

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Dionatan Teixeira de Oliveira

**ATIVIDADE OVICIDA *IN VITRO* DE *Pleurotus ostreatus* var.  
*florida* SOBRE *Ancylostoma* sp. E *Toxocara canis***

Santa Maria, RS  
2019

**Dionatan Teixeira de Oliveira**

**ATIVIDADE OVICIDA *IN VITRO* DE *Pleurotus ostreatus* var. *florida* SOBRE  
*Ancylostoma* sp. E *Toxocara canis***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Sanidade e Reprodução Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Medicina Veterinária**

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Silvia Gonzalez Monteiro

Santa Maria, RS  
2019

Oliveira, Dionatan Teixeira  
ATIVIDADE OVICIDA IN VITRO DE *Pleurotus ostreatus*  
var. *florida* SOBRE *Ancylostoma caninum* E *Toxocara canis*  
/ Dionatan Teixeira Oliveira.- 2019.  
42 p.; 30 cm

Orientadora: Silvia Gonzalez Monteiro  
Coorientadora: Luis Antônio Sangioni  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós  
Graduação em Medicina Veterinária, RS, 2019

1. *Ancylostoma* 2. *Toxocara* 3. *Pleurotus* 4. Ovicida I.  
Gonzalez Monteiro, Silvia II. Sangioni, Luis Antônio III.  
Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

---

© 2018

Todos os direitos autorais reservados a Dionatan Teixeira de Oliveira. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

Fone: (55) 99197-9346 - e-mail: [medvetdionatan@gmail.com](mailto:medvetdionatan@gmail.com)

---

Dionatan Teixeira de Oliveira

**ATIVIDADE OVICIDA *IN VITRO* DE *Pleurotus ostreatus* var. *florida* SOBRE  
*Ancylostoma* sp. E *Toxocara canis***

Dissertação apresentada ao curso de pós-graduação em Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção de grau de **Mestre em Medicina Veterinária**.

**Aprovado em 11 de março de 2019:**

---

Silvia Gonzalez Monteiro, Dr<sup>a</sup>. (UFSM)  
(Presidente, orientadora)

---

Luciana Fillipin Cossetin, Dr<sup>a</sup> (UFSM)

---

Matheus Dallaméa Baldissera, Dr<sup>a</sup> (UFSM)

Santa Maria, RS  
2019.

## DEDICATÓRIA

*“Dedico a minha família, minha mãe Neli Terezinha e meu pai Juari Oliveira que infelizmente não está mais entre nós e faz falta diariamente na minha vida.”*

## AGRADECIMENTOS

À Deus.

À minha mãe Neli Terezinha Teixeira de Oliveira, minha heroína, pois passou por altos e baixos para me permitir chegar até aqui. Me acalmou nos momentos de tristeza e sempre esteve disposta e me ajudar. O meu melhor eu sempre darei por ti.

Ao Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária pela possibilidade de realização do curso de mestrado.

À minha orientadora Professora Dra. Sílvia Gonzalez Monteiro pela disponibilidade da vaga, pela ajuda na construção deste trabalho e por toda amizade ao longo dos meus anos no LAPAVET.

Aos meus colegas de laboratório, por toda a ajuda, em especial a Leticia dos Santos Petry por nunca me abandonar, me incentivar a fazer o meu melhor, foram algumas coletas nos bairros e muitos finais de semana de leitura. Também em especial a Marjorie Giacometi que me ajudou muito, sempre deu muitas ideias, sempre esteve disposta a me ajudar. O período do mestrado foi melhor com vocês e eu vou levar essa amizade eternamente.

À todo pessoal da internação do HVU pela ajuda na coleta de amostras, pois a ajuda de todos foi essencial para realização desta pesquisa.

À todos os estagiários que me ajudaram de uma maneira ou de outra, vocês são o braço direito do laboratório e merecem todo o reconhecimento do mundo pelo trabalho que desempenham.

Aos meus amigos, principalmente ao Matheus Alves, Andressa Rodrigues, Amanda Coletto, Mauricio Finger, Luciana Ciliato, Bárbara Hofmann, Manoela Pacheco, Tiago Souza e Daniele Mezzomo. Vocês são meus tesouros e me proporcionaram os melhores momentos da minha vida.

Ao CNPQ, por possibilitar a execução deste trabalho por meio da bolsa a mim concedida.

