

O CONTROLO SUSTENTÁVEL DAS PARASITOSSES DAS AVES E MAMÍFEROS COM FUNGOS PREDADORES: O FUTURO É HOJE!

Luís Madeira de Carvalho^{1,2*}, Maria Sol Arias³, Antonio Palomero³, Cándido Viña³, Rami Salmo³, João Lozano^{1,2}, Miguel Canhão-Dias^{1,2}, José Hernández³, Cristiana Cazapal-Monteiro³, Rita Sánchez-Andrade³, Adolfo Paz-Silva^{3**}

1. CIISA – Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Portugal;

2. Laboratório Associado para Ciência Animal e Veterinária (AL4AnimalS)

3. Grupo de Investigación COPAR (GI-2120-USC), Facultad de Veterinaria, Av. Carballo Calero s/n, 27002-Lugo, Spain

[*madeiradecarvalho@fmv.ulisboa.pt](mailto:madeiradecarvalho@fmv.ulisboa.pt) , [**adolfo.paz@usc.es](mailto:adolfo.paz@usc.es)

Sumário

1. Fungos saprófitas predadores (FSP) e controlo biológico de parasitas
2. Estudos de campo e laboratoriais com FSP no controlo biológico de parasitoses gastrointestinais de aves e mamíferos
3. Perspetivas para o uso prático de FSP: o Futuro é hoje!
4. Conclusões

Palavras-chave

Aves e Mamíferos, parasitas gastrointestinais, fungos predadores, *Duddingtonia flagrans*, *Mucor circinelloides*, controlo parasitário sustentável.

1. Fungos saprófitas predadores (FSP) no controlo biológico de parasitas

Os fungos cosmopolitas (fezes de animais e solos agrícolas) que **infetam e destroem os parasitas gastrointestinais** ao nível dos seus estádios de desenvolvimento exógeno na pastagem.

Estes fungos atacam **L3 / ovos / oocistos**. Ação larvicida, ovicida ou coccidicida.

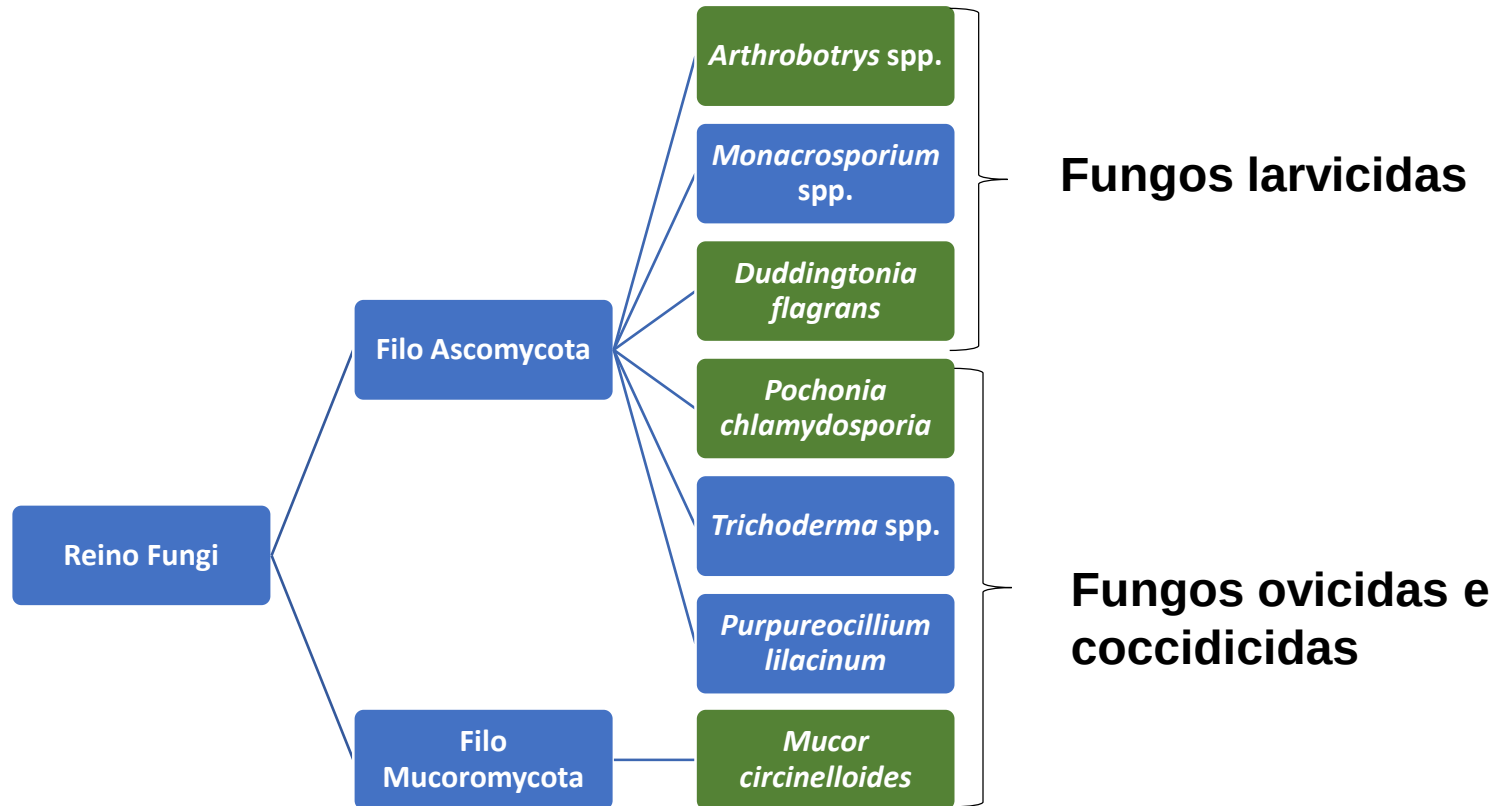
Tropismo para **parasitas GI de animais selvagens, produção e de companhia**

Estes fungos produzem **esporos** com resistência ou fases saprófitas na ausência de seus hospedeiros.

Os **fungos saprófitas predadores (FSP)**, **nematófagos** ou **helminatófagos** produzem um sistema de hifas, formam uma **"rede" ou "armadilha"**, onde capturam L3, ovos e oocistos, destruindo-os por métodos físicos e enzimáticos.

Harposporium anguillulae a destruir
uma larva de nematode.

Grupos de Fungos Predadores



(Barron, 1977; Spatafora *et al.*, 2016; Raghukumar, 2017; Suárez, 2017)

Introdução ao controlo biológico

- Especial destaque para os fungos predadores, como uma ferramenta de controlo eficaz e sustentável



Mycol Progress (2008) 7:221–238
DOI 10.1007/s11557-008-0571-3

REVIEW

Review

Recent Advances in the Control of Helminths of Domestic Animals by Helminthophagous Fungi

Jackson Victor Araújo¹, Fabio Ribeiro Braga², Pedro Mendoza-de-Gives³, Adolfo Paz-Silva⁴ and Vinicius Longo Ribeiro Vilela^{5,*}

Fungal chitinases and their biological role in the antagonism onto nematode eggs. A review

Maria Cecilia Gortari • Roque Alberto Hours



Contents lists available at ScienceDirect

Biological Control

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ybcon



Formulating fungal spores to prevent infection by trichostrongylids in a zoological park: Practical approaches to a persisting problem

Antonio M. Palomero, Cristiana F. Cazapal-Monteiro, Cándido Viña, José Á. Hernández, Mathilde Voinot, María Vilá, María I. Silva, Adolfo Paz-Silva*, Rita Sánchez-Andrade, María Sol Arias

COPAR Research Group, Faculty of Veterinary, University of Santiago de Compostela, Spain

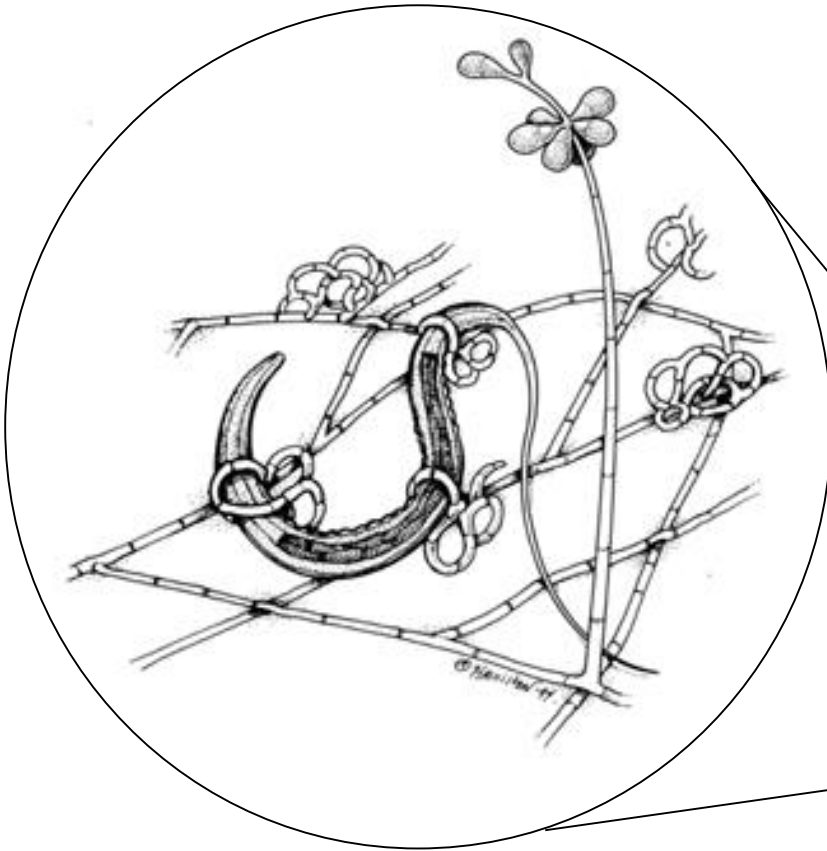
THE ROLE OF FUNGI IN THE CONTROL OF ANIMAL PARASITES – CLASSIFICATION, MODE OF ACTION AND PRACTICAL APPLICATIONS

