AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA RESISTÊNCIA A TRICLABENDAZOLE EM ISOLADOS DE *Fasciola hepatica* OBTIDOS DE BOVINOS DO ESTADO DE SANTA CATARINA[1]

Larissa Godeski Moreira[2], Andreas Lazaros Chryssafidis[3], Paula Maciel Arruda[4], Larissa Américo[4], Ângela Woloszyn Brum de Oliveira[5], Felipe Rieth de Lima[5], Gustavo Néri Neuhaus[5], Luna Silvestri Souto[5], Sandy Gabrielly Radünz Machado[5], Vitória Maria Petronilha Martins[5].

[1] Vinculado ao projeto "Avaliação in vitro de resistência a triclabendazole de isolados de Fasciola hepatica obtidos de ruminantes do Estado de Santa Catarina"
[2]Acadêmico (a) do Curso de Medicina Veterinária – CAV-UDESC– Bolsista PROBIC/UDESC
[3] Orientador, Departamento de Parasitologia – CAV-UDESC – andreas.ch@udesc.br
[4] Mestranda em Ciência Animal – CAV-UDESC
[5] Acadêmicos do Curso de Graduação em Medicina Veterinária – CAV-UDESC

A fasciolose é uma das parasitoses de maior importância mundial, por seu impacto na saúde animal e humana. O agente etiológico no Brasil é *Fasciola hepatica*, um trematódeo parasito de ductos biliares de diferentes espécies de mamíferos, principalmente de ruminantes. Causa grande perda econômica, muitas vezes imperceptíveis aos produtores, pois a maior parte dos casos ocorre de forma subclínica. Com o aumento na utilização de fármacos anti-helmínticos, a resistência parasitária se tornou um problema para o controle das verminoses. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a resistência parasitária ao triclabendazole, fármaco fasciolicida mais utilizado no mundo, por meio de um protocolo *in vitro* que utiliza ovos coletados de vesículas biliares de bovinos naturalmente infectados por *F. hepatica*. No decorrer do estudo, foram realizadas visitas ao frigorífico Fox, localizado na cidade de Lages, na região do Planalto Serrano de Santa Catarina. Durante o abate, quando eram detectados animais com o fígado comprometido pela presença do trematódeo, era feita a coleta da vesícula biliar em um recipiente e posteriormente, encaminhada para o laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias (LAPAR-CAV-UDESC). Para a remoção da bile e recuperação dos ovos, utilizava-se a diluição na proporção de 1:5, distribuindo-se a bile em frascos cônicos e preenchendo-os com água. Após 10 minutos, era realizado o descarte do sobrenadante, em seguida, repetia-se o processo. Após a retirada do último sobrenadante, eram deixados aproximadamente 20 ml em cada frasco, e o conteúdo era transferido para tubos de centrifugação de 50 ml. Depois de calibrados com o mesmo peso, realizava-se a centrifugação por 10 min a 1500 rpm, com o descarte do sobrenadante. Os sedimentos eram reunidos em um único tubo com o auxílio de uma pipeta de Pasteur. A amostra era novamente centrifugada, por 4 min a 1500 rpm, o sobrenadante cuidadosamente descartado, e o pellet ressuspendido em água destilada até completar 5 ml. Para a quantificação dos ovos, três alíquotas de 100 µl eram analisadas, sendo calculada a média aritmética e o número extrapolado para os 5 mL de amostra. Para a análise de eficácia do triclabendazole, e eventual resistência parasitária, eram preparadas triplicatas com no mínimo 400 ovos em cada, bem como triplicata do controle não tratado, em volume final de 40 ml por frasco. O tratamento era realizado utilizando a dose terapêutica para bovinos, de acordo com as recomendações do fabricante do produto comercial (Saguaymic Plus, Microsules), sendo 12 mg/kg. Considerando-se o volume final e a relação aproximada de 1.000 g/L, 4,8 µl de triclabendazole eram transferidos com uma micropipeta para cada frasco contendo os ovos, que eram então colocados diretamente na estufa a 27°C por 28 dias. Ao final do período de

incubação, com o auxílio de um estereomicroscópio foi realizada a análise do desenvolvimento dos ovos de *F. hepatica* classificando como não embrionados, embrionados ou eclodidos nas triplicatas dos frascos tratados e dos controles. Foram contados ao total, 100 ovos em cada recipiente e então realizada a média aritmética entre os 3 resultados de cada grupo, sendo a eficácia calculada comparando-se a redução da viabilidade dos ovos tratados (tabela 1) com os grupos controle (tabela 2), considerando-se resistente qualquer amostra com redução de viabilidade abaixo de 95%. De acordo com os resultados obtidos, foi possível concluir que nenhum dos isolados analisados apresentou resistência ao fármaco utilizado. O estabelecimento deste protocolo de teste de eficácia no LAPAR-CAV-UDESC é fundamental para auxiliar os produtores de gado bovino da região e do Estado de Santa Catarina no controle da fasciolose bovina.

Tabela 1. *Desenvolvimento dos ovos de Fasciola hepatica coletados de vesículas biliares de dez bovinos naturalmente infectados, sob tratamento com fármaco a base de triclabendazole.*

Nº Animal	Ovos não embrionados (%)	Ovos embrionados (%)	Ovos eclodidos (%)
1	100	0	0
2	96,7	1,3	2
3	97,7	0,3	2
4	97	2	1
5	99	0	1
6	96,7	1	2,3
7	100	0	0
8	97,7	0,3	2
9	99,7	0	0,3
10	99,7	0	0,3

Tabela 2. *Grupo controle do desenvolvimento dos ovos de Fasciola hepatica coletados de vesículas biliares de dez bovinos naturalmente infectados.*

Nº Animal	Ovos não embrionados (%)	Ovos embrionados (%)	Ovos eclodidos (%)
1	8,7	31,7	59,6
2	6	44,5	49,5
3	2	63	35
4	7	69	24
5	3,3	43,3	53,4
6	1,7	31,3	67
7	11,3	29,3	59,4
8	1	44	55
9	22	48,7	29,3
10	12,3	38,3	49,4

Palavras-chave: Resistência. Fasciolose. Bovinos.