste de Tukey a 5%.

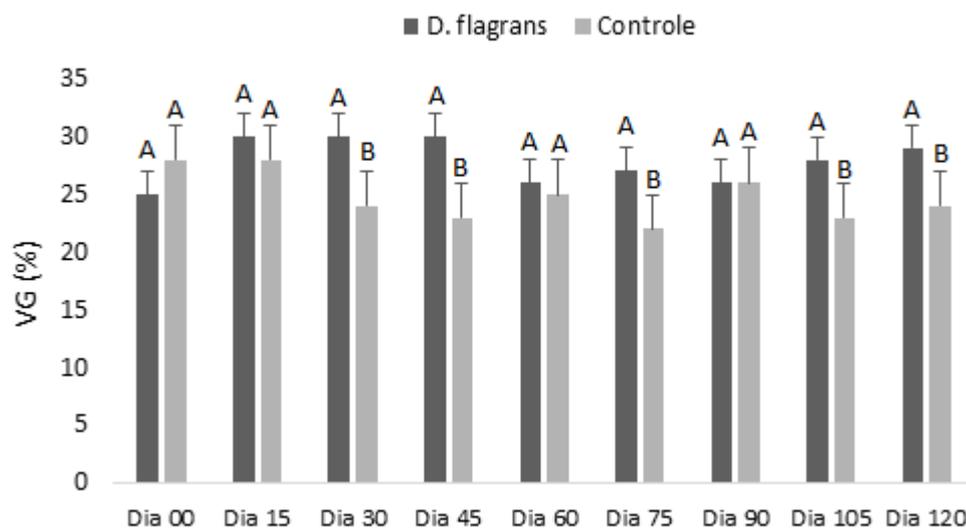


Figura 3 – Médias mensais e desvios padrões do Volume Globular (VG) de caprinos do grupo *D. flagrans* (0,6 g/ 10 kg de peso vivo, duas vezes por semana) e Controle, mantidos em confinamento durante 120 dias no semiárido nordestino. Os valores seguidos por letras iguais são estatisticamente similares ($p>0,05$) – Teste de Tukey a 5%.

CONCLUSÃO

Concluiu-se que tanto a administração de péletes com a associação dos fungos nematófagos *D. flagrans* e *M. thaumasium*, quanto a estratégia de associar *D. flagrans* ao tratamento químico com Cloridrato de Levamisole 5%, e também a utilização de *D. flagrans* em animais confinados, foram eficazes no controle das nematodioses gastrintestinais de pequenos ruminantes no semiárido do Nordeste brasileiro.

ANEXO

Guide for Authors

Veterinary Parasitology

Types of contributions

1. Original research papers (Regular Papers)
2. Review articles
3. Rapid Communications
4. Short Communications
5. Letters to the Editor
6. Book Reviews

Original research papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

Review articles should cover subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest. They may be submitted or invited.

Rapid Communications should contain information of high 'news'/scientific value worthy of very rapid publication. Rapid Communications should be submitted to the journal as such (i.e. clearly labelled as a RC) and should, in general, not exceed 2000 words in length. Upon receipt, they will be subject to rapid assessment and if accepted, published with priority.

Short Communications should consist of original observations or new methods within the scope of the journal. Reports of observations previously published from different geographical areas may be accepted only if considered sufficiently unusual or noteworthy. The Communications should be concise with the minimum of references, and cover no more than four pages of the journal; they need not be formally structured as are full papers, but should give sufficient methods and data necessary for their comprehension.

Letters to the Editor offering comment or useful critique on material published in the journal are welcomed. The decision to publish submitted letters rests purely with the Editors-in-Chief. It is hoped that the publication of such letters will permit an exchange of views which will be of benefit to both the journal and its readers.

Book Reviews will be included in the journal on a range of relevant books which are not more than 2 years old and were written in English.

Submission of manuscripts

Submission to *Veterinary Parasitology* now proceeds online via Elsevier Editorial System - <http://ees.elsevier.com/vetpar>. Authors will be guided step-by-step through uploading files directly from their computers. Authors should select a set of classifications for their papers from a given list, as well as a category designation (Original Research Paper, Short Communication, and so on). Electronic PDF proofs will be automatically generated from uploaded files, and used for subsequent reviewing.

A cover letter is required for each new submission. It should address the novelty and significance of the work and how it fits within the defined scope of *Veterinary Parasitology*. Essential information, issues of concern or potential problems, (such as other publications or submissions containing similar information) should be identified in the cover letter. Authors who submit papers based on local data/surveys will need to indicate why their paper is relevant to a broader readership.