*L. M. Madeira de Carvalho^{*1}, F. A. Bernardo¹, and A. Paz-Silva²*

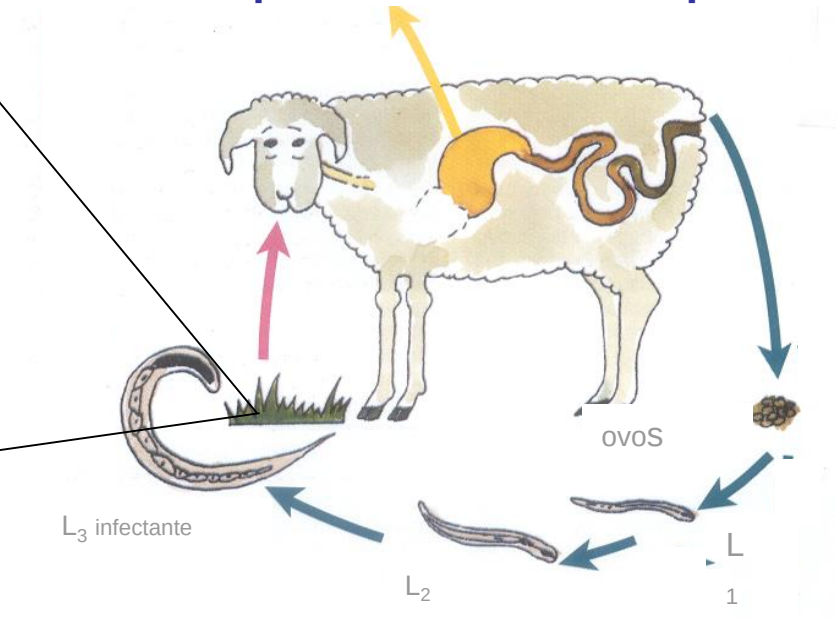
CONTROLO BIOLÓGICO POR FUNGOS PREDADORES

1 - Os fungos predadores existem nas pastagens naturais

São cultivados e concentrados por processos biotecnológicos e administrados *per os* sob a forma de esporos – os clamidosporos.

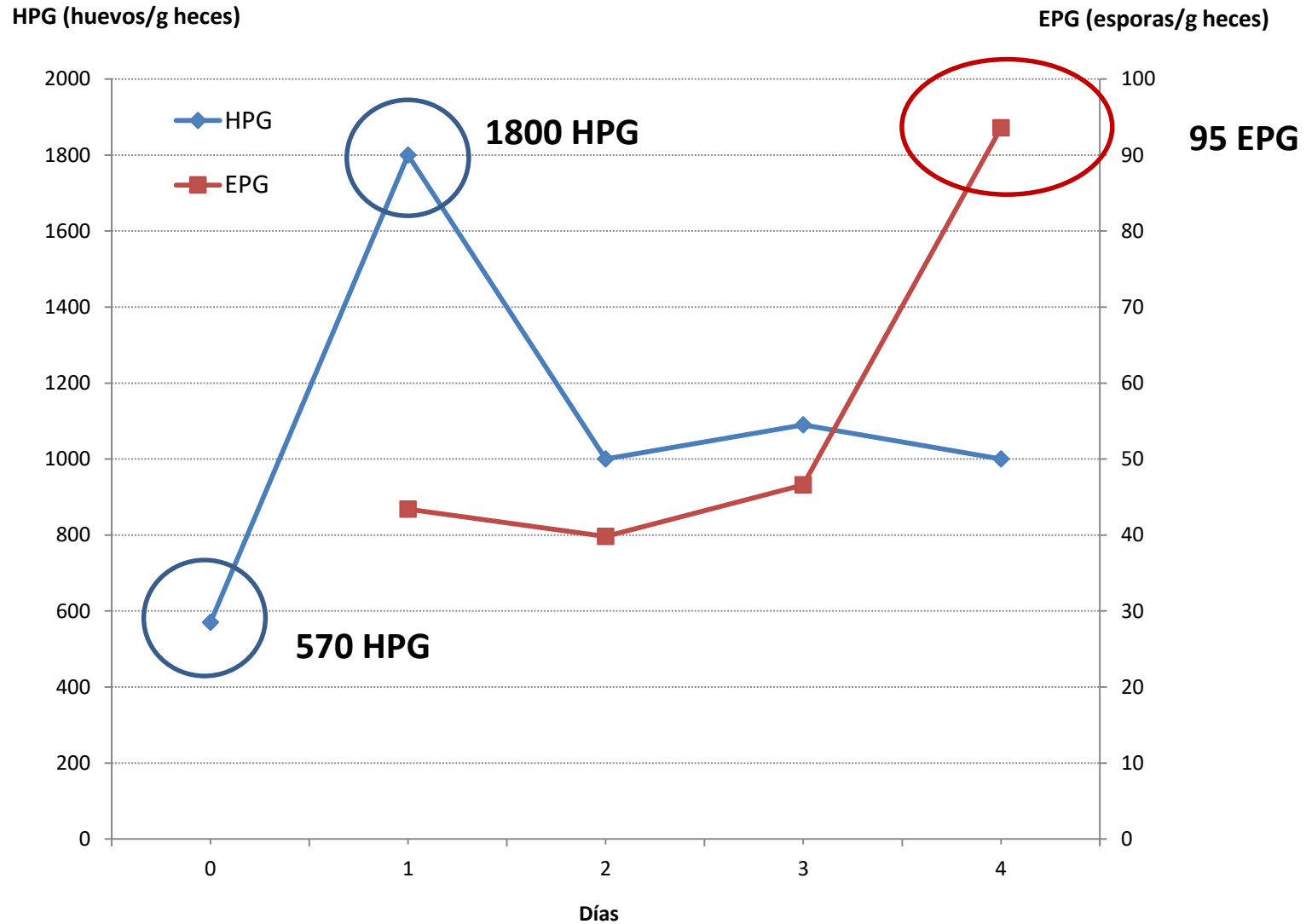


3 - O fungo *Duddingtonia flagrans* retém e elimina as larvas infectantes nas fezes e na pastagem, diminuindo a contaminação ambiental e a infecção dos hospedeiros.



2 - Os clamidosporos são eliminados nas fezes em grande percentagem ainda viáveis e aptos a desenvolver-se em presença das larvas de nemátodes parasitas (L1, L2 e L3)

Periodo de aparición de esporas y tasa de excreción fecal

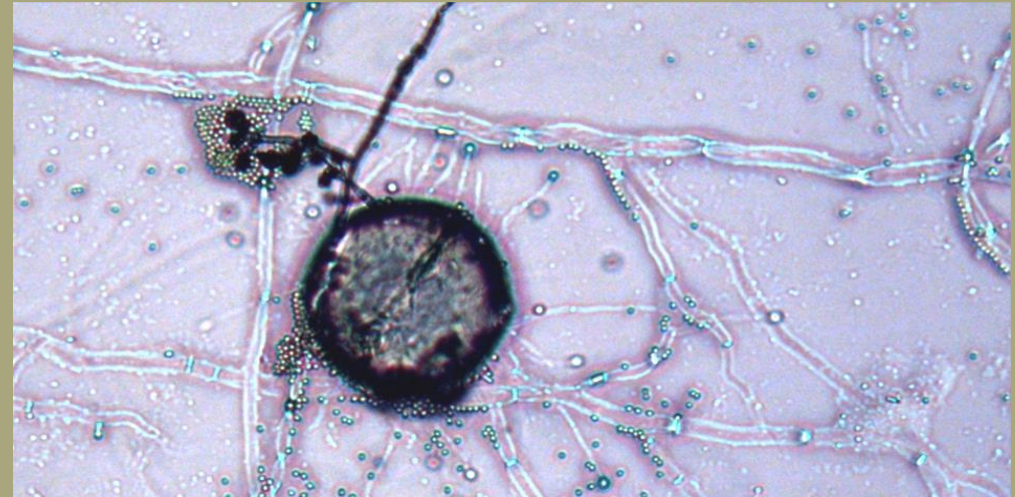


(Mercedes Sobrado, 2016)

Fungos Larvicidas



Fungos Ovicidas

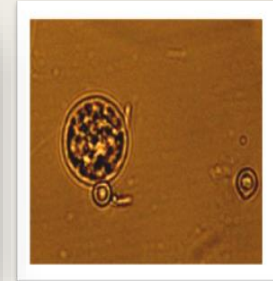
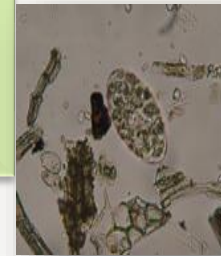


OVOS NO SOLO

Mucor circinelloides – Ovicida e coccidicida

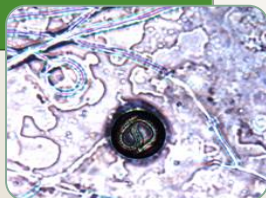


Adere à
casca dos
ovos e
oocistos.