## RESUMO

### ATIVIDADE *IN VITRO* DE *Pleurotus ostreatus* var. *florida* SOBRE *Ancylostoma* sp. E *Toxocara canis*

AUTOR: Dionatan Teixeira de Oliveira  
ORIENTADORA: Silvia Gonzalez Monteiro

Os animais de companhia são acometidos por uma infinidade de afecções parasitárias. Dentre elas se destacam as infecções causadas por ancilostomídeos e ascarídeos, pois estes, são responsáveis por uma alta taxa de mortalidade de cães e gatos, principalmente na fase inicial de vida. Além disso, parasitos do gênero *Toxocara* e *Ancylostoma* apresentam grande importância médica veterinária, pois são agentes das zoonoses “Larva *migrans* visceral” e “Larva *migrans* cutânea” respectivamente. Muitas pesquisas estão sendo desenvolvidas com intuito de minimizar os danos associados a estes parasitos, contudo, uma área ainda pouco explorada é relacionada a produtos naturais. Os fungos do gênero *Pleurotus* são bastante requisitados no mercado internacional tendo aplicações gastronômicas e medicinais, entretanto suas atividades nematicidas sobre nematóides de carnívoros ainda não foi relatada. Em busca disso, aproximadamente 1000 ovos de *Ancylostoma* sp. foram vertidos em placas de cultura de 6 poços, e em cada placa foi aplicada uma solução com diferentes concentrações do extrato aquoso de *Pleurotus ostreatus* var. *florida* (50mg/ml, 25 mg/ml, 12,5 mg/ml, 6,25 mg/ml, 3,12 mg/ml). As placas foram incubadas por 48h a 26°C, e após o período, a leitura de eclosão de larvas foi realizada. No segundo experimento 1000 ovos de *Toxocara canis* foram vertidos em placas de cultura de 6 poços, e aplicada as mesmas concentrações anteriores do extrato aquoso e incubadas a 26° C por 21 dias. A cada 7 dias foram realizadas leituras em microscópio invertido para classificação da evolução embrionário dos ovos. Em ambos experimentos o controle negativo foi composto apenas de solução com ovos e água destilada. Foram realizadas triplicatas em todos os grupos de cada teste. No teste com *Ancylostoma* sp., houve um percentual de redução de eclodibilidade de no 67,16% em relação ao controle, tendo a concentração de 3,12% o maior percentual de eclodibilidade de larvas dentre as concentrações testadas. Já o ensaio experimental com ovos de *Toxocara canis*, todos as concentrações foram eficazes na diminuição de ovos larvados a partir do décimo quarto dia de avaliações. O *Pleurotus ostreatus* var. *florida* mostrou possuir uma boa atividade ovicida tanto sobre ovos de *Ancylostoma* spp., quanto sobre ovos de *T. canis*, demonstrando um grande potencial na utilização como controle biológico do nematódeos.

Palavras-chave: ancilostomídeos, cogumelo ostra, ovicida, nematódeos, controle biológico

## ABSTRACT

### IN VITRO ACTIVITY OF *Pleurotus ostreatus* var. *florida* ON *Ancylostoma* sp. AND *Toxocara canis*

AUTHOR: Dionatan Teixeira de Oliveira

ADVISOR: Silvia Gonzalez Monteiro

Companion animals are plagued by a multitude of parasitic diseases. Among them are the infections caused by hookworms and ascarids, as these are responsible for a high death rate of dogs and cats, especially in the initial phase of life. In addition, parasites of the genus *Toxacara* and *Ancylostoma* present great veterinary medical importance, as they are agents of zoonoses "Larva *migrans* visceral" and "Larva *migrans* cutaneum", respectively. Many researches are being developed in order to minimize the damages associated with these parasites, however, an area not yet explored is related to natural products. The fungi of the genus *Pleurotus* are highly requested in the international market, with gastronomic and medicinal applications, but their nematicidal activities on carnivorous nematodes have not yet been reported. In search of this, approximately 1000 eggs of *Ancylostoma* spp. were poured into 6-well culture plates, and a solution with different concentrations of the aqueous extract of *Pleurotus ostreatus* var. *florida* (50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.12%). The plates were incubated for 48 h at 26 ° C, and after the period, larval hatching was performed. In the second experiment 1,000 *Toxocara canis* eggs were poured into 6-well culture plates and the same concentrations of the aqueous extract were applied and incubated at 26 ° C for 21 days. Every 7 days, the egg embryo evolution was classified. In both experiments the negative control was composed only of solution with eggs and distilled water. Triplicates were performed in all groups of each test. In the test with *Ancylostoma* spp., There was a percentage of reduction of hatchability up to 67.16% in relation to the control, and the concentration of 3.12% was the highest percentage of hatchability of larvae among the tested concentrations. In the experimental trial with *Toxocara canis* eggs, all concentrations were effective in the reduction of larval eggs from the fourteenth day of evaluations. *Pleurotus ostreatus* var. *florida* showed to have a good ovicidal activity both on *Ancylostoma* spp. eggs and on *Toxocara canis* eggs, demonstrating a great potential in the biological control of the nematode.

