

## CONTROLE DE *Haemonchus contortus* EM OVINOS UTILIZANDO *Saccharomyces cerevisiae*

NATÁLIA BERNE PINTO<sup>1</sup>; ALESSANDRO PELEGRINE MINHO<sup>2</sup>; EMANUELLE  
BALDO GASPAR<sup>2</sup>; ROBERT DOMINGUES<sup>2</sup>; MICAEL QUINTANA DE MOURA<sup>1</sup>;  
FÁBIO PEREIRA LEIVAS LEITE<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [nbernevet@gmail.com](mailto:nbernevet@gmail.com)

<sup>2</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – [alessandro.minho@embrapa.br](mailto:alessandro.minho@embrapa.br)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [fabio@leivasleite.com.br](mailto:fabio@leivasleite.com.br)

### 1. INTRODUÇÃO

O Brasil reúne esforços para se restabelecer de uma grave crise econômica que enfrenta, e mesmo mostrando sinais de melhora a preocupação por parte de economistas e da população em geral não diminui. O Produto Interno Bruto (PIB) encerrou o ano de 2016 com recuo de 3,6%, e assim como nos últimos três anos o único setor que não registrou queda foi o da Agropecuária, com crescimento de 1% (BRASIL, 2016).

A ovinocultura acompanha o crescimento do setor, registrando uma elevação de 4,5% em 2015, com um efetivo de 18,41 milhões de ovinos. O Rio Grande do Sul é o estado com o maior número de animais, representando 21,5% do total nacional. Mesmo com este incremento no rebanho, as importações brasileiras de carne ovina têm aumentando, atingindo a marca recorde das 9,93 mil toneladas (BRASIL, 2015).

Apesar da importância dos produtos de origem animal para o Brasil e o grande espaço para expansão de rebanhos ovinos, o número destes animais abatidos tem diminuído e isso se deve principalmente pelas perdas geradas por nematódeos gastrintestinais. Estes atingem em infecções mistas ovinos em todos os continentes, e cujo controle, baseado em químicos comerciais, a muito já não é eficiente (MOLENTO et al., 2013).

O principal nematódeo presente nas infecções em ovinos é *Haemonchus contortus*, por sua característica de hematofagia e alta prolificidade (AMARANTE et al., 2015). Visando o seu controle diversos microrganismos vem sendo testados, como fungos, bactérias e leveduras (MOLENTO et al., 2013).

As leveduras possuem capacidade de induzir a proteção de mucosas através do maior aporte de eosinófilos locais e proteção sistêmica com a produção de interleucinas, levando a uma proteção imunomoduladora da mucosa do trato digestório dos hospedeiros (ROOS et al., 2010), local este onde se ancoram os parasitos. Leveduras são organismos eucariotos que pertencem ao reino fungi, dentre os quais o gênero *Saccharomyces* está presente em nosso dia-dia, como probiótico, na produção de pão e da cerveja, além disso a sua ação no controle de helmintos já foi descrita (BAUTISTA-GARFIAS et al., 2001).

Com isso, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do *Saccharomyces cerevisiae* em ovinos experimentalmente infectados com *Haemonchus contortus*.

### 2. METODOLOGIA

Com o objetivo de produzir em maiores quantidades o probiótico, a cepa da levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi repicada e multiplicada em meio YPD

(yeast extract peptone dextrose) com temperatura de 28 °C e agitação de 250 rotações/min. Após 72 h foi titulada e armazenada em frascos âmbar a 4 °C até a sua utilização. A administração deste probiótico aos animais foi realizada por via oral, na dose de 40 mL de suspensão na titulação de  $1 \times 10^7$  UFCs.

Para o desafio, 18 ovinos machos com oito meses de idade foram mantidos estabulados e divididos em dois grupos. Grupo 1 - controle positivo: animais infectados e tratados com água destilada e Grupo 2 – animais infectados e tratados com de *S. cerevisiae*.

Todos os animais permaneceram 14 dias antes do início do tratamento em adaptação ao ambiente e a alimentação, após este período se iniciou os respectivos tratamentos em doses diárias. A infecção com *H. contortus* foi realizada por via oral com 500 larvas infectantes diariamente, iniciando 14 dias após o primeiro dia de tratamento. Os animais receberam larvas durante 25 dias e após este período permaneceram recebendo os tratamentos por mais 7 dias (G1 água destilada e G2 *S. cerevisiae*). Foram realizadas coletas de soro para realização do teste de ELISA indireto e de fezes para recuperação das larvas pela técnica de coprocultura (ROBERTS & O'SULLIVAN, 1950) quinzenalmente e individualmente, a partir do primeiro dia de tratamento e até 7 dias após o final do tratamento.