- ❖ Pressão sobre a casca
- ❖ Libertação de enzimas

I) Contacto



II) Adesão



III) Penetração



IV) Deliberação



(Hernández et al, 2014)

LARVAS DE NEMATODES NO SOLO

Duddingtonia flagrans - Larvicida



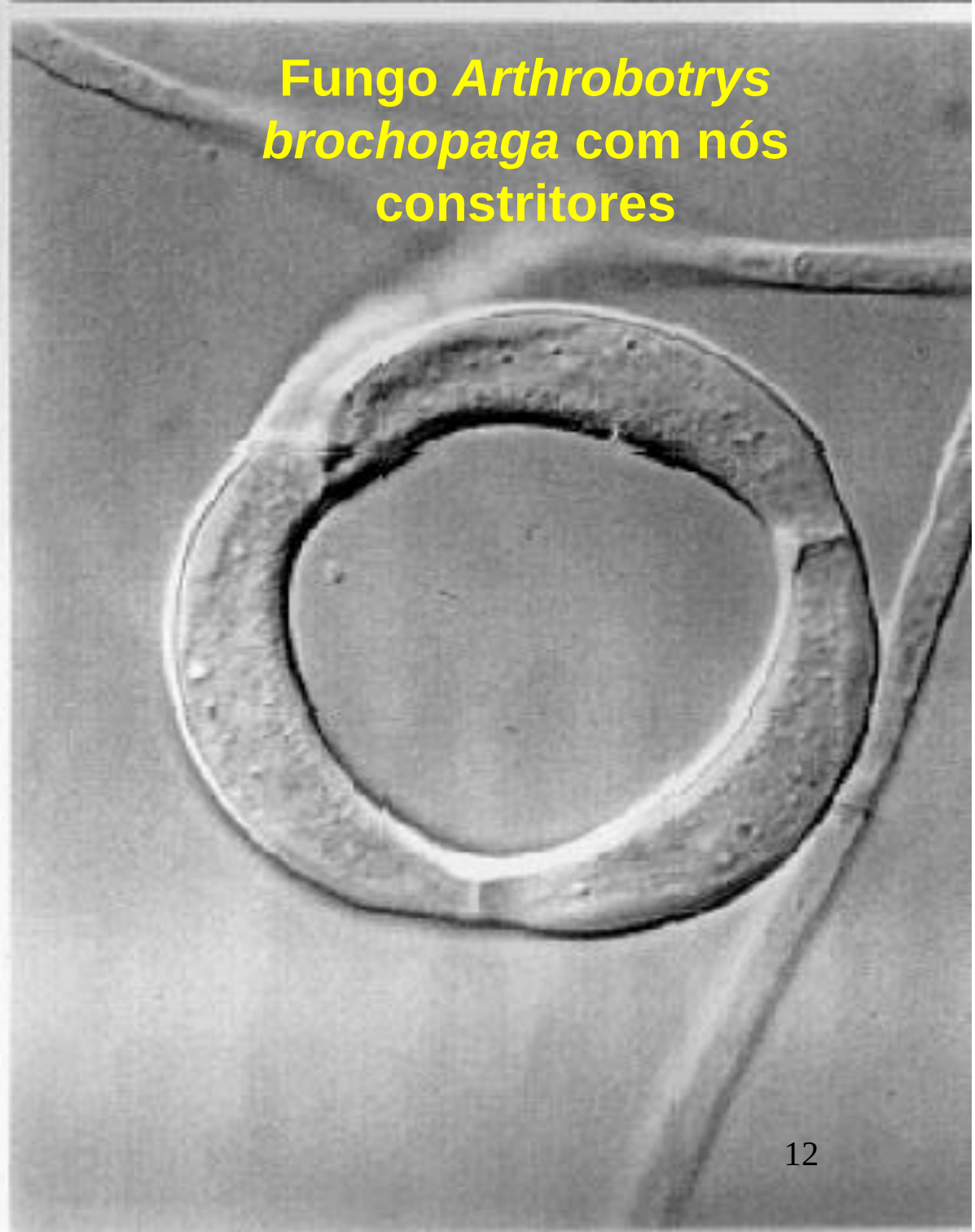
(Hernández et al, 2014)



Fungo *Duddingtonia flagrans* com redes adesivas e armadilhas



(Buzzati et al, 2017)



Fungo *Arthrobotrys brochopaga* com nós constritores

Fungos filamentosos

Biota normal do solo

Inócuos

FSP sobre Ovos e L3

**Formas de resistência
no ambiente**

**CONTROLO
AMBIENTAL**

**L3 de estrongilídeo de equídeo
capturada por hifas fúngicas
(400X)**



(Original)

COPROCULTURAS

Grupo *Duddingtonia*



Grupo Controlo



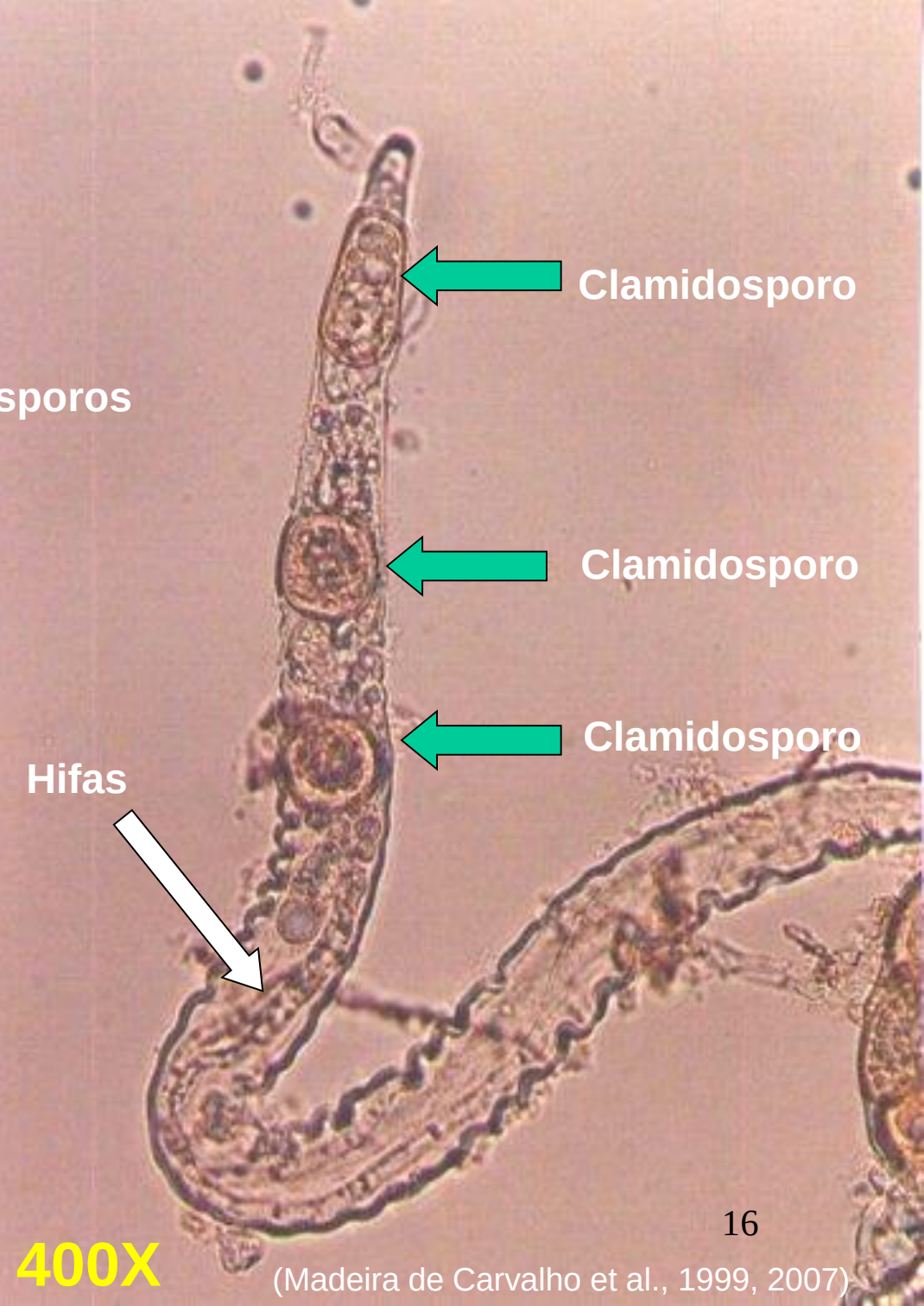
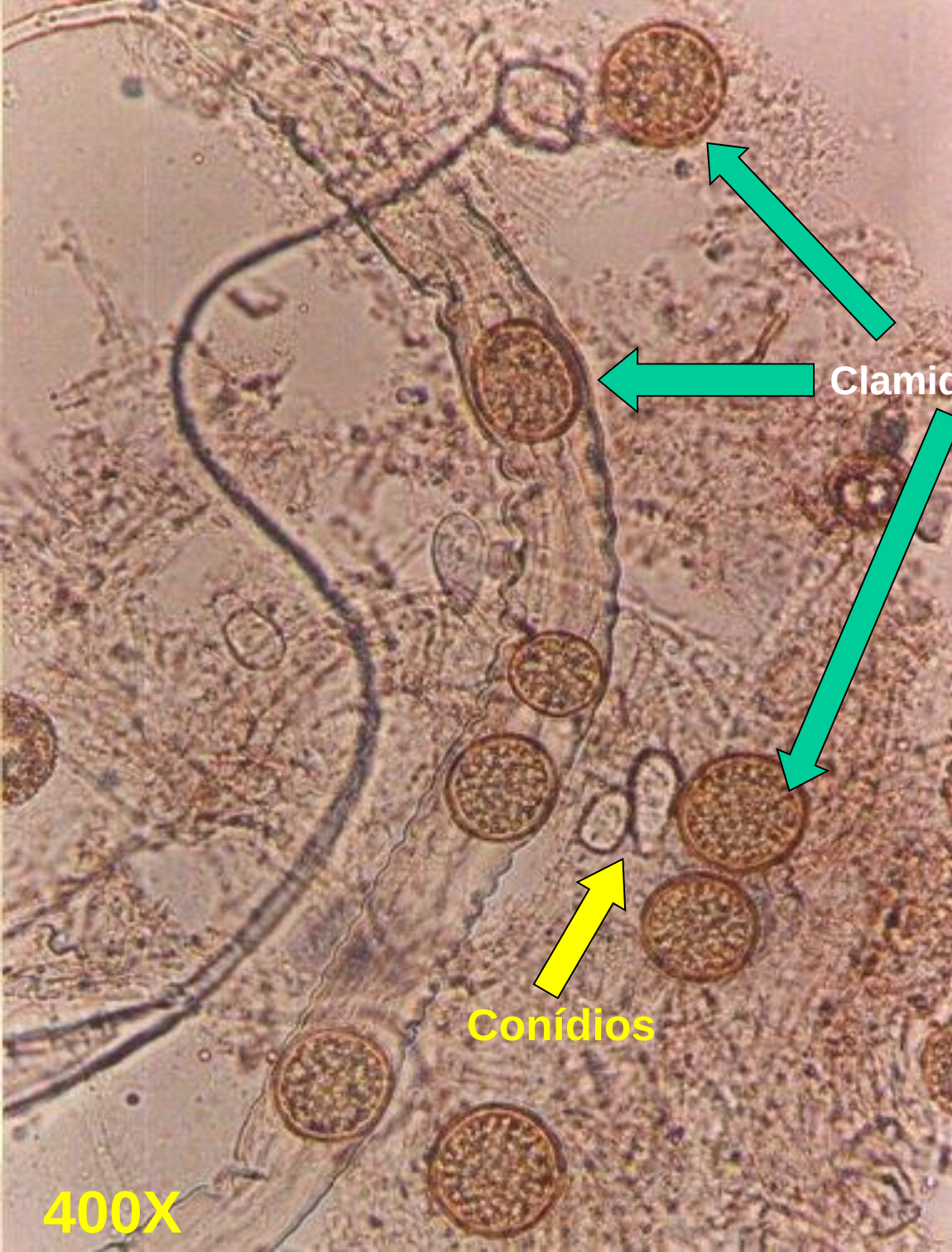
(Madeira de Carvalho et al., 1999, 2007)