Authors are invited to suggest the names of up to 5 referees (with email addresses) whom they feel are qualified to evaluate their submission. Submission of such names does not, however, imply that they will definitely be used as referees.

Acknowledgements

All contributors who do not meet the criteria for authorship as defined above should be listed in an acknowledgements section. Examples of those who might be acknowledged include a person who provided purely technical help, writing assistance, or a department chair who provided only general support. Authors should disclose whether they had any writing assistance and identify the entity that paid for this assistance.

Conflict of interest

At the end of the text, under a subheading "Conflict of interest statement" all authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organisations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding.

Preparation of manuscripts

1. Manuscripts should be written in English. Authors whose native language is not English are strongly advised to have their manuscripts checked by an English-speaking colleague prior to submission.

Language Editing: Elsevier's Authors Home provides details of some companies who can provide English language and copyediting services to authors who need assistance *before* they submit their article or *before* it is accepted for publication. Authors should contact these services directly. Authors should also be aware that *The Lucidus Consultancy* edit@lucidusconsultancy.com offers a bespoke service to putative contributors to Veterinary Parasitology who need to arrange language improvement for their manuscripts. For more information about language editing services, please email authorsupport@elsevier.com.

2. Manuscripts should have **numbered lines**, with wide margins and **double spacing** throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. **Every page of the manuscript, including the title page, references, tables, etc., should be numbered.** However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary one may refer to sections. Avoid excessive usage of italics to emphasize part of the text.

3. Manuscripts in general should be organized in the following order:

Title (should be clear, descriptive and not too long)

Name(s) of author(s)

Complete postal address(es) of affiliations

Full telephone, Fax No. and e-mail address of the corresponding author

Present address(es) of author(s) if applicable

Complete correspondence address including e-mail address to which the proofs should be sent

Abstract

Keywords (indexing terms), normally 3-6 items. Please refer to last index (Vol. 100/3-4).

Introduction

Material studied, area descriptions, methods, techniques

Results

Discussion

Conclusion

Acknowledgments and any additional information concerning research grants, etc.

References

Tables

Figure captions

Tables (separate file(s))

Figures (separate file(s)).

4. Titles and subtitles should not be run within the text. They should be typed on a separate line, without indentation. Use lower-case letter type.

5. SI units should be used.

6. Elsevier reserves the privilege of returning to the author for revision accepted manuscripts and illustrations which are not in the proper form given in this guide.

Abstracts

The abstract should be clear, descriptive and not longer than 400 words.

Tables

1. Authors should take notice of the limitations set by the size and lay-out of the journal. Large tables should be avoided. Reversing columns and rows will often reduce the dimensions of a table.

2. If many data are to be presented, an attempt should be made to divide them over two or more tables.

3. Tables should be numbered according to their sequence in the text. The text should include references to all tables.

4. Each table should occupy a separate page of the manuscript. Tables should never be included in the text.

Illustrations

1. All illustrations (line drawings and photographs) should be submitted as separate files, preferably in TIFF or EPS format.

2. Illustrations should be numbered according to their sequence in the text. References should be made in the text to each illustration.

3. Illustrations should be designed with the format of the page of the journal in mind. Illustrations should be of such a size as to allow a reduction of 50%.

4. Lettering should be big enough to allow a reduction of 50% without becoming illegible. Any lettering should be in English. Use the same kind of lettering throughout and follow the style of the journal.

5. If a scale should be given, use bar scales on all illustrations instead of numerical scales that must be changed with reduction.

References

1. All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript. The manuscript should be carefully checked to ensure that the spelling of author's names and dates are exactly the same in the text as in the reference list.

2. In the text refer to the author's name (without initial) and year of publication, followed – if necessary – by a short reference to appropriate pages. Examples: "Since Peterson (1988) has shown that..." "This is in agreement with results obtained later (Kramer, 1989, pp. 12–16)".

3. If reference is made in the text to a publication written by more than two authors the name of the first author should be used followed by "et al.". This indication, however, should never be used in the list of references. In this list names of first author and co-authors should be mentioned.

4. References cited together in the text should be arranged chronologically. The list of references should be arranged alphabetically on author's names, and chronologically per author. If an author's name in the list is also mentioned with co-authors the following order should be used: publications of the single author, arranged according to publication dates – publications of the same author with one co-author – publications of the author with more than one co-author. Publications by the same author(s) in the same year should be listed as 1974a, 1974b, etc.

