

UTILIZAÇÃO DE PROBIÓTICOS NO CONTROLE DA INFECÇÃO DE Haemonchus contortus em OVINOS

GALLINA, Tiago; WENDT, Emília W.; DIAS DE CASTRO, Luciana L.; PESTANO, Henrique; PAPPEN, Felipe G.; CUNHA FILHO, Nilton A.; ROOS, Talita B.; LEITE, Fábio P.L.; BERNE, Maria E.A.

Dept^o de Microbiologia e Parasitologia- IB/UFPel Campus Universitário – Caixa Postal 354- CEP 96010-900 <u>tiagogallina@gmail.com</u>

1. INTRODUÇÃO

Os nematódeos gastrintestinais constituem-se em um dos principais problemas sanitários à ovinocultura mundial, acarretando perdas econômicas significativas. Na fase crônica da infecção, as perdas são devido à redução na produção de carne e lã e na fase aguda por morte dos animais. Também são altos os custos para controlar esses parasitos, que muitas vezes desenvolvem resistência aos anti-helmínticos utilizados. Dentre os nematódeos que acometem ovinos destaca-se *Haemonchus contortus*, devido à grande ação patogênica (STRAIN & STEAR, 2001), além de ser o mais prevalente e o que apresenta maiores índices de resistência aos anti-helmínticos ECHEVARRIA (1996). Atualmente o controle dos helmintos de ruminantes baseia-se principalmente no uso de anti-helmínticos e em alguns casos associado ao manejo de pastagens (PADILHA & MENDONZA, 1996).

É crescente a procura e valorização mundial de produtos sem resíduos químicos na alimentação humana, sendo necessária a busca de alternativas sustentáveis para o controle das parasitoses gastrintestinais de ovinos sem o uso de fármacos. Dentre essas alternativas, encontram-se os probióticos, que são produtos que contém microrganismos viáveis, que favorecem a microbiota das mucosas e promovem efeito protetor contra as injúrias provocadas pelas ações mecânica, tóxica e espoliativa de alguns organismos patogênicos (HOLZAPFEL et al., 1998). Dentre os microrganismos estudados com efeito probiótico, têm-se Saccharomyces cerevisiae, S. boulardii e Bacillus cereus var. toyoi, que por sua resistência às variações de temperatura, podem ser fornecidos junto ao alimento e assim serem avaliados quanto aos benefícios de sua utilização em animais. A ação desses probióticos sobre a resposta imune de ovinos frente aos nematódeos gastrintestinais, bem como sua interferência na ação patogênica destes sobre a mucosa gástrica não é conhecida. Em cordeiros há relato de efeitos benéficos dos probióticos, constatados pela menor taxa de mortalidade, aumento de peso, da ingestão de leite e digestibilidade dos alimentos (ROOS, 2006). Em vista do exposto, o objetivo deste estudo foi verificar o efeito de probióticos elaborados com S. cerevisiae,

S. boulardii e B. cereus var. toyoi na relação hospedeiro-parasito avaliando-se a carga parasitária e sua relação com a fecundidade e tamanho dos parasitos.

2. MATERIAS E MÉTODOS

Trinta e dois ovinos machos da raça Texel, livres de infecção por nematódeos gastrintestinais, com idade variando entre cinco e seis meses, foram divididos em quatro grupos de oito animais. O grupo 1 (G1) recebeu em sua dieta *B. cereus* var. *toyoi*, o grupo 2 (G2) *S. boulardii*, o grupo 3 (G3) *S. cerevisiae* (todos na concentração de 1x10⁶ UFC gr⁻¹) e o grupo 4 (G4) não recebeu probióticos. A concentração de microrganismos baseou-se no estudo do fornecimento de probióticos à ovinos para avaliação da resposta imune a vacinas (ROOS, 2006).

Após 15 dias de adaptação da dieta todos os ovinos foram infectados com 5000 larvas de terceiro estádio (L₃) de *H. contortus*, sendo semanalmente avaliados através de exames coproparasitológicos (Gordon & Whitlock e Roberts e O'Sullivan).

No 49º dia após a infecção pelas L₃ todos os animais foram levados para o abatedouro do Conjunto Agrotécnico Visconde da Graça - UFPel, onde foram abatidos, conforme normativas do Serviço de Inspeção Federal. O trato digestório de cada animal foi retirado e para colheita dos parasitos do abomaso, este recebeu ligadura dupla em ambas as extremidades. A víscera foi seccionada com tesoura, pela curvatura maior e seu conteúdo colocado em balde graduado, seguindo-se a lavagem do órgão. O produto dessa lavagem foi depositado em cálice de sedimentação, realizando-se sucessivas lavagens, até obter um líquido claro. Ao sedimento foi adicionado formol comercial a 5% e posteriormente realizou-se a quantificação dos parasitos, separação por sexo, medição e contagem de ovos. Para verificar a fertilidade, vinte fêmeas íntegras coletadas aleatoriamente de cada abomaso foram mantidas individualmente em tubos de ensaio com álcool 70% glicerinado e microfotografadas para obter as medidas de comprimento total com auxílio do programa Carl Zeis Axiovision 3.1. Para a liberação e contagem dos ovos foi utilizado 125µl de uma solução a Hipoclorito de sódio P.A. a 50% diluído em água destilada para cada fêmea, que foi levada ao agitador para romper a cutícula e o útero e assim liberar os ovos. A esse volume inicial foram adicionados 125µL de lugol e mais 1250µL de água destilada. Após homogeneização dos 1500µL, foram montadas duas lâminas com 250µL cada, para contagem dos ovos no microscópio ótico em objetiva de 10x. O total de ovos contados no volume de 500µL foi multiplicado por três para quantificação total de ovos por fêmeas.