**Clamidosporos (pontos pretos) e hifas
(estruturas filamentosas)**

40X

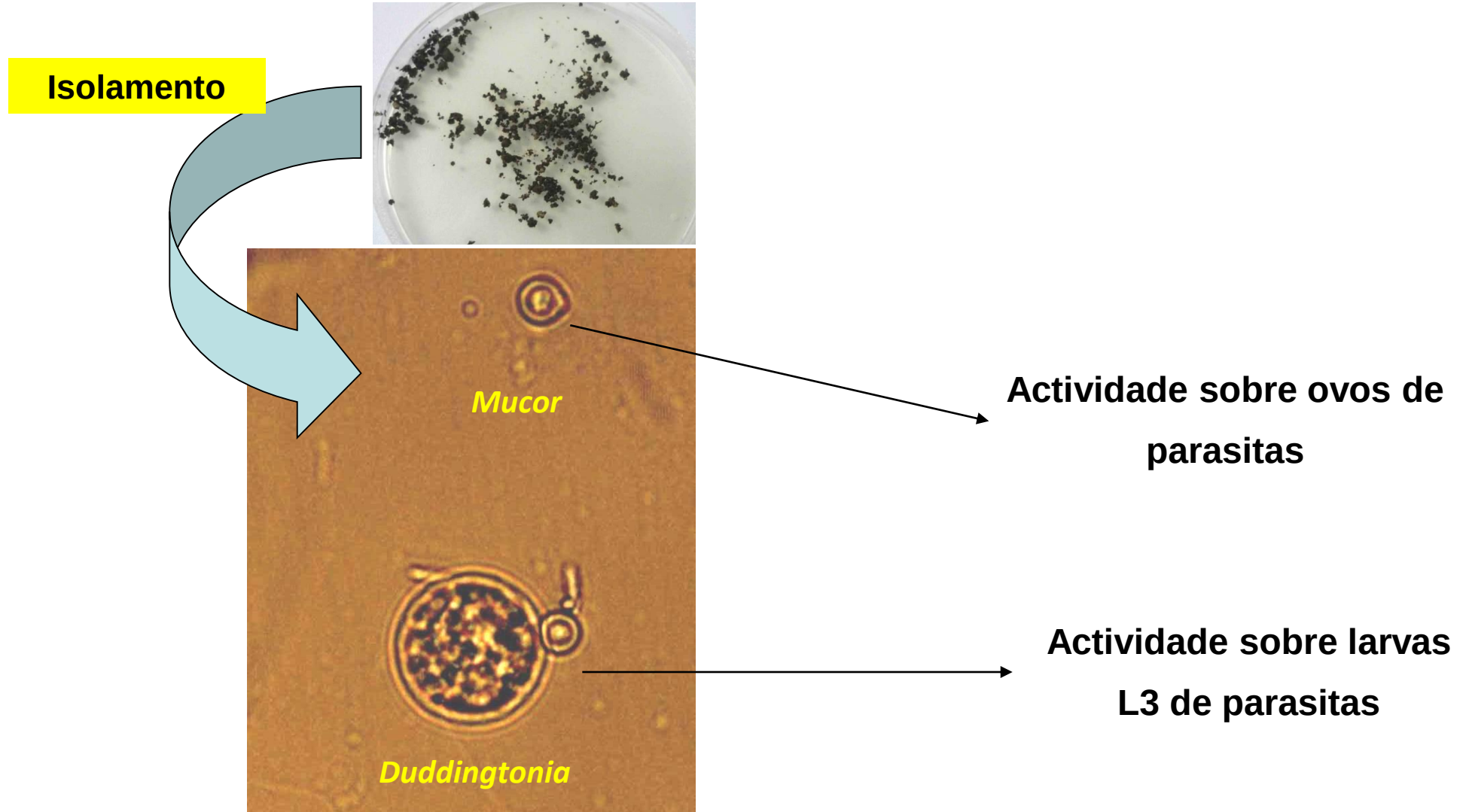
(Originais)

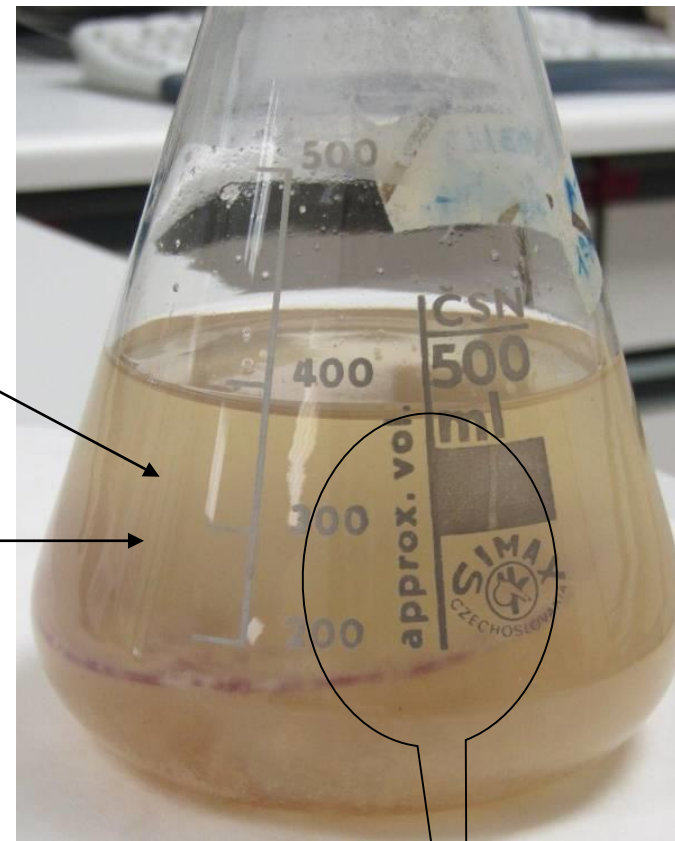
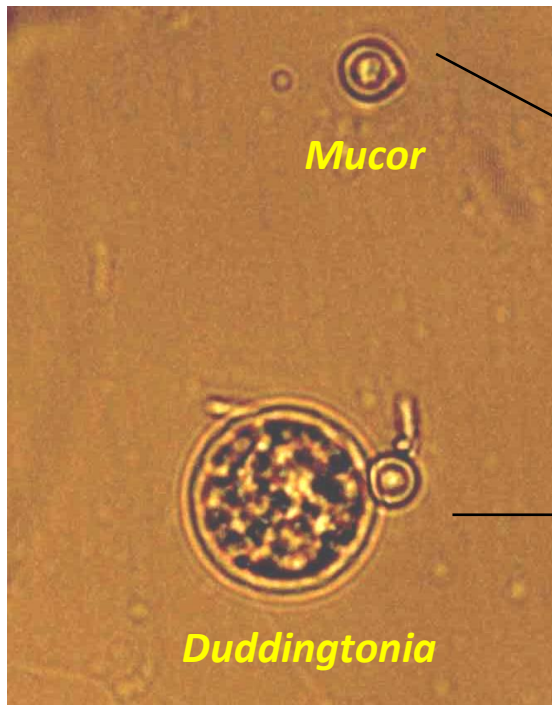
100X



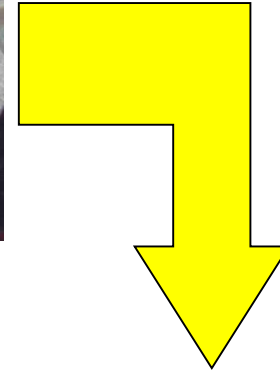
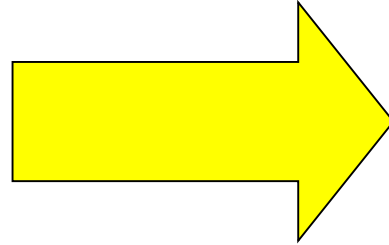
Controlo biológico de helmintes com fungos *Duddingtonia flagrans* + *Mucor circinelloides*.

Solo: diferentes componentes como **fungos**, bactérias, vírus... que podem desenvolver certa actividade contra os parasitas





Produção em simultâneo de esporos de fungos em meio líquido com actividades complementares: sobre os ovos e as larvas L3 de nemátodes parasitas GI.



**Adição da mistura de
esporos ao concentrado
dos animais**

**(*Duddingtonia flagrans* +
Mucor circinelloides), numa
concentração de 2×10^6
esporos/kg PV**



2. Estudos de campo e laboratoriais com FSP no controlo biológico de parasitoses gastrointestinais de aves e mamíferos



Ovis musimon



Antilope cervicapra



Equus quagga



Equus asinus



Equus africanus asinus

MUFLÕES

Em ambiente natural são resistentes às parasitoses.



Em pastagens confinadas aumenta a taxa de infecção e a predisposição para a doença também!