Key words: ancylostomidae, oyster mushroom, ovicide, nematodes, biological control

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Número médio de larvas e porcentagem de redução de eclosão de larvas <i>A. caninum</i> submetidos aos tratamentos com diferentes concentrações de <i>P. ostreatus</i> . em 48 horas .....	35
Tabela 2 - Estatística descritiva para a proporção de ovos larvados de <i>Toxocara canis</i> aos 14 dias de experimento.....	35
Tabela 3- Estatística descritiva para a proporção de ovos larvados de <i>Toxocara canis</i> aos 21 dias de experimento.....	35

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2.1.1 - Ovos de <i>Ancylostoma</i> sp.....	14
Figura 2.4 – <i>Pleurotus ostreatus</i> var. <i>florida</i> .....	22

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1. <i>ANCYLOSTOMA</i> sp.....	13
2.1.1. Morfologia .....	13
2.1.2. Ciclo Biológico.....	14
2.1.3. Sinais Clínicos .....	15
2.1.4. Diagnóstico .....	15
2.1.5. “Larva <i>Migrans</i> Cutânea”.....	16
2.2. <i>TOXOCARA CANIS</i> .....	16
2.2.1. Morfologia .....	17
2.2.2. Ciclo biológico .....	17
2.2.3. Sinais clínicos .....	18
2.2.4. Diagnóstico .....	18
2.2.5. “Larva <i>Migrans</i> Visceral” .....	19
2.3. CONTROLE BIOLÓGICO: FUNGOS NEMATÓIDES .....	20
2.4. <i>PLEUROTUS OSTREATUS</i> .....	21
3. MANUSCRITO .....	24
4. CONCLUSÃO .....	36
5. REFERÊNCIAS .....	37
APÊNDICE 1 – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO.....	42

## 1. INTRODUÇÃO

As infecções parasitárias são responsáveis por uma grande parte da mortalidade de animais de companhia, como demonstra Figuera *et al.* (2008) em seu estudo, onde as verminoses intestinais estão entre as cinco causas mais frequentes de óbito em cães na região central do Rio Grande do Sul. A convivência de humanos com animais em áreas públicas tem aumentado significativamente as infecções zoonóticas, uma vez que os animais disseminam muitos ovos nestes locais (MARQUES, 2012, CIRNE *et al.* 2017, FERREIRA *et al.* 2016, GUIMARÃES *et al.* 2005) e o crescente número de animais nas ruas sem tutor tornou-se um fator importante no aumento de infecções parasitárias em cães e gatos (BLAZIUS *et al.*, 2005).

Recentemente tem-se investido em pesquisas de controle biológico em busca de um aliado no controle de insetos, vírus, fungos, bactérias, protozoárias, nematoides, entre outros (PARRA, 2002). Dentre estes, os fungos vêm sendo extensivamente estudados, principalmente pelas suas atividades nematicidas.

*Pleurotus ostreatus* var. *florida* (*Pleurotus branco*), um fungo comestível pertencente a ordem Agaricales e a família Pleurotaceae, é apreciado mundialmente devido ao seu delicioso sabor, alta quantidade de vitaminas, proteínas, carboidratos, minerais, e por seu baixo nível de gordura, além de possuir uma grande capacidade de degradar uma variedade de componentes insolúveis tais quais polímeros de lignina. Dentre as atividades terapêuticas já reladas por esta espécie, ainda não existem estudos sobre sua atividade sobre nematoides de carnívoros. Neste contexto, este trabalho teve como objetivo testar a atividade *in vitro* do fungo *Pleurotus ostreatus* var. *florida* sobre ovos de *Ancylostoma* sp. e ovos de *Toxocara canis*.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. *ANCYLOSTOMA* sp.