O teste de ELISA foi padronizado para a análise de IgG, utilizando o antígeno somático de larvas de *H. contortus* na concentração de 52,317ug por poço, o soro 1/400 e o conjugado anti-IgG 1/4000.

Para os testes estatísticos foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa ASSISTAT Versão 7.7 pt (2017).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos resultados obtidos pela contagem de larvas recuperadas por coprocultura (Figura 1), a primeira coleta foi realizada no dia 14 após o início do tratamento com o probiótico e demonstrou uma alta infecção para ambos os grupos. Na segunda coleta, já se observava uma queda no número médio de larvas do grupo tratado com probiótico.

No momento em que foi realizada a terceira coleta, 42 dias após o início da administração da levedura e 28 dias após o início da infecção experimental, o número médio de larvas obtidos nos animais do grupo tratado com *Saccharomyces cerevisiae* (50 larvas) foi significativamente inferior,  $p < 0,05$ , ao grupo controle (17700 larvas) (Figura 1). Este resultado foi observado no mesmo período em que as primeiras larvas que foram administradas e receberam o tratamento estariam alcançando a sua maturidade sexual, que é aproximadamente 21 dias após a infecção. Isto demonstra que o tratamento de ovinos infectados com parasitos adultos, resulta em uma menor contaminação do campo com suas larvas.

Resultado semelhante ao deste estudo foi observado por Pinto et al (2017), quando foi utilizado o probiótico de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti), para o tratamento de bovinos infectados com *Haemonchus* spp., *Ostertagia* spp. e *Trichostrongylus* spp. que também observaram uma diminuição significativa no número de larvas após o tratamento.

Na última coleta de fezes, do presente estudo, foi verificado um aumento no número de larvas em ambos os grupos, este resultado para o grupo tratado com probiótico possivelmente seja porque estes animais já estavam a sete dias sem

receber o probiótico. Demonstrando assim a necessidade da administração constante da levedura para a sua ação em nematódeos (Figura 1).

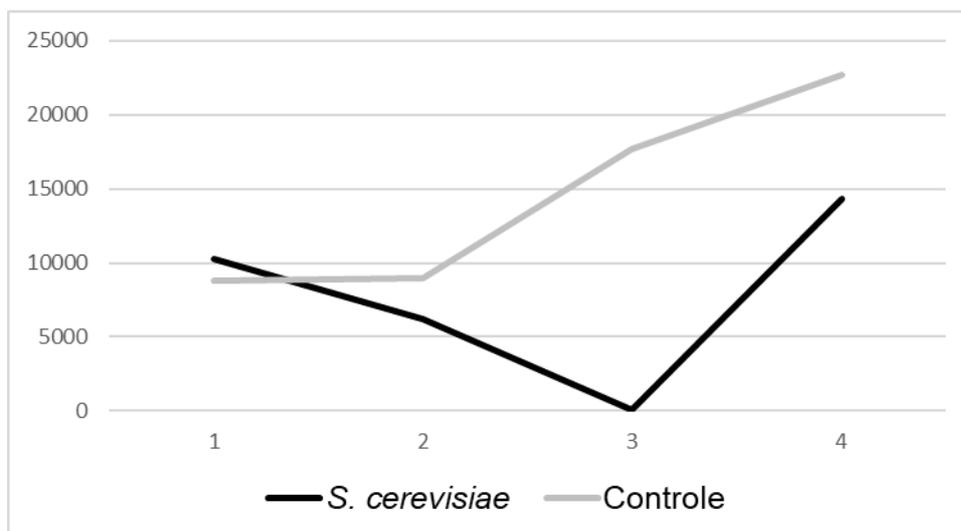


Figura 1: Média de contagem de larvas recuperadas de coletas quinzenais das fezes de ovinos experimentalmente infectados com *Haemonchus contortus*, sendo a coleta 1: quatorze dias antes do tratamento com probiótico e a coleta 2: início do tratamento com probiótico.

Os resultados observados através do teste de ELISA indireto demonstraram que os animais do grupo tratado com *S. cerevisiae* apresentaram níveis de IgG anti-*H. contortus*, estatisticamente superior ao grupo controle, evidenciando a sua ação de estimulação do sistema imunológico de ovinos desafiados experimentalmente com *H. contortus* (Figura 2).