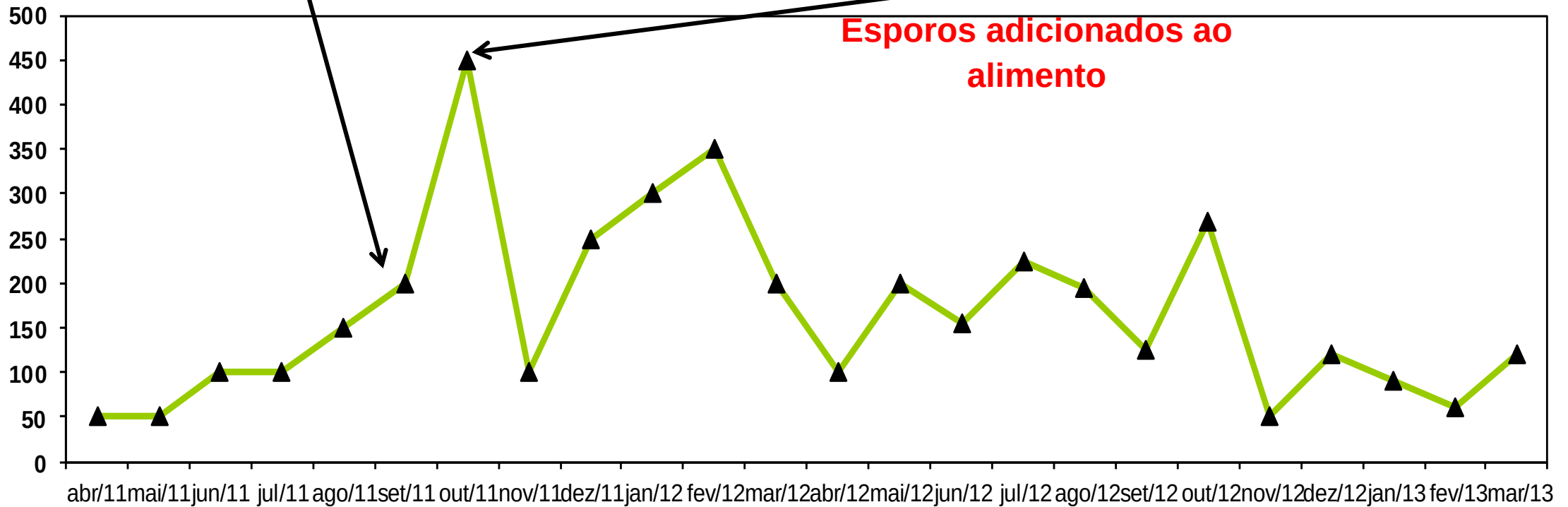
Benzimidazóis

MUFLÃO

Benzimidazóis

+

**Esporos adicionados ao
alimento**



(Valderrábano et al, 2013)

OPG

CASO 2 – Cervicapras (*Antilope cervicapra*)

Lavra + esporos

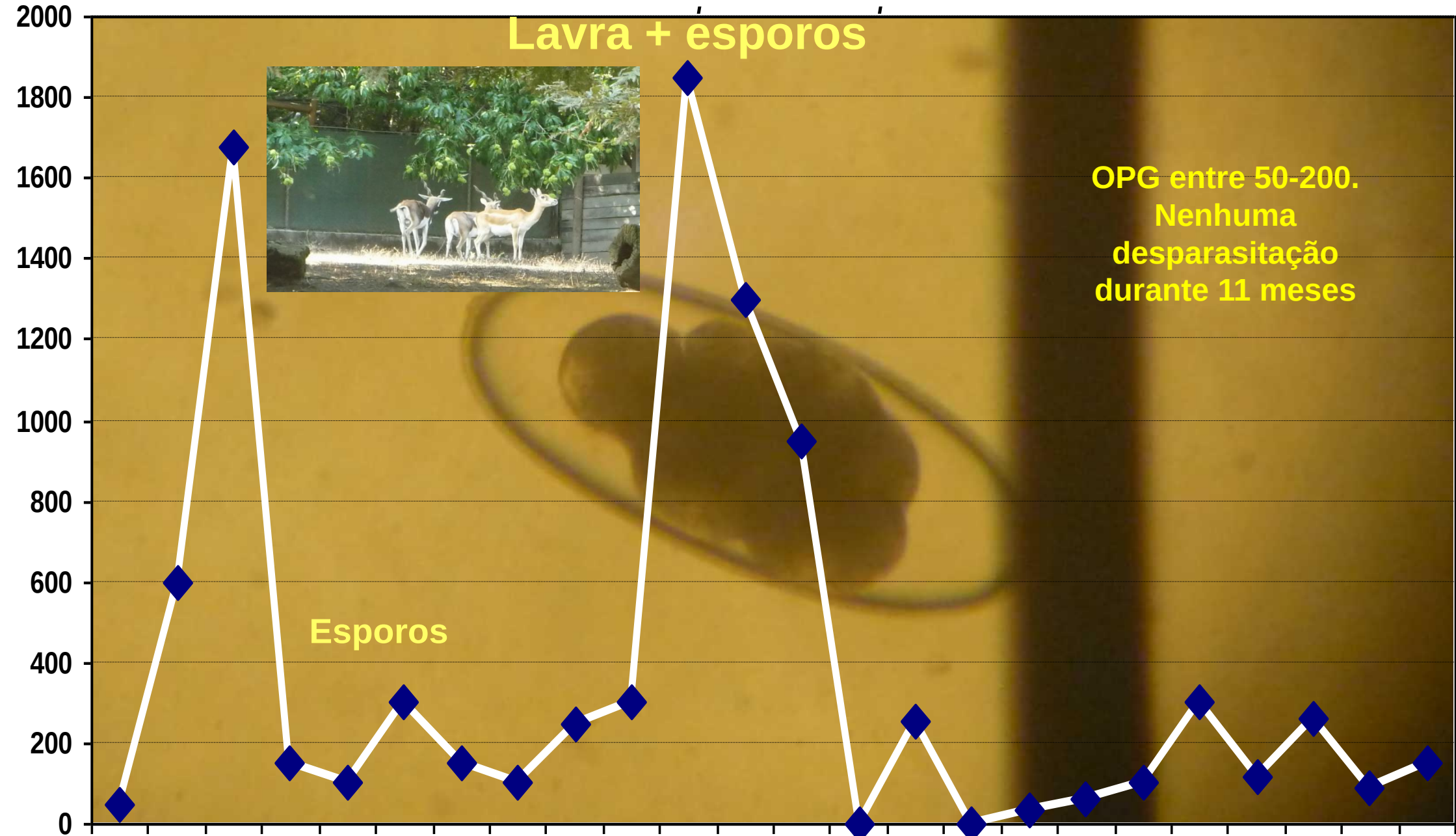


OPG entre 50-200.
Nenhuma
desparasitação
durante 11 meses

Esporos

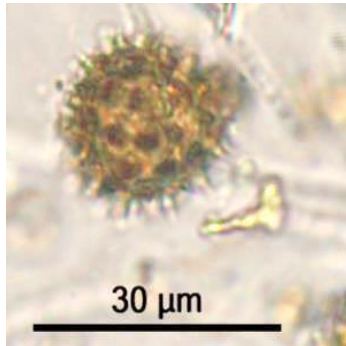
abr-11 may-11 jun-11 jul-11 ago-11 sep-11 oct-11 nov-11 dic-11 ene-12 feb-12 mar-12 abr-12 may-12 jun-12 jul-12 ago-12 sep-12 oct-12 nov-12 dic-12 ene-13 feb-13 mar-13

(Maria Sol Afias et al, 2013)



CASO 3 – Cervídeos

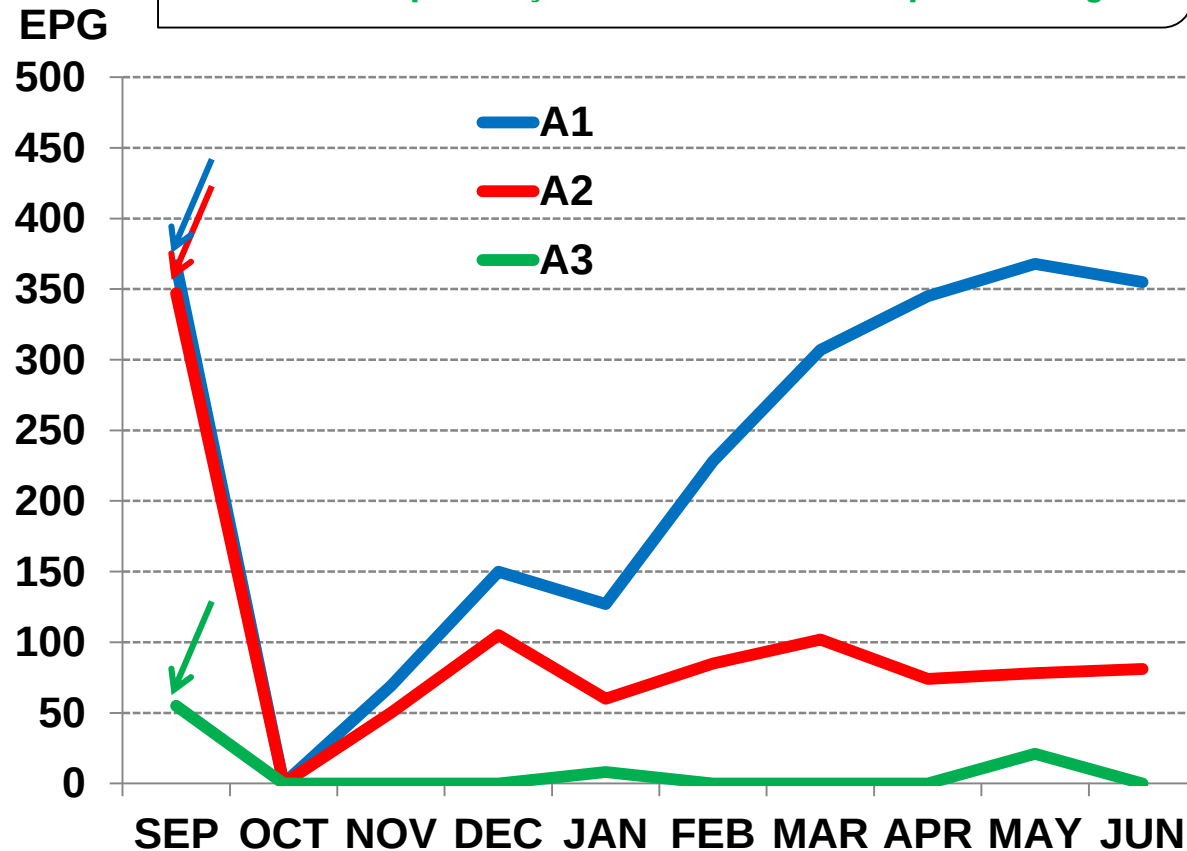
WAPITIS



Esporos de *D. flagrans* em amostras fecais

RESULTADOS

- Ensaio 1: só desparasitação
- Ensaio 2: Desparasitação + Premix com esporos de fungos
- Ensaio 3: Desparasitação + Concentrado com esporos de fungos



