

EFEITO NEMATICIDA DE *LACTICASEIBACILLUS RHAMNOSUS* EM FEZES DE EQUINOS NATURALMENTE PARASITADOS

VERÔNICA ROCHA MERCHED, VITÓRIA MÜLLER, JEFERSON VIDART
RAMOS, FÁBIO PEREIRA LEIVAS LEITE.

Universidade Federal de Pelotas – veronica.merched@ufpel.edu.br

Universidade Federal de Pelotas – fabio_leite@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

Uma ameaça significativa ao bem-estar dos equinos, são os helmintos da subfamília Cyathostominae, pertencentes à família Strongylidae, e mais conhecidos por ciatostomíneos ou “pequenos estrôngilos”; estes parasitos estão presentes no ceco e cólon (BEZERRA, et al., 2007), e são os nematoides mais predominantes em equinos (TAVELA, 2010).

Os equinos são infectados por ingerirem a larva em estágio L3 ao pastorear (TAVELA, 2010). Em clima tropical, a larva L3 está presente em pastagens e em fezes de equinos todos os meses do ano (BEZERRA, et al 2007). Os sinais clínicos de um equino infectado por ciatostomíneos são: perda de peso, cólica, diarreia e redução no crescimento (MARTINS, 2019).

O *Lacticaseibacillus rhamnosus* foi ligado a uma ampliação da barreira intestinal, pois houve diminuição de movimento bacteriano (CUNHA, 2023). Alguns estudos já têm demonstrado a eficácia de probióticos em tratamentos que diminuem a suscetibilidade de animais em contraírem infecções (CUNHA, 2023).

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito *in vitro* nematicida de *Lacticaseibacillus rhamnosus* em estongilídeos de equinos naturalmente parasitados.

2. METODOLOGIA

As amostras fecais para a realização do estudo, foram obtidas por meio de coleta da ampola retal de equinos naturalmente parasitados e mantidos em campo nativo. Já a cepa *Lacticaseibacillus rhamnosus* foi obtida no Laboratório de Microbiologia, Centro de Biotecnologia, CDTec da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Foi semeada em meio MRS (de Man Rogosa & Sharpe) e incubada a 37°C por 24 horas. Após o crescimento da colônia isolada, foi inoculada em Erlenmeyer de 500mL, contendo 100 mL de meio MRS, e incubada em agitador orbital a 100 rpm, permanecendo a 37°C por 24 horas. A concentração do cultivo foi de, aproximadamente, 5×10^{10} UFC/mL. A pureza do cultivo foi observada por meio da coloração de Gram.

Para a coprocultura em triplicatas, foi realizado um pool das amostras de fezes obtidas, com 4 gramas de fezes em cada frasco dos três grupos: O controle negativo, controle positivo e *L. rhamnosus*, com inoculação de 1mL de cultivo na

concentração aproximada de 5×10^{10} UFC/mL. As larvas foram recuperadas sete dias após a incubação em estufa de 28°C. O volume total das coproculturas 3000xg foi centrifugado por 10 minutos e suspenso em 1 mL de PBS estéril (Phosphate Buffer Saline). A contagem das larvas se deu em microscópio óptico com aumento de 10X. Como controle negativo foi utilizado PBS (Phosphate Buffer Saline) e como controle positivo, foi utilizado *Bto* (*Bacillus thuringiensis osvaldocruzi*).

O teste de diluição seriada também foi realizado para evidenciar o efeito larvicida de *L. rhamnosus*, com 900 mL de PBS (Phosphate Buffer Saline) e 100 mL de *L. rhamnosus* em cada microtubo de 2mL até 10^{-8} , posteriormente, 50 larvas foram inseridas à cada diluição.

Para a análise estatística, foi utilizado o programa ANOVA de uma via e teste de post hoc de Dunnett's. Os testes estatísticos foram realizados no software Graphpad Prism 9.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1. Indica a redução na contagem de larvas em comparação ao controle.

	Amplitude	M	Desvio Padrão	Taxa de Eclosão	Eficácia	Valor de p*
PBS	26-46	36 ^a	10	100%	0%	-
<i>Bto</i>	1-3	2 ^b	1	5,56%	94,4%	0,0007
<i>L.rhamnosus</i>	0-2	1 ^b	1	2,78%	97,2%	0,0006

* relativo ao teste de Dunnett's dos tratamentos contra o controle.

^a letras iguais na coluna demonstram que foi identificada diferença entre as médias

^b letras iguais na coluna demonstram que não foi identificada diferença entre as médias

Neste estudo, foi avaliado o efeito nematocida de *L. rhamnosus*. O probiótico apresentou redução na taxa de eclosão das larvas após o sétimo dia. Como resultado, o *L. rhamnosus* obteve 97,22% de eficácia contra nematoides, em comparação ao controle negativo, com eficácia de 0%, o probiótico demonstrou ter potencial nematocida. Já o controle positivo, em comparação ao negativo, também apresentou um alto teor nematocida, com 94,44% de eficácia. O *L. rhamnosus* resultou satisfatório em contraste ao controle negativo; o controle positivo apresentou uma porcentagem nematocida significativa, porém menos eficaz que o *L.rhamnosus*. Posteriormente, com o último teste realizado, de diluição seriada, obteve-se um resultado que sugere efeito nematocida *L. rhamnosus*.

4. CONCLUSÕES

Com base neste estudo, é possível concluir que *L. rhamnosus* reduziu consideravelmente o número de ovos de larvas nematoides, demonstrando seu potencial nematocida. Futuramente, com estudos mais aprofundados, será possível identificar se a inserção de *L. rhamnosus* na dieta equina garantirá o controle destes

nematoides, assegurando tanto o bem-estar do animal como o conforto econômico do tutor.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

TAVELA, Alexandre. **CONTROLE BIOLÓGICO DE CIATOSTOMÍNEOS DE EQUINOS RESISTENTES A IVERMECTINA E PAMOATO DE PIRANTEL COM O FUNGO *Monacrosporium thaumasium***. [s.l.: s.n.], 2010. Disponível em: <<https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/5007/1/texto%20completo.pdf>>. Acesso em: 27 ago. 2023.

BEZERRA, SIMONE Q; MACHADO DO COUTO, MELISSA C; MOURA DE SOUZA, TARCÍSIO; *et al.* Ciatostomíneos (*Strongylidae-Cyathostominae*) parasitas de cavalos: Ecologia experimental dos estágios pré-parasíticos em gramínea tifton 85 (*Cynodon spp.* cv. Tifton 85) na baixada Fluminense, RJ, Brasil. **Parasitologia latinoamericana**, v. 62, n. 1-2, 2007.

CUNHA, Carolina. SOBRENADANTE DE *Lactobacillus acidophilus*. ATCC 4653: ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E AÇÃO LARVICIDA SOBRE *Toxocara canis*, [s. l.], p. 1-40, 2023. Disponível em: <https://sistemas.furg.br/sistemas/sab/arquivos/bdtd/0000015654.pdf>. Acesso em: 18 ago. 2023

MARTINS, Natália. **Prevalência De Nematódeos Intestinais Em Equinos Da Região Sul Do Rio Grande Do Sul, Brasil**. ResearchGate. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/338932491_Prevalencia_de_nematodeos_intestinais_em_equinos_da_regiao_sul_do_Rio_Grande_do_Sul_Brasil>.