5. Use the following system for arranging your references:

a. *For periodicals*

Lanusse, C.E., Prichard, R.K., 1993. Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminant anthelmintics. *Vet. Parasitol.* 49, 123–158.

b. *For edited symposia, special issues, etc., published in a periodical*

Weatherley, A.J., Hong, C., Harris, T.J., Smith, D.G., Hammet, N.C., 1993. Persistent efficacy of doramectin against experimental nematode infections in calves. In: Vercruysse, J. (Ed.), *Doramectin – a novel avermectin*. *Vet. Parasitol.* 49, 45–50.

c. *For books*

Blaha, T. (Ed.), 1989. *Applied Veterinary Epidemiology*. Elsevier, Amsterdam, 344 pp.

d. *For multi-author books*

Wilson, M.B., Nakane, P.K., 1978. Recent developments in the periodate method of conjugating horseradish peroxidase (HRPO) to antibodies. In: Knapp, W., Holubar, K., Wick, G. (Eds.), *Immunofluorescence and Related Staining Techniques*. North Holland, Amsterdam, pp. 215–224.

Formulae

1. Give the meaning of all symbols immediately after the equation in which they are first used.

2. For simple fractions use the solidus (/) instead of a horizontal line.

Footnotes

1. Footnotes should only be used if absolutely essential. In most cases it should be possible to incorporate the information into the normal text.

2. If used, they should be numbered in the text, indicated by superscript numbers, and kept as short as possible.

Nomenclature

1. Authors and editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the *International Code of Botanical Nomenclature*, the *International Code of Nomenclature of Bacteria*, and the *International Code of Zoological Nomenclature*.

2. All biotica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals.

Copyright

If excerpts from other copyrighted works are included, the Author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by Authors in these cases: contact Elsevier's Rights Department, Oxford, UK: phone (+1) 215 239 3804 or +44(0)1865 843830, fax +44(0)1865 853333, e-mail healthpermissions@elsevier.com. Requests may also be completed online via the Elsevier homepage <http://www.elsevier.com/permissions>.

Material in unpublished letters and manuscripts is also protected and must not be published unless permission has been obtained.

Authors Rights

As an author you (or your employer or institution) may do the following:

- make copies (print or electronic) of the article for your own personal use, including for your own classroom teaching use
- make copies and distribute such copies (including through e-mail) of the article to research colleagues, for the personal use by such colleagues (but not commercially or systematically, e.g., via an e-mail list or list server)

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors who publish in Elsevier journals to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>).

Proofs

One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post). Elsevier now sends PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 available free from <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>.

Authors can also keep a track of the progress of their accepted article, and set up e-mail alerts informing them of changes to their manuscript's status, by using the "Track your accepted article" option on the journal's

homepage <http://www.elsevier.com/locate/vetpar> For privacy, information on each article is password-protected. The author should key in the "Our Reference" code (which is in the letter of acknowledgement sent by the Publisher on receipt of the accepted article) and the name of the corresponding author.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, be provided with a PDF file of the article via e-mail. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use.

***Veterinary Parasitology* has no page charges**

Parasitology Research

Founded as Zeitschrift für Parasitenkunde

Editors: H. **Mehlhorn**; B. **Chobotar**

ISSN: 0932-0113 (print version)

ISSN: 1432-1955 (electronic version)

Instructions for Authors

Close

Manuscript submission

Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

Online Submission

Authors should submit their manuscripts online. Electronic submission substantially reduces the editorial processing and reviewing times and shortens overall publication times. Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

Costs of Colour Illustrations

- Online publication of color illustrations is always free of charge.
- For color in the print version, authors will be expected to make a contribution towards the extra costs of EUR 950 / US\$ 1150 (+ local tax) per article, irrespective of the number of figures in it.

Title page

Title Page

The title page should include:

- The name(s) of the author(s)
- A concise and informative title
- The affiliation(s) and address(es) of the author(s)
- The e-mail address, telephone and fax numbers of the corresponding author

Abstract

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

Text

Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

- Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.
- Use italics for emphasis.
- Use the automatic page numbering function to number the pages.
- Do not use field functions.
- Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- Use the equation editor or MathType for equations.
- Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

- [LaTeX macro package \(zip, 182 kB\)](#)

Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section before the reference list. The names of funding organizations should be written in full.

Scientific style

Please always use internationally accepted signs and symbols for units (SI units).