CASO 4 – Equídeos



Journal of Equine Veterinary Science

journal homepage: www.j-evs.com



Original Research

A Preliminary Study of the Biological Control of Strongyles Affecting Equids in a Zoological Park

Mariasol Arias DVM, PhD^a, Cristiana Cazapal-Monteiro DVM^a, Esther Valderrábano DVM^b, Silvia Miguélez DVM^a, José Luis Rois DVM^b, María Eugenia López-Arellano DVM, PhD^c, Luis Madeira de Carvalho DVM, PhD^d, Pedro Mendoza de Gives DVM, PhD^c, Rita Sánchez-Andrade PhD^a, Adolfo Paz-Silva DVM, PhD, DipEVPC^a



Zebra da planície
(*Equus quagga*)
3 zebras adultas,
1 macho e 2 fêmeas



Burro Europeu
(*Equus asinus*)
6 adultos
3 machos e 3 fêmeas

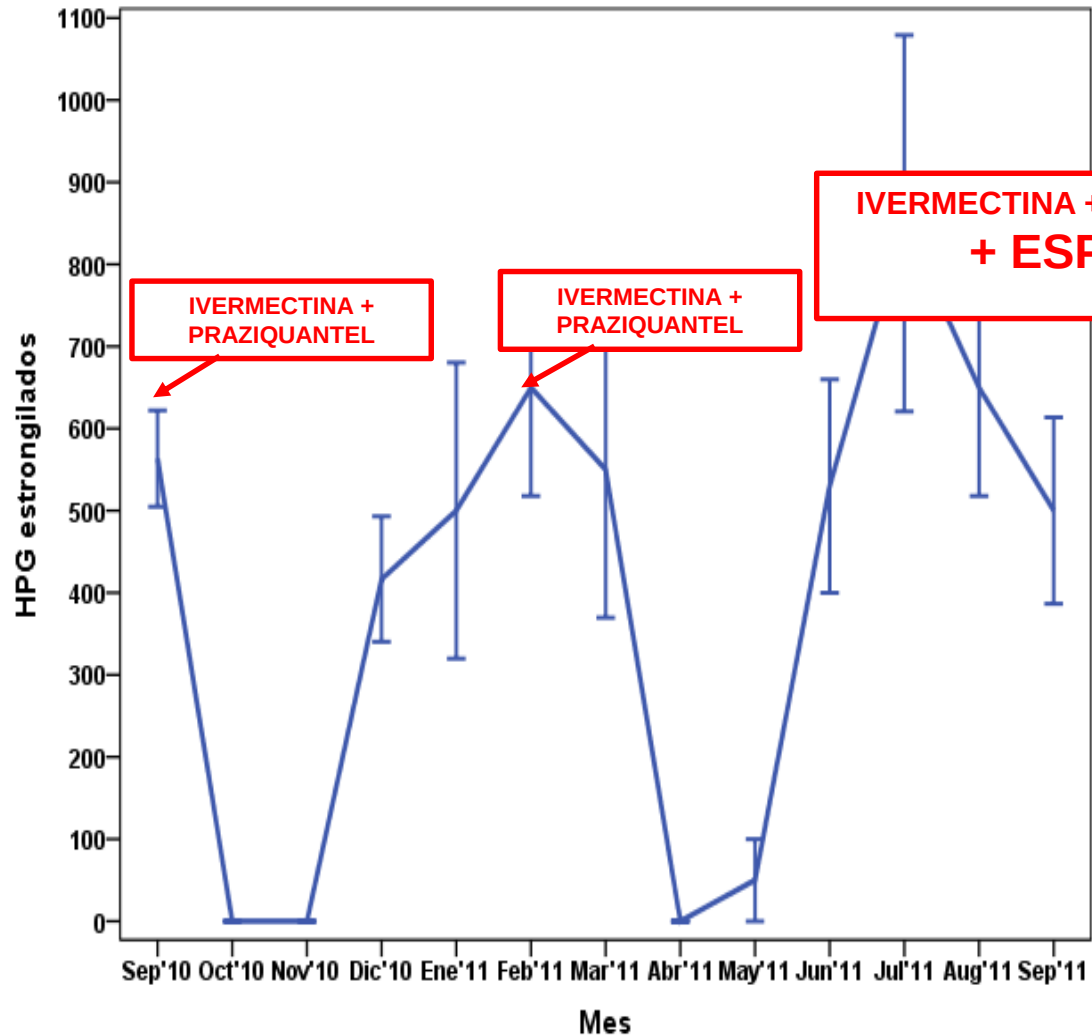


Burro Africano
(*Equus africanus asinus*)
6 adultos
1 macho e 5 fêmeas

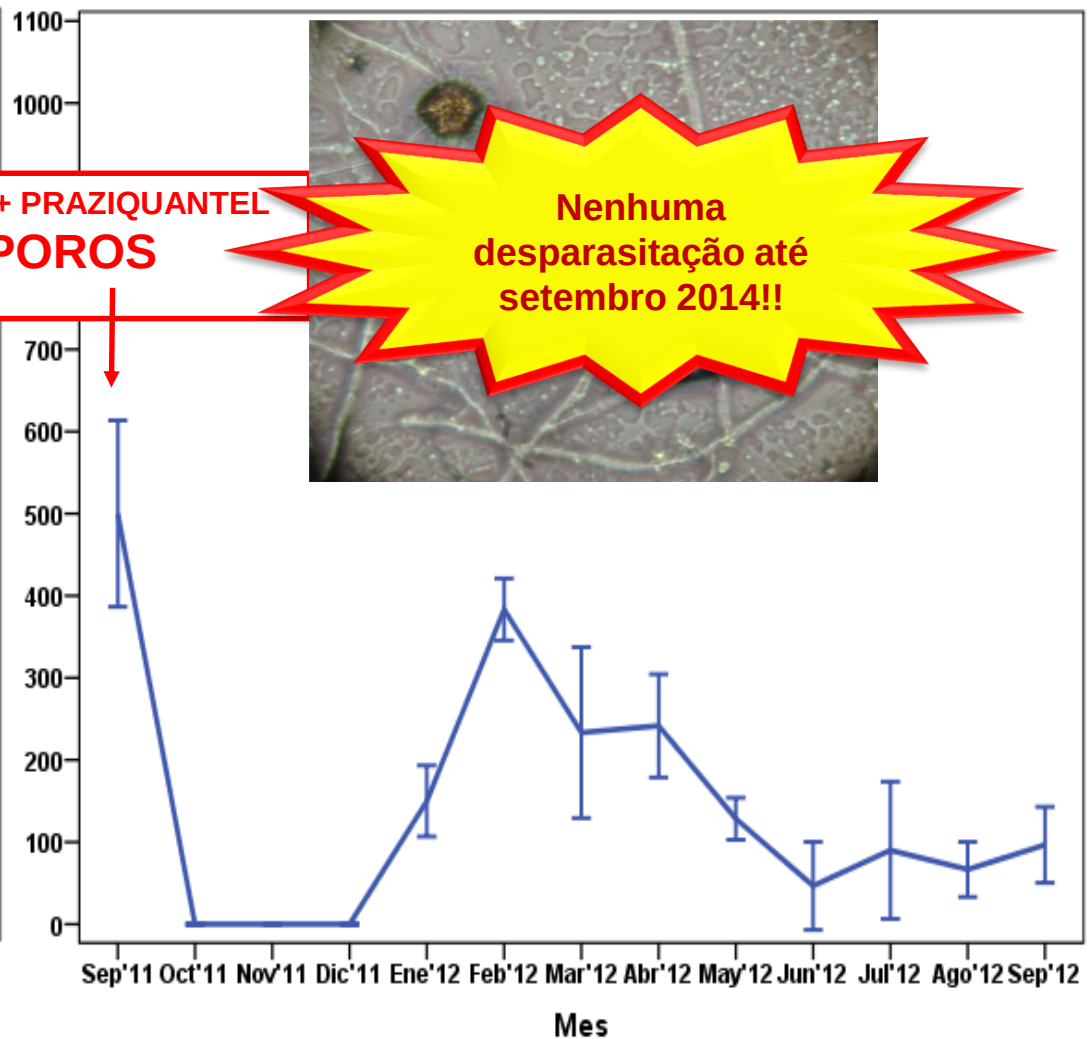
Desparasitações prévias com Ivermectina + Praziquantel.
Administração quinzenal de uma mistura de esporos de *D. flagrans* + *M. circinelloides*, 2×10^6 esporos/kg pv, ao concentrado.