O *Ancylostoma* está classificado no Reino Metazoa, Filo Nematoda, Classe Secernentea, Ordem Strongylidea, superfamília Ancylostomatoidea, família Ancylostomidae, e subfamília Ancylostominae. São vermes hematófagos, parasitos da mucosa do intestino delgado de vários hospedeiros mamíferos, incluindo o homem (MONTEIRO, 2017). Em alguns casos as larvas podem desenvolver um tipo de resistência, levando a uma mudança nos hábitos alimentares e os vermes passam a se alimentar de pedaços da mucosa intestinal (KALKOFEN, 1987).

Dentre os nematoides que parasitam o intestino delgado de cães destacam-se as espécies *Ancylostoma caninum* e *Ancylostoma braziliense*. O *A. caninum* é o ancilostomídeo com maior distribuição mundial, podendo ser encontrado em todos os continentes, e o *A. braziliense* está limitado às regiões tropicais e subtropicais, principalmente América do Sul, América Central, região do Caribe e parte dos Estados Unidos (PERUCA *et al.*, 2009).

#### 2.1.1. Morfologia

Os ancilostomídeos adultos são helmintos de pequeno tamanho, em torno de 2 cm, caracterizados por apresentarem uma cápsula bucal na sua extremidade anterior seguida de um esôfago musculoso em formato de “clave” (MONTEIRO, 2011). O gênero *Ancylostoma*, possui sua extremidade anterior, em formato característico de gancho que lhe confere a denominação de “hook worm” ou “verme gancho” (URQUHART *et al.*, 1998).

O *A. caninum* possui cápsula bucal subglobular, com três pares de dentes na margem ventral, um par de dentes triangulares dorsais e um par de dentes ventro laterais. O comprimento dos machos varia de 9 a 13 mm e o das fêmeas de 14 a 20 mm. Os machos de *A. caninum* apresentam bolsa copuladora bem desenvolvida na região posterior, além da presença de gubernáculo e espículos que podem ter de 0,73mm a 0,96mm de comprimento (SOULSBY, 1982). As fêmeas apresentam abertura do aparelho genital localizada entre o segundo com o terceiro terço do corpo e os ovários encontram-se dispostos enrolados em torno do tubo digestivo. As fêmeas fazem a postura de milhares de ovos não embrionados diretamente na luz intestinal, chegando a uma média de 16.000 ovos/dia (RIBEIRO, 2004). Estes ovos são elípticos, de casca fina, medem 55-77 µm de comprimento por 34-44 e 7 µm de largura como demonstrados na Figura 2.1.1. (FORTES, 2004). Os ovos dos parasitos do filo Nematoda podem

possuir de uma a três camadas sendo a interna lipoproteica, a intermediária quitinosa e a externa vitelínica (HOMERO, 1984). O *A. braziliense* é bastante semelhante ao *A. caninum* podendo ser diferenciado pela capsula bucal que apresenta um par de dentes laterais bem desenvolvidos e na porção média um par de dentes rudimentares e também através da bolsa copuladora. O comprimento dos machos varia de 5 a 7,5 mm e das fêmeas de 6,5 a 10,5 mm (FORTES, 2004).

Figura 2.1.1. Ovos de *Ancylostoma* sp.



Fonte: Arquivo pessoal

### 2.1.2. Ciclo Biológico

A larva de primeiro estágio eclode no ambiente entre 24 a 48 horas, sob condições adequadas. A L1 irá evoluir até a forma infectante (L3), a qual cães e gatos se infectam principalmente pela via oral, e menos frequentemente pela via percutânea, transplacentária e lactogênica. As larvas quando ingeridas, sofrem uma muda e penetram na parede intestinal, retornam a luz intestinal e atingem a forma adulta (RIBEIRO, 2004). As larvas infectantes que penetram pela pele, atingem os capilares subcutâneos até alcançar os pulmões, onde evoluem para L4, são expectoradas e deglutidas até o intestino delgado, chegando à fase adulta (FREITAS, 1980). As larvas L3 possuem tropismo por dióxido de carbono, presente em altas concentrações no tecido epitelial de animais e humanos, o que corrobora para a infecção percutânea (VELHO *et al.*, 2003). Além disso, as larvas de terceiro estágio penetram pela pele dos coxins através de uma enzima semelhante à colagenase, que destrói a membrana basal da pele e modifica a proteína em uma glico-proteína solúvel (MITTRA *et al.*, 1984). As larvas