Nomenclature

The International Code of Zoological Nomenclature (ICZN) must be observed. Genus and species names should be in italics. Authors of scientific names of the genus and species group should not be italicized. At first mention, a specific name should be cited with nomenclatural author and year, e.g. *Catenula lemmnae* (in italics) Dugès, 1832. When three or more joint authors have been responsible for a name, then the citation of the name of the authors may be expressed by use of the term "et al." following the name of the first author, provided that all authors of the name are cited in full elsewhere in the same work, either in the text or in a bibliographic reference. Authors unfamiliar with the taxonomy of the group to which a species belongs should consult an expert to ensure that it is properly identified and that the correct name is used.

References

Citation

Cite references in the text by name and year in parentheses. Some examples:

- Negotiation research spans many disciplines (Thompson 1990).
- This result was later contradicted by Becker and Seligman (1996).
- This effect has been widely studied (Abbott 1991; Barakat et al. 1995; Kelso and Smith 1998; Medvec et al. 1999).

Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.

Reference list entries should be alphabetized by the last names of the first author of each work.

- **Journal article**
Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738. doi: 10.1007/s00421-008-0955-8
Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of “et al” in long author lists will also be accepted:
Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 965:325–329
- **Article by DOI**
Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med*. doi:10.1007/s001090000086
- **Book**
South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics*. Blackwell, London
- **Book chapter**
Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) *The rise of modern genomics*, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257
- **Online document**
Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007
- **Dissertation**
Trent JW (1975) *Experimental acute renal failure*. Dissertation, University of California
Always use the standard abbreviation of a journal’s name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see
- **ISSN.org LTWA**
For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of in-text citations and reference list.

- EndNote style (zip, 3 kB)

Tables

- All tables are to be numbered using Arabic numerals.
- Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.
- For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.
- Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.
- Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

Artwork and Illustrations Guidelines

Electronic Supplementary Material

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Submission

- Supply all supplementary material in standard file formats.
- Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.
- To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

Audio, Video, and Animations

- Always use MPEG-1 (.mpg) format.

Text and Presentations

- Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.
- A collection of figures may also be combined in a PDF file.

Spreadsheets

- Spreadsheets should be converted to PDF if no interaction with the data is intended.
- If the readers should be encouraged to make their own calculations, spreadsheets should be submitted as .xls files (MS Excel).

Specialized Formats

- Specialized format such as .pdb (chemical), .vrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

Collecting Multiple Files

- It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

Numbering

- If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.
- Refer to the supplementary files as "Online Resource", e.g., "... as shown in the animation (Online Resource 3)", "... additional data are given in Online Resource 4".
- Name the files consecutively, e.g. "ESM_3.mpg", "ESM_4.pdf".

Captions

- For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

Processing of supplementary files

- Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

- The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material
- Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

After acceptance

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer's web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice, offprints, or printing of figures in color.

Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

Open Choice

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform SpringerLink.

- Springer Open Choice

Copyright transfer

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws.

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.

Offprints

Offprints can be ordered by the corresponding author.

Color illustrations

Online publication of color illustrations is free of charge. For color in the print version, authors will be expected to make a contribution towards the extra costs.

Proof reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness

and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

Online First

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.

Integrity of research and reporting

Ethical standards

Manuscripts submitted for publication must contain a declaration that the experiments comply with the current laws of the country in which they were performed. Please include this note in a separate section before the reference list.

Conflict of interest

When an author or the institution of the author has a relationship, financial or otherwise, with individuals or organizations that could influence the author's work inappropriately, a conflict of interest may exist. Examples of potential conflicts of interest may include but are not limited to academic, personal, or political relationships; employment; consultancies or honoraria; and financial connections such as stock ownership and funding. Although an author may not feel that there are conflicts, disclosure of relationships and interests that could be viewed by others as.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

- [Scope and policy](#)
- [Form and preparation of manuscripts](#)
- [Submission of manuscripts](#)

Scope and policy

The Brazilian Journal of Veterinary Parasitology accepts articles that focus primarily on animal parasites. Authors are required to send a signed cover letter that states that the entire manuscript is an unpublished original article. If the abstract of the manuscript has been presented in scientific meetings but has not been submitted for publication in other journals, this should be stated in the signed cover letter as well.