RESULTADOS MÉDIOS DE REDUÇÃO DO OPG COM ANTIHELMINTICOS (GRÁF. 1) E ANTIHELMINTICOS + FUNGOS (GRÁF. 2)

GRÁF. 1

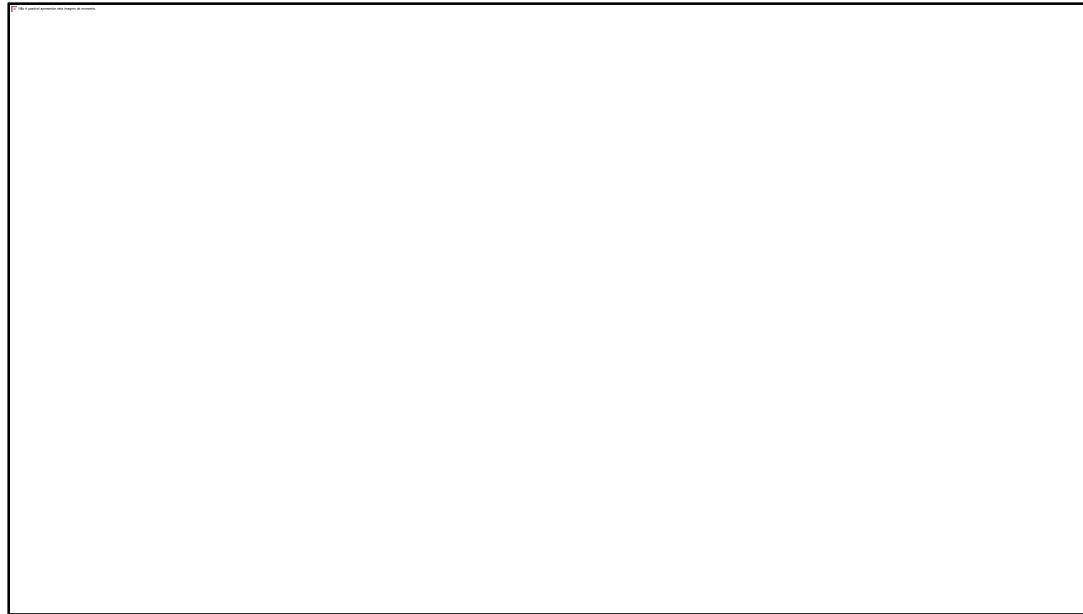


GRÁF. 2



Caso 5 – Aves Domésticas e Exóticas (Lozano, 2022)

- Todos os isolados exibiram ação lítica contra as coccídias, ao final de 1 mês de incubação em Agar-Água
- No ensaio com os copos, foi possível concluir que uns isolados apenas tinham atividade coccidiostática (até 85% de eficácia), enquanto outros eram também coccidicidas (até 22% de eficácia)



(Lozano, 2022)

- Todos manifestaram ação lítica nas coccídias ao fim de 30 dias de incubação à temp. ambiente



Article

Control of Strongyles in First-Season Grazing Ewe Lambs by Integrating Deworming and Thrice-Weekly Administration of Parasitocidal Fungal Spores

Mathilde Voinot ¹, Rodrigo Bonilla ², Sérgio Sousa ^{3,4}, Jaime Sanchís ⁵, Miguel Canhão-Dias ^{4,6}, José Romero Delgado ⁷, João Lozano ⁴ , Rita Sánchez-Andrade ¹ , María Sol Arias ¹ and Luís Madeira de Carvalho ^{4,*}

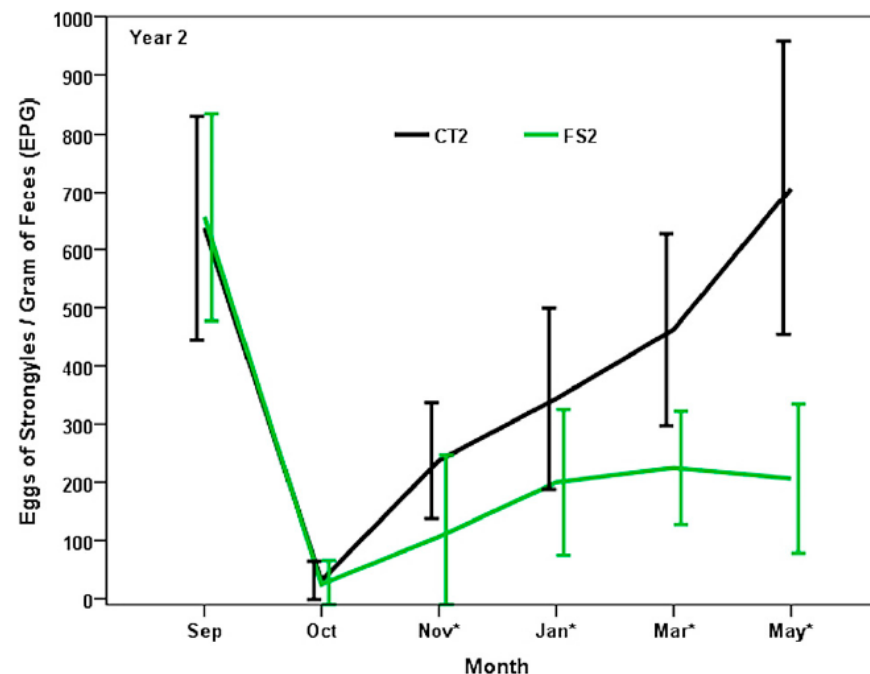
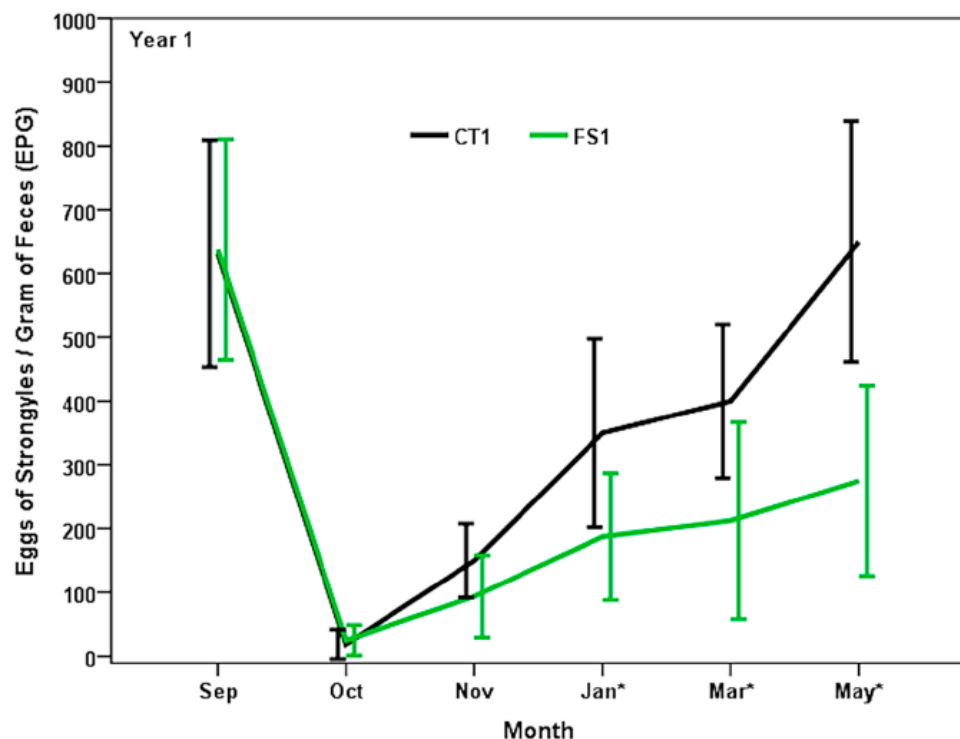


Figure 1. Dynamics of strongyle eggs per gram (EPG) of feces during the first-season grazing Latxa ewe lambs dewormed in September. CT: controls, not exposed to fungi; FS: provided a dosage of 10^6 chlamydospores of *M. circinelloides* and 10^6 chlamydospores of *D. flagrans*, thrice a week, from mid-September to May. * Month with a significant difference between EPG of FS and CT groups in both years of the field trials.

CASO 7 – Bovinos

Safety of daily administration of pellets containing parasiticial fungal spores over a long period of time in heifers

M. Voinot, F. Arroyo, J. Á. Hernández, A. Paz-Silva, R. Sánchez-Andrade, R. Bermúdez, J. Guillot, L. M. Madeira de Carvalho, M. S. Arias & C. F. Cazapal Monteiro

ABSTRACT

The innocuousness of the prolonged ingestion of commercial nutritional pellets containing spores of the fungal species *Mucor circinelloides* and *Duddingtonia flagrans* on grazing dairy heifers was tested. During two years, one group (G-F) received daily 2.5 kg pellets with 3×10^5 spores each fungus / kg pellet, and group G-C without them. In the third year, ruminants in both groups received spore-free feed. Evaluation of red and white blood cell parameters (RBC and WBC, respectively) was performed monthly. Alterations on the digestive activity, respiratory function and reproductive functionality were also recorded. Three heifers of G-F were necropsied in the second year of study and four in the third. Samples collected from different tissues and organs were preserved in 10% neutral buffered formalin, sections included in paraffin and stained with haematoxylin/eosin, periodic acid Schiff, Fontana–Masson and Ziehl–Neelsen. During the first two years, normal numbers of RBC and WBC were recorded in G-F, by values of RBC and haemoglobin (HB) below physiological standards in G-C. No differences between the two groups were obtained in the third year, with RBC and HB levels lower than normal (physiological). No fungal structures or lesions related to fungal administration were visualised in the tissues of G-F. It is concluded that the daily ingestion of pellets containing spores of the parasiticial fungi *M. circinelloides* and *D. flagrans* over a long period of time is completely safe.