Para análise dos resultados de tamanho e fecundidade das fêmeas, número total de parasitos por animal, número de ovos por grama de fezes e larvas obtidos nas culturas foi utilizado o programa Statistix 9.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudos prévios com probióticos demonstraram efeitos benéficos no ganho de peso e na resposta imune de ovinos, entretanto estudos específicos da ação de probióticos sobre ovinos infectados por nematódeos não são relatados. Neste primeiro estudo dentre os probióticos avaliados, *S. cerevisiae* mostrou potencial para utilização como auxiliar no controle de *H. contortus*.

Na Figura 1 estão apresentados os resultados do número médio de parasitos obtidos em cada um dos grupos experimentais após infecção com 5000 larvas (L_3) de H. contortus por animal. Houve diferença estatisticamente significativa (p < 0.05) no número médio de parasitos entre o grupo controle e o que recebeu S. cerevisiae, que apresentou menor número médio de parasitos. Quanto ao número médio de larvas (Figura 2), apesar do grupo que recebeu S. cerevisiae apresentar um menor número de larvas nas culturas analisadas, este não mostrou diferença significativa entre os tratamentos e o controle.

Em relação ao tamanho e fecundidade das fêmeas e o número de ovos por grama de fezes também não foi verificada diferença significativa entre os grupos.

O uso de probióticos em animais vem sendo avaliado com resultados positivos na intensificação da resposta imune de ovinos (ROOS, 2006), porém estudos avaliando a resposta de ovinos à infecção por nematódeos gastrintestinais não são relatados. Sabe-se, por trabalhos desenvolvidos anteriormente, que *S. cerevisiae* altera a microbiota das mucosas causando efeitos benéficos, levando a um menor estabelecimento de parasitos, como foi observado neste estudo, portanto com boas perspectivas de sua utilização no controle das nematodioses gastrintestinais de ovinos.

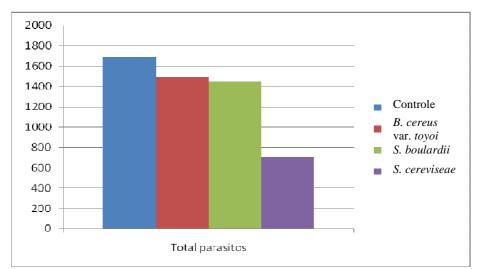


Figura 1: Gráfico do número médio de parasitos obtidos de ovinos tratados com *Saccharomyces cerevisiae*, *S. boulardii* e *Bacillus cereus* var. *toyoi* e infectados experimentalmente com $5000L_3$ de *Haemonchus contortus*.

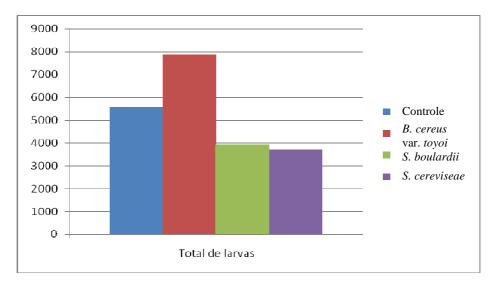


Figura 2: Gráfico do número médio de larvas (L₃) obtidas de cultura de quatro gramas de fezes de ovinos tratados com *Saccharomyces cerevisiae*, *S. boulardii* e *Bacillus cereus* var. *toyoi* e infectados experimentalmente com *Haemonchus contortus*.

4. CONCLUSÕES

Os resultados sugerem que dentre os probióticos estudados, Saccharomyces cerevisiae foi o que mostrou melhor resposta na inibição do estabelecimento de larvas de Haemonchus contortus em ovinos, necessitando maiores estudos para investigar os mecanismos de rejeição a esses nematódeos, bem como avaliação nas infecções naturais a campo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ECHEVARRIA, F.A.M. Epidemiologia de nematódeos e o controle estratégico em ovinos lanados. In: PADILHA, T. **Controle dos nematódeos gastrintestinais em ruminantes.** Coronel Pacheco: EMBRAPA - CNPGL, 1996. p.157-168.

HOLZAPFEL, W. H.; HABERER, P.; SNEL, J.; SCHILLIMGER, U.; HUIS IN'T VELD, J. H. J. Overview of gut flora and probiotics. **Journal Food Microbiology**, v. 41, p. 85-101, 1998.

PADILHA, T.; MENDONZA, P.G. Controle microbiano de formas de vida livre dos nematódeos trichostrongilídeos: uma alternativa para a higienização das pastagens. In: **Controle dos nematódeos gastrintestinais em ruminantes.** Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1996. p. 215-235.

ROOS, T.B. Efeito de Saccharomyces boulardii e Bacillus cereus var. toyoi na resposta imune humoral de cordeiros vacinados contra Escherichia coli e Herpes Vírus Bovino-5. 2006. 66f. Dissertação (Mestrado em Veterinária) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

STRAIN, S.A.J.; STEAR, M.J. The influence of protein supplementation on the immune response to *Haemonchus contortus*. **Parasite Immunology**, Oxford, v.23, p.527-531, 2001.