

PROBIÓTICOS COMO ALTERNATIVA DE CONTROLE DE *Haemonchus contortus* EM OVINOS

CAPELLA, Gabriela de Almeida¹; GALLINA, Tiago¹; DIAS DE CATRO¹, Luciana Laitano¹; BERNE, Natália¹; BERNE, Maria Elisabeth Aires^{*}

¹ Universidade Federal de Pelotas, Medicina Veterinária.

² Instituto de Biologia, Departamento de Microbiologia e Parasitologia,
bememea@ufpel.edu.br

1 Introdução

O Brasil possui 16,8 milhões de ovinos, sendo que a região nordeste concentra a maior população, constituída quase que exclusivamente de animais deslanados, e no Rio Grande do Sul está o maior efetivo de ovinos lanados, com 77% localizados na metade sul deste estado (IBGE, 2007). Dentre os principais problemas que acometem ovinos e que limitam consideravelmente o aproveitamento econômico destes animais estão às parasitoses gastrintestinais (MACRAE, 1993; AMARANTE et al., 1997; MOLENTO, PRICHARD, 1999;), que têm como principal medida de controle o uso de anti-helmínticos. Entretanto, a resistência dos parasitos aos anti-helmínticos é um problema grave que se defronta a ovinocultura mundial. Frente a isto, muitos estudos têm sido desenvolvidos na busca de estratégias de controle que diminuam os resíduos deixados nos alimentos e as perdas geradas pela parasitose. Dentre várias estratégias que visam diminuir a dependência de anti-helmínticos têm-se o uso de probióticos. Esta alternativa é constituída por microrganismos vivos que, administrados em quantidades adequadas, promovem benefícios à saúde do homem e dos animais. Atualmente os probióticos são usados na prevenção e no tratamento de doenças, na regulação da microbiota intestinal, em distúrbios do metabolismo gastrintestinal, na inibição da carcinogênese, como imunomoduladores e como promotores de crescimento, constituindo-se em uma alternativa aos fármacos (GOMES & MALCAT, 2006). Nas helmintoses gastrintestinais, seus efeitos benéficos são exercidos por aumentar a resistência dos hospedeiros (com baixa carga parasitária) ou por contribuir para com a resiliência (manutenção da saúde e produtividade) dos animais infectados (OLIVEIRA-SEQUEIRA; AMARANTE; SEQUEIRA, 2000). Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito dos probióticos *Bacillus cereus* var. *Toyoi*, *Saccharomyces boulardii* e *S. cerevisiae* em ovinos infectados experimentalmente com *Haemonchus contortus*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Trinta e dois cordeiros de quatro a cinco meses de idade, da raça Texel, foram alocados em quatro grupos de oito animais, de acordo com peso vivo. O grupo 1 recebeu o probiótico *B. cereus* var. *Toyoi* na concentração de 1×10^6 UFC gr⁻¹, o grupo 2 recebeu o probiótico *S. boulardii* na concentração de 1×10^6 UFC gr⁻¹, o grupo 3 recebeu o probiótico *S. cerevisiae* na mesma concentração. O grupo 4 como grupo controle, recebeu somente a ração. A alimentação de todos os ovinos independente do grupo foi constituída de 4 % do peso vivo em matéria seca (50% ração com 16% de proteína

bruta e 50% de feno com 14% proteína bruta). O período experimental foi de 64 dias, sendo os primeiros sete dias para adaptação dos animais ao ambiente e a dieta, sete dias para adaptação aos probióticos e mais 49 dias após a infecção experimental. No dia zero (0), ou seja, quinze dias após a estabulação dos 32 cordeiros, ± 5000 L₃ de *H. contortus* foram inoculadas por via oral em cada ovino dos quatro grupos.

No 49º dia após a infecção experimental, todos os animais foram eutanasiados para recuperação e contagem dos nematódeos e para a contagem eosinófilos no tecido abomasal. O abomaso foi aberto pela curvatura maior e seu conteúdo, colocado em recipiente graduado, seguindo-se a lavagem do órgão. O produto dessa lavagem foi adicionado em cálice de sedimentação, realizando-se sucessivas lavagens, até obter um líquido claro. Ao sedimento foram adicionados 50% de formol 10% para conservação do produto e posterior contagem total dos parasitos. A quantificação dos eosinófilos da mucosa abomasal foi feita através da adaptação da metodologia de Huntley et al. (1992) para contagem celular no tecido abomasal, foram seccionadas amostras de 2cm² da área fúndica do abomaso que posteriormente foram fixadas em formol a 10% por 24h, incluídas em parafina, feitos cortes de 5µm, que foram corados com hematoxilina-eosina para posterior contagem de eosinófilos. A metodologia para obtenção do número de eosinófilos baseou-se na quantificação do total destas células obtidas em 15 microfotografias de campos aleatórios focalizados desde a camada muscular até a superfície da mucosa, em aumento de 400X, correspondentes a uma área de 0,04mm² (Sistema Axio-Vision 3.1). Foi realizada a contagem individual de cada animal e os resultados expressos como média do número de eosinófilos/mm² de mucosa. A contagem total de parasitos e de eosinófilos da mucosa foi analisada através de variância one-way Anova. As diferenças entre os tratamentos foram verificadas pelo teste de Tukey e consideradas significativas quando $p < 0.05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo foi possível constatar que ovinos que receberam *S. cerevisiae* apresentaram o maior número médio de eosinófilos por mm² e o menor número médio de adulto de *H. contortus*. Nos demais grupos ocorreu o inverso, maior número de adultos de *H. contortus* e menor número de eosinófilos, mostrados na Fig. 1.