3. Perspetivas para o uso prático de FSP: o Futuro é hoje!

DISTRIBUIÇÃO DOS FUNGOS PARASITICIDAS



<http://ak4.picdn.net/shutterstock/videos/18827474/thumb/1.jpg>



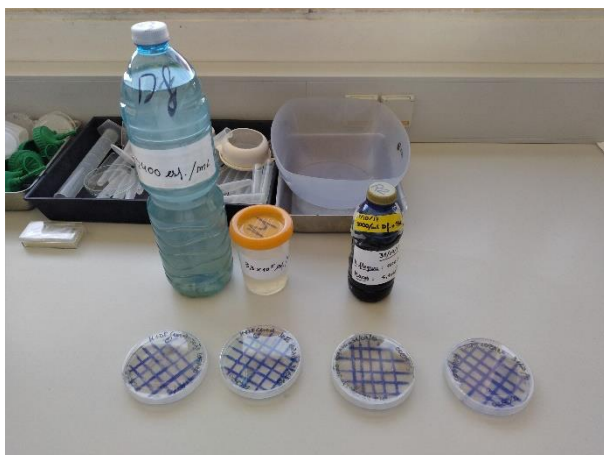
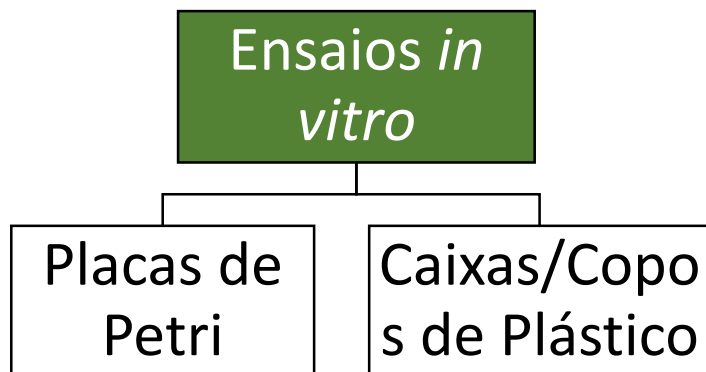
<https://teara.govt.nz/files/p17488nsil.jpg>



<https://www.insidertradings.org/wp-content/uploads/2018/03/Ruminant-Feed-Premix-Market.jpg>



Tipos de ensaios



(Lozano, 2019)



(Evangelista, 2018)



Contents lists available at ScienceDirect

Veterinary Parasitology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vetpar

Research paper

Feeding horses with industrially manufactured pellets with fungal spores to promote nematode integrated control



José Ángel Hernández, Fabián Leonardo Arroyo, José Suárez¹,
Cristiana Filipa Cazapal-Monteiro, Ángel Romasanta, María Eugenia López-Arellano²,
José Pedreira, Luis Manuel Madeira de Carvalho³, Rita Sánchez-Andrade, María Sol Arias,
Pedro Mendoza de Gives², Adolfo Paz-Silva*

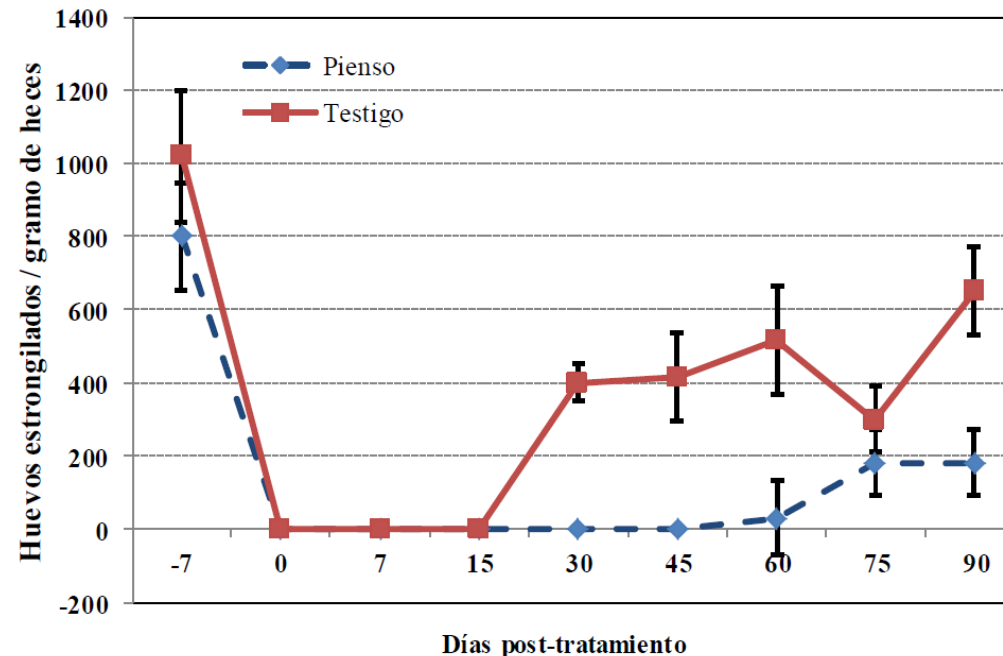
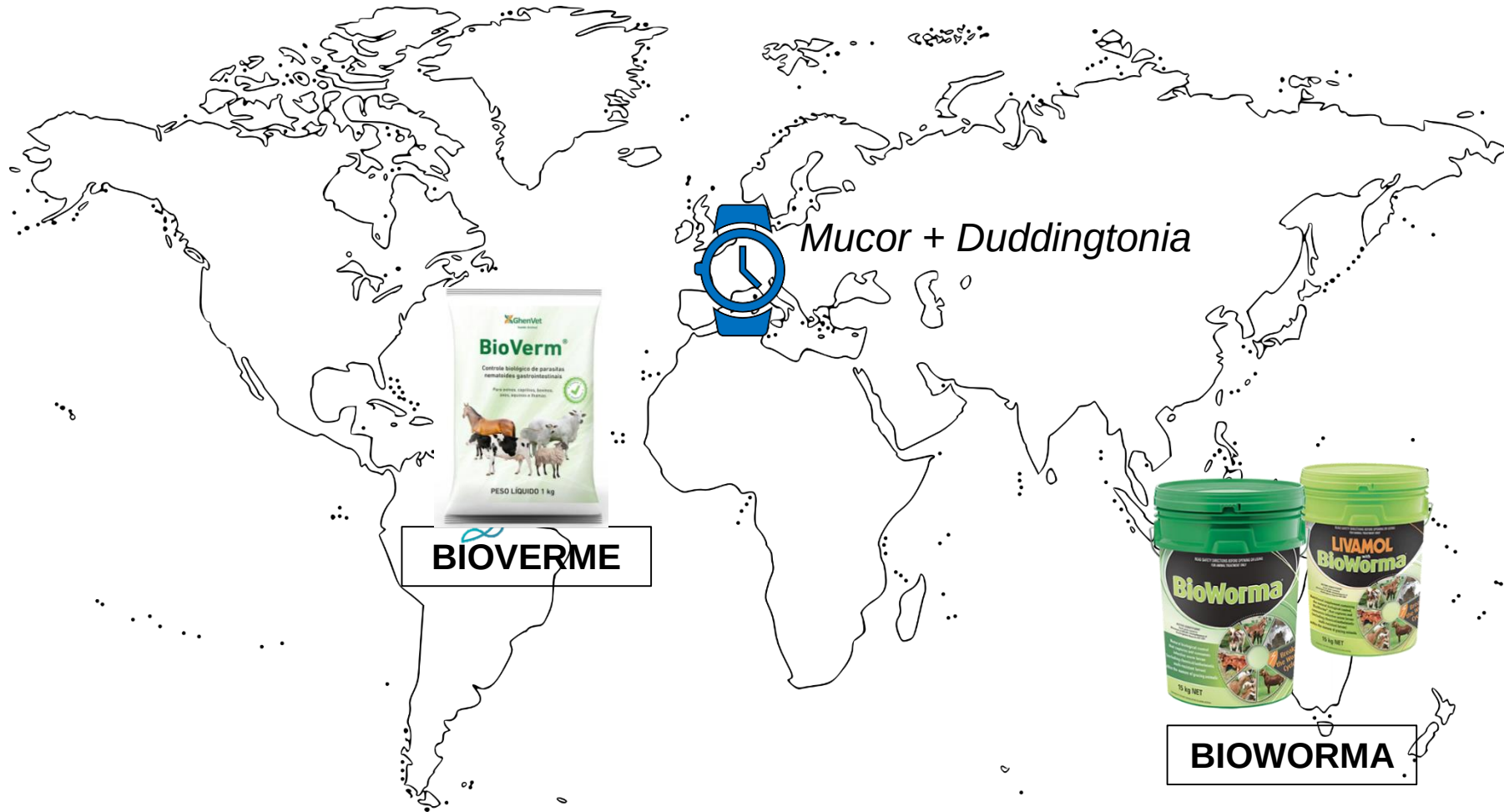


Figura 1 - Eliminación de huevos de nematodos gastrointestinales (Estrongilados) en los grupos tratamiento (Pienso) y control (Testigo).

Produtos comerciais na atualidade



Legislação nacional e europeia aplicável

- Não há legislação específica, mas...

Pode ser considerado:

- Produto de Uso Veterinário (PUV): Decreto-Lei 237/2009
- Aditivo Alimentar: Decreto-Lei 77/2003
- Produto Biocida: Decreto-Lei 140/2017

Microrganismos estão também contemplados nos Regulamentos (CE) nº 889/2008 + 848/2018
(Produção Biológica)





4. Conclusões

1

Duddingtonia flagrans e *Mucor circinelloides*:
espécies de FSP
mais testadas

2

Esporos na
alimentação
fornecem um
controle
sustentável
para os nemátodos
gastrointestinais

3

Baixo OPG
durante 6-12
meses, evita AH
frequentes,
controle
recomendado para
aves e mamíferos
domésticos, de
zoo e selvagens

4

Controlo biológico
de parasitas com
FSP: tratamentos
preventivos,
complementares
ou curativos

AGRADECIMENTOS

Organização XIII Jornadas Hosp. Vet. Muralha Évora
António Serafim e Dra. Ana Romão

Financiamento Portugal (FCT)
CIISA/FMV Projeto UIDB/00276/2020 e
LA/P/0059/2020 - AL4Animals
João Lozano Bolsa de Doutoramento
2020.09037.BD.

Financiamento Espanha

- **PID2020-120208RB-I00 (Agencia Estatal de Investigación, Ministerio de Ciencia e Innovación, España; FEDER).**
- **ED431B 2021/07 (Consellería de Cultura, Educación e Universidades, Xunta de Galicia)**

**OBRIGADO PELA
ATENÇÃO!**



Perguntas?