

PADRONIZAÇÃO DO TESTE DE DESENVOLVIMENTO LARVAR (TDL) PARA O DIAGNÓSTICO DA RESISTÊNCIA DE NEMATÓIDES GASTROINTESTINAIS DE PEQUENOS RUMINANTES A ANTI-HELMÍNTICOS

FANTATTO, R.R. (AUTOR PRINCIPAL); STEFANUTTO, N.A.V. (CO-AUTOR); DOMINGUES, L.F. (CO-ORIENTADOR); CHAGAS, A. C. S. (ORIENTADOR)

CENTRO UNIVERSITÁRIO CENTRAL PAULISTA - (UNICEP)

O teste de desenvolvimento larvar (TDL) é um teste sensível e prático que possibilita a avaliação da eficácia de diferentes grupos químicos de anti-helmínticos ao mesmo tempo. A resistência dos nematoides aos anti-helmínticos disponíveis no mercado é o principal problema enfrentado por criadores e pesquisadores buscam a implementação de programas de controle para monitorar e prevenir o agravamento da situação de resistência. Dessa forma, técnicas *in vitro* se apresentam como a melhor alternativa comparadas aos testes *in vivo*, por serem economicamente mais acessíveis, mais rápidas, precisas, reprodutíveis, anulam a interferência individual do hospedeiro, bem como a variação da farmacodinâmica do produto antiparasitário no hospedeiro. O objetivo desse trabalho foi padronizar o TDL para diagnóstico de resistência dos nematoides gastrointestinais de pequenos ruminantes aos anti-helmínticos dos grupos dos imidazotiazóis, benzimidazóis e avermectinas, construindo assim curvas dose-resposta para essas três drogas. Foram selecionados dois ovinos da raça Santa Inês com infecção mista de nematoides gastrointestinais mantidos em baía como doadores. As fezes foram coletadas diretamente da ampola retal dos animais e em seguida foi realizada a técnica de recuperação de ovos por meio do uso sequencial de peneiras. No ensaio *in vitro* os ovos recuperados foram quantificados e distribuídos em placas de 24 poços. Cada poço recebeu em média 100 ovos, juntamente com meio nutritivo e antifúngico anfotericina B. As drogas utilizadas para cada grupo químico foram: imidazotiazóis: cloridrato de tetramisol (Sigma L9756, frasco 10 g), benzimidazóis: tiabendazol 99 (Sigma T8904, frasco 100 g) e avermectinas: ivermectina (Sigma I8898, frasco 1g). Após 24h de incubação a 27°C, quando as L1 eclodiram, as drogas foram inseridas nas seguintes concentrações: cloridrato de tetramisol: 3,12, 1,56, 0,78, 0,39, 0,195, 0,097, 0,049, 0,024, 0,012 e 0,006 µg/mL, tiabendazol: 60, 30, 25, 12,5, 6,25, 3,13, 1,56, 0,78, 0,39 e 0,195 µg/mL e ivermectina: 15, 10, 1, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 µg/mL. Todos os grupos possuíram um grupo controle negativo composto por água destilada. As placas foram incubadas por mais 5 dias e então realizada a contagem de L1-L2 e L3 vivas para cálculo da Porcentagem de Inibição do Desenvolvimento Larvar. Foram feitas seis repetições para cada concentração em pelo menos 3 testes diferentes. A composição da carga parasitária dos doadores foi monitorada por coprocultura. Os resultados foram analisados via programa Probit do SAS para estimativa das concentrações letais para inibir o desenvolvimento de 50 e 90 das larvas (CL50 e CL90). As CL50 e CL90 foram respectivamente, 0,064 e 0,53 µg/mL para o cloridrato de tetramisol, 1,85 e 13,47 µg/mL para o Tiabendazol e 0,028 e 0,825 µg/mL para a ivermectina. As curvas dose-resposta foram dose-dependente e geraram gráficos da tendência de eficácia para cada droga, em relação à inibição do desenvolvimento larvar do estágio de L1 até o estágio de L3. A coprocultura demonstrou que o nematoide *Haemonchus* é o gênero de maior prevalência com 54, seguido por *Oesophagostomum* (27), *Trichostrongylus* (19) e *Cooperia* (1). Os resultados obtidos mostram que o teste foi padronizado para a detecção de resistência. Com a determinação das CL50 e CL90 para diferentes isolados de referência, espera-se que esses resultados sejam utilizados futuramente de forma comparativa com amostras de propriedades, para embasar tomadas de decisões