Author consent forms for manuscripts that have more than one author are required, to ensure that all authors agree with the publication. All authors should have made substantial contributions to the design of the study, acquisition of the data, analysis and interpretation of the data, and drafting of the article, and should have given final approval of the version to be submitted. Collaborators who did not actively participate in the process described above may be listed in the Acknowledgments section. Researchers who provided technical support or suggestions or a department head who made the research work possible should be acknowledged. Manuscripts with a number of authors that do not seem justifiable may have their experimental research protocol reviewed by our assistant scientific editors.

The manuscript review process will follow the journal's Editorial Guidelines and consider the editors' and/or the Ad hoc reviewer's opinions. The Editor-in-chief and assistant scientific editors may make suggestions or request changes to the manuscript but the authors are ultimately responsible for the entire text content. Articles that are submitted for publication will be reviewed by at least three anonymous reviewers, selected by the editor-in-chief and assistant scientific editors.

Brazilian Journal of Veterinary Parasitology accepts manuscripts as Full Articles, Research Notes, and Review Articles. Review Articles are submitted by experts under the editors' request. Unsolicited review articles will not be accepted but the editors or assistant scientific editors may accept suggestions for a review topic.

Processing fee:

The article processing fee is 40 (forty) dollars, paid through bank deposit: Banco do Brasil / Branch No. 0269-0 / Account No.: 28848-9 (RBPV).

Peer review process

The manuscript review process will follow the journal's Editorial Guidelines and consider the editors' and/or the ad hoc reviewer's opinions. Articles that are submitted for publication will be reviewed by at least three anonymous reviewers, selected by the editor-in-chief and assistant scientific editors.

The reviewer should fill out the RBPV's evaluation form, which is available in the online submission system (<http://submission.scielo.br/index.php/rbpv>). The author will receive evaluations from at least two of the reviewers selected and will receive the evaluation forms and possible corrections made directly in the text. The reviewer may then correct the article again, if necessary.

After approval from the reviewers, articles submitted must undergo English-language revision, done by reviewers accredited by the RBPV (http://cbpv.com.br/rbpv/revisoes_traducoes.php). The authors will be expected to bear the costs of the revision. We would remind authors that the RBPV does not pass on to them the per-page cost of publishing their studies.

After the layout and editing processes, the assistant scientific editors and editor-in-chief of the journal will make any final corrections.

Transfer of author's rights:

At the time of submission, the article must be accompanied by a formal letter signed by all the authors, in which they all agree with the submission and, if approved, publication of the article only in the RBPV.

Experiments using animals should be conducted following the Brazilian College of Animal Experimentation guidelines (<http://www.cobea.org.br>). Articles should include the protocol number approved by the Animal Ethics Committee.

Form and preparation of manuscripts

The following guidelines should be followed during manuscript preparation:

All articles should be submitted in United States English. Always use concise and impersonal language. Footnotes should be placed at the bottom of the corresponding page and numbered with Arabic numerals in an ascending order. All manuscripts should be typed in Times New Roman font, size 12, page setup with 2.5-cm top and bottom margins, 3-cm left and right margins, and 1.5-cm line spacing. All pages should be numbered. Full Articles should have a maximum of 15 pages and Research Notes should have a maximum of 5 pages in the final layout. All tables and illustrations should be presented separately from the main text body and attached to the final manuscript without captions. The related captions should be included in the text after the References. When submitting your article, please send an e-mail with the deposit slip attached: <http://www.scielo.br/rbpv>. It is the authors' responsibility to make sure that accepted papers are reviewed by one of the English language reviewers certified by RBPV. Full Articles should be structured as follows:

Original Title,

Translated Title,

Author(s),

Affiliations,

Abstract (Keywords),

Introduction,

Materials and Methods,

Results,

Discussion,

Conclusions (or a combination of the last three),

Acknowledgements (optional),
and **References**.

Research Notes should follow the same structure as described above but they can be presented as a continuous stream of body text with no need to include headings. Novelty and originality that bring to light new significant findings are expected.

Description of each item of the manuscript

Original title

The full title and subtitle, if any, should not exceed 15 words. The title should not include any abbreviations, and species names and Latin words should be italicized. Titles that start with "Preliminary studies," "Notes about," and the like should be avoided. Do not use the author's name and date of citation in scientific names.

Author(s)/Affiliations

List all authors' full name (with no abbreviations). Affiliations should include the original institution names, not their English translations, in the following order: laboratory, department, college or school, institute, university, city, state and country. **References**

References will only be accepted if they are reader-friendly. References of papers published in conference proceedings will not be accepted and theses only if they are available for consultation at official websites such as the CAPES thesis bank: <http://www.capes.gov.br/servicos/banco-de-teses>. All cited references in the text should be carefully checked for the authors' names and dates exactly as they appear in the reference section.

