

OTIMIZAÇÃO DO TESTE DE DESENVOLVIMENTO LARVAR PARA O MONITORAMENTO DA RESISTÊNCIA ANTI-HELMÍNTICA

GAINZA, Y.A.; LOPES, L.G.; SILVA, M.H.; GIRALDELO, L.A.; CHAGAS, A.C.S.

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), UNESP, ;Faculdade de Medicina Veterinária, UNICEP;Embrapa Pecuária Sudeste (CPPSE)

E-mail do orientador: carolina.chagas@embrapa.br

A validação de ferramentas laboratoriais para o diagnóstico da resistência parasitária em rebanhos é extremamente importante. Os testes *in vitro* são menos onerosos, relativamente fáceis e capazes de fornecer parâmetros reprodutíveis na mensuração da resistência aos anti-helmínticos. Além disso, tornam o diagnóstico da resistência menos dependente dos experimentos *in vivo*. Assim, o objetivo deste estudo foi otimizar o teste de desenvolvimento larvar (TDL), desenvolvendo um kit para a detecção e o monitoramento da resistência parasitária, a diferentes grupos químicos, em placas de 96 poços (P96). O protocolo anterior era executado em placas de 24 poços (P24), conforme Protocolo Lab. Sanidade Animal CPPSE – Nº 4/2009 - R 2012. Para as P96 foram estabelecidas as proporções de água, meio de cultura e parasitas por poço, a fim de se obter grupo controle negativo confiável. Fezes foram coletadas de ovinos monoinfectados com *Haemonchus contortus* para recuperação dos ovos por meio do uso sequencial de peneiras. A solução de ovos recebeu anfotericina B (Sigma-Aldrich, 5 µg/mL, 10 µL/mL sol. de ovos), os ovos foram então quantificados e ajustados para 70 ovos/7 µL. Cada poço recebeu por meio de micropipetas eletrônicas multicanais: 7 µL de suspensão de ovos + 45 µL de meio nutritivo (*Escherichia coli* EC11303, Sigma-Aldrich) + 68 µL de água destilada = 120 µL no total. Caso fosse necessário mais de 7 µL de suspensão de ovos, descontava-se dos 68 µL de água destilada. As placas foram incubadas a 27±1°C e umidade ≥80%. Após 24h, cada poço contendo L₁ teve seu volume final ajustado para 240 µL adicionando-se 120 µL de água destilada (no grupo controle) e de anti-helmínticos (nos grupos tratamento). As placas foram identificadas, seladas com filme PVC e incubadas por mais seis dias nas mesmas condições, para obtenção de larvas L₃. Após a incubação, as larvas L₁, L₂ e L₃ foram contadas em microscópio invertido para detecção da inibição do desenvolvimento larvar e, consequentemente, do nível de resistência. Foram realizados 25 testes, em três experimentos independentes, totalizando 75 repetições. Os resultados mostraram elevada sobrevivência e desenvolvimento das larvas no grupo controle negativo (80%). A adaptação do TDL para P96 resultou em um método mais prático e menos oneroso, pois quatro grupos químicos poderão ser avaliados simultaneamente em 12 concentrações, em duas repetições, em uma única placa. Nas P24 seriam necessárias, para um único teste, quatro placas, 12,480 µL a mais de drogas e 3,360 µL a mais de meio nutritivo. No futuro, esse teste *in vitro* permitirá auxiliar a tomada de decisão em programas de controle parasitário, visando preservar a vida útil dos produtos e limitar o desenvolvimento da resistência nas populações de nematoides.

Palavras-chave: kit de diagnóstico; *Haemonchus contortus*; placas de 96 poços

PAMOATO DE PIRANTEL E IVERMECTINA NO TRATAMENTO DA VERMINOSE CANINA

HOLSBACK, L.; JESUS, A.P.; LEITE, W.B.; CAVALLIERI, A.C.; KATTO, D.S; BORGES, J.V.R.

UENP.

E-mail do orientador: lhsfertonani@uenp.edu.br

Dentre as doenças que acometem os cães, as verminoses gastrointestinais merecem destaque tanto para a clínica veterinária quanto para a saúde pública. Os nematódeos intestinais mais importantes e que apresentam caráter zoonótico são *Ancylostoma* spp., *Toxocara canis* e *Trichuris vulpis*. O tratamento pode ser realizado com diversas drogas, porém, tem-se notado recentemente o fenômeno da resistência parasitária frente a alguns compostos. Por estes fatos, o trabalho proposto teve o intuito de avaliar a eficácia do pamoato de pirantel e da ivermectina sobre nematódeos gastrointestinais de cães. Para tanto foram realizados a contagem de ovos nas fezes (OPG) pela Técnica de Gordon e Whitlock modificada, para avaliação da eficácia anti-helmíntica através do Teste de Redução da Contagem de Ovos nas Fezes (RCOF), e exame de flutuação Willis-Mollay para verificação de concordância entre as técnicas. Selecionou-se 45 cães naturalmente infectados, os quais foram divididos em três grupos: G1, 15 animais que receberam pamoato de pirantel 145 mg, via oral, dose única; G2, 15 animais que receberam ivermectina 3 mg, via oral, dose única e G3, 15 animais do grupo controle, não tratados. Colheitas de fezes foram realizadas no dia da desverminação e dez dias depois para realização dos exames coproparasitológicos supradescritos. Observou-se que o gênero de maior ocorrência foi *Toxocara* (93,3%), seguido de *Ancylostoma* (17,8%) e *Trichuris* (2,2%). Pelo RCOF, *Ancylostoma* apresentou baixa resistência ao pamoato de pirantel e ivermectina e *Toxocara* foi resistente a ambos os tratamentos. Através de testes de concordância estatística entre as técnicas coproparasitológicas utilizadas, foram constatadas concordâncias moderada (k= 0,57), quase perfeita (k= 0,86) e substancial (k= 0,66), respectivamente, na detecção de *Ancylostoma*, *Toxocara* e *Trichuris*. Concluiu-se neste estudo que *Ancylostoma* e *Toxocara* apresentaram resistência a ambas as drogas testadas e, por se tratarem de dois anti-helmínticos muito indicados e disponíveis comercialmente para cães e gatos, outras opções devem ser consideradas para a profilaxia e tratamento das verminoses nestes animais. Além disso, a Técnica de Gordon e Whitlock modificada mostrou-se tão eficaz quanto a Técnica de Willis-Mollay na detecção de *Ancylostoma* e *Toxocara*, podendo ser utilizada para estudos de ocorrência e eficácia anti-helmíntica em cães.

Palavras-chave: *Ancylostoma*; *Toxocara*; Resistência parasitária