podem fazer migração errática e estabelecer um estado de latência na musculatura, até que ocorra um aumento constante de esteroides sexuais, como por exemplo, em fêmeas no periparto. O aumento desses esteroides acarreta na reativação hipobiótica dessas larvas, estas podem se mobilizar para a glândula mamária e atravessar a barreira placentária (RIBEIRO, 2004). Cury & Lima (2002) relatam que alguns insetos podem transportar larvas infectantes durante um determinado período, as larvas que penetram na pele podem provocar lesões pruriginosas, porém, a principal patogenia associada a infecção por ancilostomídeos é a espoliação sanguínea.

### **2.1.3. Sinais Clínicos**

A manifestação clínica da Ancilostomíase é mais acentuada em filhotes por ainda não apresentarem o sistema imune bem desenvolvido. Os animais jovens podem apresentar um quadro de diarreia com presença de sangue vivo nas fezes, raros casos com presença de sangue digerido, perda de peso, vômito e em casos mais severos, o animal pode apresentar anemia hemorrágica aguda ou crônica (ARAÚJO, 1988). Em animais lactantes, a anemia pode ser fatal, pois ela não é causada apenas pela intensa absorção de sangue pelo parasito, mas também pela secreção de uma enzima proteolítica e uma substância anticoagulante, excretadas por glândulas esofagianas (FORTES, 2004). Animais adultos raramente manifestam sinais clínicos causados pelo *Ancylostoma*, uma vez que a resposta medular compensa a perda de sangue (ARAÚJO, 1988).

O animal acometido pela ancilostomíase pode apresentar dificuldade respiratória em decorrência da lesão larval nos pulmões ou dos efeitos anóxicos da anemia (URQUHART *et al.*, 1998). A formação de edemas pode eventualmente acontecer em decorrência do aumento e difusão do plasma sanguíneo nos tecidos (FORTES, 2004) e o hospedeiro pode desenvolver severa enterite devido a infecção bacteriana secundária, a qual pode ser observada na necropsia (PRATS *et al.*, 2005).

### **2.1.4. Diagnóstico**

O principal método de diagnóstico é através do exame coproparasitológico de fezes, onde são visualizados ovos dos ancilostomídeos, entretanto, pode se realizar o diagnóstico, através dos sinais clínicos (FORTES, 2004).

### 2.1.5. “Larva *Migrans* Cutânea”

A migração errática de larvas de algumas espécies de ancilostomídeos, através do estrato epitelial da pele humana é responsável pela síndrome denominada “Larva *Migrans* Cutânea”, ou “bicho geográfico” (MORSY *et al.*, 2007). No Brasil, o *A. brasiliense* e o *A. caninum* são os principais agentes etiológicos da “Larva *Migrans* Cutânea” (COSTA *et al.*, 2008). As larvas de ancilostomídeos penetram na pele por contato direto, deslocam-se sob a epiderme produzindo um rastro saliente e tortuoso por vários meses até morrerem (PERUCA, *et al.*, 2009).

Os principais sinais clínicos da “Larva *Migrans* Cutânea” são formações de linhas serpiginosas na pele com intenso prurido, irritabilidade, distúrbios de sono, infecções secundárias e ocasionalmente foliculite (PERUCA *et al.*, 2009). A infecção pelas larvas L3 geralmente acontece nas regiões dos pés, pernas e nádegas pois são as áreas mais expostas ao parasito. Locais públicos com fácil acesso de animais, como praças públicas, clubes, creches constituem áreas de risco de infecção de crianças e adultos que tem contato com o solo, compõe o grupo de risco. Scaini *et al.* (2003) analisaram 237 amostras de fezes de cães da área central do Balneário Cassino, 86,1% apresentaram positividade para ovos e/ou larvas de helmintos, e 71,3% das amostras estavam contaminadas por *Ancylostoma* spp. Resultados semelhantes foram encontrados por Cirne *et al.* (2017) no município de Valença (RJ), Ferreira *et al.* (2016) no município de São Paulo (SP), e Guimarães *et al.* (2004) na cidade de Lavras (MG). Também na cidade de Santa Maria, Pivoto *et al.* (2013) determinaram uma grande presença deste parasito em amostras fecais de gatos domésticos.