Abstract

Abstracts are limited to 200 words and should be structured in a single paragraph with no indentation. The abstract should not include references. *Acronyms or abbreviations should be written out in full and the abbreviation given in brackets the first time they are used in abstract*, for example, indirect fluorescence assay (IFA). The abstract should be informative and present the objectives, a brief description of methods, the main results, and a conclusion. All manuscripts written in English should also have the abstract and keywords written in Portuguese.

Keywords

Keywords should accurately reflect the text content. Limited to a maximum of 6 (six).

Introduction

Should have a clear and concise justification of the study including its relevance and objectives and should keep the number of citations to a minimum.

Materials and Methods

A concise description including core information for the understanding and reproduction of the study. Well-established methods and techniques should be cited and referenced but not described. Statistical analyses should be described at the end of the section.

Results

The content of this section should be informative rather than interpretative. The results should be accompanied by self-explanatory tables, figures, or other illustrations if necessary.

Discussion

Its content should be interpretative and based on the study results only. The discussion can be a single section or it can be presented together with the results and conclusions. It should emphasize the relevance of new findings and new hypotheses clearly supported by the results.

Tables

Tables must be in editable format (e.g., Excel list format) and supplied in separate files. The word "Table" should precede the table title. Tables should be numbered consecutively with Arabic numerals and have a concise and descriptive title placed above them. They should be typed using double spacing and should have horizontal rules separating the header and the last row. The number of tables in the manuscript should be limited to a minimum.

Figures

Figures consist of drawings, photographs, boards, charts, flow charts, and diagrams and should be supplied in TIF, GIF, or JPG format with a minimum resolution of 300 dpi. They should be numbered consecutively with Arabic numerals and the word "Figure" should precede the legend placed below them. List all numbered legends with their symbols and standard icons in a separate file with double spacing. Figures should be limited to a minimum. Digital pictures should be supplied in separate files. A graphic bar scale instead of a numerical one should be used in all illustrations, as it can be adjusted with size reduction.

Conclusions

All conclusions may be presented in the Discussion section or in the Results and the Discussion sections when presented together, at the authors' choice. If this is the case, there is no need for a separate Conclusions section.

Acknowledgments

Should be limited to a minimum.

References

References should be listed alphabetically and then sorted chronologically, if necessary. More than one reference by the same author(s) in the same year must be identified by the letters "a," "b," "c," etc., placed after the year of publication. Titles of journals should be abbreviated according to Index Medicus, <http://www2.bg.am.poznan.pl/czasopisma/medicus.php?lang=eng>.

Reference to book

Levine JD. *Veterinary protozoology*. Ames: ISU Press; 1985.

Reference to book chapter

Menzies PI. Abortion in sheep: diagnosis and control. In: Youngquist RS, Threlfall WR. *Current therapy in large animal theriogenology*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 2007. p. 667-680.

Reference to full article

Paim F, Souza AP, Bellato V, Sartor AA. Selective control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in fipronil-treated cattle raised on natural pastures in Lages, State of Santa Catarina, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2011; 20(1): 13-16.

Reference to thesis or dissertation

Araujo MM. *Aspectos ecológicos dos helmintos gastrintestinais de caprinos do município de patos, Paraíba - Brasil* [Dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2002.

Reference to internet URLs

Centers for Disease Control and Prevention. *Epi Info* [online]. 2002 [cited 2003 Jan 10]. Available from: <http://www.cdc.gov/epiinfo/ei2002.htm>.

Note: In the Reference section, all authors should be listed up to a limit of six authors. If more than six authors, the first six authors should be listed followed by *et al.*

Citations

All citations must follow the author-date system:

One author: author's name and year of publication

Levine (1985) or (LEVINE, 1985)

Two authors: authors' names and year of publication

Paim and Souza (2011) or (PAIM; SOUZA, 2011)

Three or more authors: first author's name followed by *et al.* and year of publication

Araújo *et al.* (2002) or (ARAÚJO *et al.*, 2002)

Layout proof

The final layout of the article in PDF format will be provided by email to the corresponding author.

Changes to the article accepted for publication will only be considered at this stage if permission from the Editor is granted. The proof must be carefully checked for accuracy as inclusion of subsequent corrections (e.g., a new author, change of paragraphs or tables) cannot be guaranteed.

Submission of manuscripts

All manuscripts should be sent to: rbpv-secretaria@rbpv.org.br.