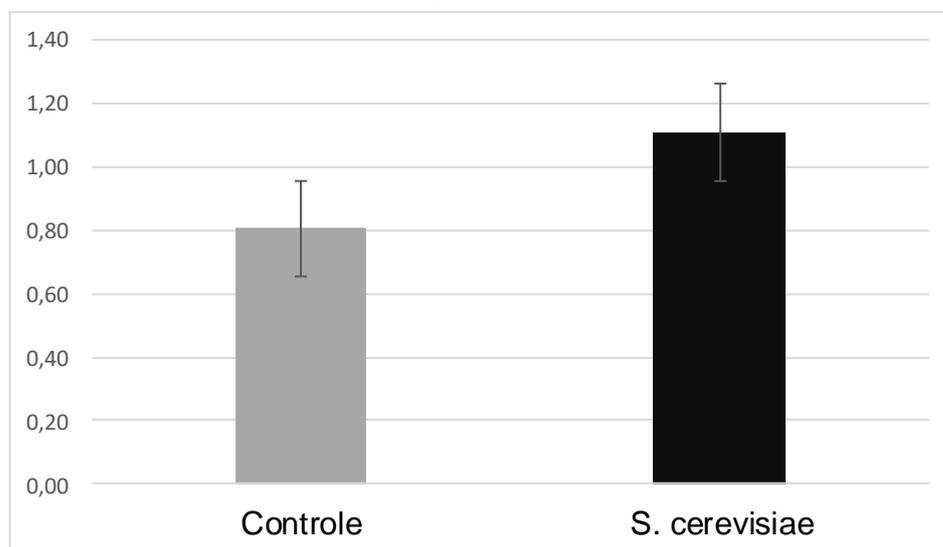


Figura 2: Média de absorbância observada em ELISA indireto (IgG anti-*Haemonchus contortus*), em ovinos tratados com probiótico e infectados com *Haemonchus contortus*.

Também em estudo realizado por Roos et al. (2010) foi observado uma ação imunomoduladora em ovinos tratados com uma espécie do mesmo gênero do presente estudo, *Saccharomyces boulardii*, e desafiados com *Escherichia coli*.

#### 4. CONCLUSÕES

O tratamento de ovinos infectados com *Haemonchus contortus*, utilizando *Saccharomyces cerevisiae* resultou em uma melhora da resposta imunológica e na diminuição no número de larvas do parasito. Assim este probiótico demonstrou ser uma alternativa eficaz ao controle deste nematódeo.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARANTE, A. F. T. D., RAGOZO, A., & SILVA, B. F. D.. **Os parasitas de ovinos**. São Paulo: Editora Unesp Digital, 2015.
- BAUTISTA-GARFIAS, C. R.; IXTA-RODRIGUEZ, O.; MARTÍNEZ-GÓMEZ, F.; LÓPEZ, M.G.; AGUILAR-FIGUEROA, B. R. Effect of viable or dead Lactobacillus casei organisms administered orally to mice on resistance against Trichinella spiralis infection. **Parasite** (Paris, France), v.8, p. s226-s228, 2001.
- BRASIL, **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE**, Produção da pecuária municipal. Rio de Janeiro, RJ. ISSN 0101-4234 (meio impresso), v. 43, p.1-49, 2015.
- BRASIL, **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE**, Contas nacionais trimestrais: indicadores de volume e valores correntes, 4º trimestre, 2016.
- MOLENTO, M. B., VERÍSSIMO, C. J., AMARANTE, A. T., VAN WYK, J., CHAGAS, A. C. S., DE ARAÚJO, J. V., & BORGES, F. A.. Alternativas para o controle de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Arquivos do Instituto Biológico**., São Paulo, 80(2), 253-263, 2013.
- PINTO, N. B., DE CASTRO, L. M., DE ALMEIDA CAPELLA, G., MOTTA, T. O., DE MOURA, M. Q., BERNE, M. E. A., & LEITE, F. P. L.. Controlling gastrointestinal nematodes in cattle by Bacillus species. **Veterinary Parasitology**, 245, 1-4, 2017.
- ROBERTS, F.H.S., O’SULLIVAN, P.J., Methods for eggs-counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle, **Australian Journal of Agricultural Research**. 1(1) (1950) 99-102.
- ROOS, T. B.; TABELÃO, V. C.; DÜMMER, L. A.; SCHWEGLER, E.; GOULART, M. A.; MOURA, S. V.; CORRÊA, M. N.; LEITE, F. P. L.; GIL-TURNES, C. Effect of *Bacillus cereus* var. Toyoi and *Saccharomyces boulardii* on the immune response of sheep to vaccines. **Food and Agricultural Immunology**, v.21(2), p.113–118, 2010.