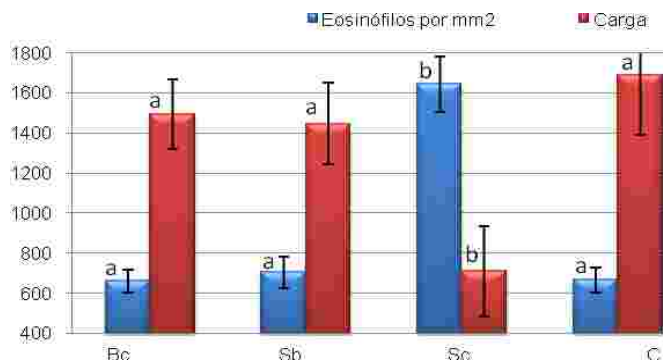


Figura 1 – Número total de parasitos (carga) e de eosinófilos da mucosa abomasal de ovinos experimentalmente infectados por *Haemonchus contortus* e tratados com *Bacillus cereus* var. *Toyoi* (Bc), *Saccharomyces boulardii* (Sb) e *S. cerevisiae* (Sc) C=controle. Letras diferentes nas colunas de cada variável dependente indicam valores com diferença estatística significativa.

Atribuiu-se a redução de *H. contortus* nos ovinos que receberam *S. cerevisiae* à presença significativamente maior de eosinófilos na mucosa abomasal. A resposta tecidual local do abomaso com aporte significativamente maior de eosinófilos é um dos mecanismos de expulsão de helmintos bem descritos na literatura (MEEUSEN; BALIC; BOWLES, 2005; ROTHENBERG; HOGAN, 2006). Estas células estão presentes já no início do estabelecimento da infecção, como confirmado por Balic; Bowles e Meeusen (2002), que evidenciaram eosinófilos locais nos primeiros três dias após re-infecção, e concluíram que este fator é determinante para o início da expulsão dos nematódeos. Resultados semelhantes aos do presente estudo também foram observados por Gill et al. (2000), quando encontraram uma alta densidade de eosinófilos na mucosa abomasal em cordeiros no 28º dia após infecção com *H. contortus*.

4 CONCLUSÃO

O uso de *S. cerevisiae* alterou o perfil da resposta celular por eosinófilos na mucosa abomasal, interferindo no estabelecimento do *H. contortus* em ovinos suplementados com este probiótico, portanto podendo ser utilizado como uma medida alternativa de controle deste nematódeo. Os probióticos *S. boullardi* e *B. cereus* var. Toyoi nas condições estudadas não mostraram efeitos benéficos no controle da infecção por *H. contortus*. *Agradecemos ao apoio financeiro da FAPERGS e do CNPq.*

5 REFERÊNCIAS

- AMARANTE, A. F. T.; BAGNOL JUNIOR, J.; AMARANTE, M. R. V.; BARBOSA, M. A. Host specificity of sheep and cattle nematodes in São Paulo state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.73, p.89-104, 1997.
- BALIC, A.; BOWLES, V. M.; MEEUSEN, E. N. Mechanisms of immunity to *Haemonchus contortus* infection in sheep. **Parasite Immunology**, v.24, p.39-46, 2002.
- IBGE – Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Brasília, Access: [HTTP://ibge.gov.br](http://ibge.gov.br), IBGE 2007.
- GILL, H. S.; ALTMANN, K.; CROSS, M. L.; HUSBAND, A. J. Induction of T helper 1- and T helper 2-type immune responses during *Haemonchus contortus* infection in sheep. **Immunology**, v.99, p.458-463, 2000.
- GOMES, A. M. P.; MALCAT, F.X. Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos e aplicações tecnológicas. **Biociência**, v.16, p.12-22, 2006.
- HUNTLEY, J. F.; NEWLANDS, G. F. J.; JACKSON, F.; MILLER, H. R. P. The influence of challenge dose, duration of immunity, or steroid treatment on mucosal mast cells and the distribution of sheep mast cell proteinase in *Haemonchus*-infected sheep. **Parasite Immunology**, v.14, p.429-440, 1992.

MACRAE, J. C. Metabolic consequences of intestinal parasitism. **Proceedings of The Nutrition Society**, v.52, p.121-130, 1993.

MEEUSEN, E. N. T.; BALIC, A.; BOWLES, V. M. Cells, cytokines and other molecules associated with rejection of gastrointestinal nematode parasites. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.108, p.121–125, 2005.

MOLENTO, M. B.; PRICHARD, R. K. Nematode control and the possible development of anthelmintic resistance. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.8(1), p. 75-86, 1999.

OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C. G.; AMARANTE, A. F. T.; SEQUEIRA, J. L. Parasitological parameters and tissue response in the abomasum of sheep infected with *Haemonchus* spp. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52(5), p.447-452, 2000.

ROTHENBERG, M. E.; HOGAN, S. P. The eosinophil. **Annual Review Immunology**, v. 24, p.147–174, 2006.