O diagnóstico da “Larva *Migrans* Cutânea” ocorre pela apresentação clínica típica, associada ao intenso prurido e histórico de exposição a locais de risco (PERUCA *et al.* 2009). Como tratamento da afecção, se preconiza o uso tópico de tiabendazol, e administração oral de albendazol ou ivermectina, além disso, o tratamento periódico de animais reservatórios com anti-helmintico é necessário para o controle da zoonose (CAUMES *et al.*, 2000). O prognóstico da parasitose é excelente, entretanto pode ser observada uma evolução demorada ou em alguns casos agravamento da infecção bacteriana secundária (HOFF *et al.* 2008).

## 2.2. *TOXOCARA CANIS*

Os helmintos do gênero *Toxocara* sp. estão classificados na Ordem Ascaridida, superfamília Ascaridoidea, família Ascarididae, subfamília Toxocarinea. As principais espécies

de importância médico veterinária são *T. canis* e *T. cati*, parasitos de cães e gatos, podendo infectar hospedeiros paratênicos tais como ratos e humanos (MONTEIRO, 2017). Os vermes adultos vivem no intestino delgado, nutrindo-se de produtos pré-digeridos da alimentação do seu hospedeiro, enquanto os estágios larvais se alimentam de serosidades (CURY & LIMA, 2002). A fêmea do *Toxocara* pode chegar a produzir 100.000 ovos por dia (LLOYD, 1998) que são eliminados através das fezes e podem permanecer viáveis no ambiente por seis a 12 meses, chegando a quatro anos em condições favoráveis (RIBEIRO, 2004). O ovo de *Toxocara* sp. necessita de um período que varia de duas a seis semanas para a formação da fase larval L3, que é a forma infectante para o hospedeiro (GILLESPIE, 1988). A infecção do hospedeiro definitivo acontece a partir do ovo contendo a L3 e pode ser de quatro maneiras: via oral, via transplacentária, via transmamária ou através de hospedeiros paratênicos.

### **2.2.1. Morfologia**

São vermes cilíndricos, de porte médio, os machos medem aproximadamente 10 cm e as fêmeas podem chegar até 18cm quando adultos. Na extremidade anterior possuem boca trilabiada, esôfago claviforme com ventrículo esofágico e asas cervicais, as quais são longas e estreitas no *T. canis*, e largas e curtas no *T. cati* (MONTEIRO, 2017). A parede do corpo é constituída por uma cutícula elástica com estriações transversais, hipoderme e uma camada muscular. O sistema digestório é completo, se estende da extremidade anterior a posterior, é composto por: lábios, boca, cavidade bucal, esôfago, intestino, reto e ânus, além das glândulas digestivas. O *Toxocara* possui um anel nervoso próximo ao esôfago, de onde partem cordões que irão inervar anteriormente a região cefálica e posteriormente ao longo do corpo. Além disso, possui um segundo anel nervoso, próximo ao orifício anal/cloacal.

### **2.2.2. Ciclo biológico**

Hospedeiros com menos de 3 meses realizam um ciclo diferente, denominado de Ciclo de Loss, ou hepatotraqeal. Nesse ciclo, o hospedeiro libera larvas L3 no intestino delgado após ingerir ovos infectantes. As larvas penetram na mucosa e atingem a circulação porta, chegando no fígado, coração e alvéolos pulmonares, onde realizam a muda para larvas de quarto estágio (L4), chegam a glote, são deglutidas e por fim migram novamente ao intestino delgado onde tornam-se adultas (MONTEIRO, 2011). Após a quarta semana, os filhotes começam a desenvolver resistência ao parasitismo, e o número de larvas que conseguem completar o seu

desenvolvimento começa a reduzir gradativamente (FREITAS 1980). Em animais com mais de 6 meses, o ciclo mais frequente ocorre com a ingestão de ovos larvados com L3, que eclodem e migram para os pulmões, coração, e são bombeadas pela aorta para diferentes partes do corpo, como músculos, glândulas mamárias, rins, sistema nervoso, onde ficam em estado de latência (MONTEIRO, 2011, RIBEIRO 2004). Em fêmeas gestantes, a partir do 42º dia, por ação hormonal, as larvas L3 em latência são reativadas e por via transplacentária infectam os fetos. Nestes, as larvas ficam no fígado e após o nascimento, pelo ciclo de Loss, alcançam o intestino delgado onde se tornam adultos. Algumas larvas podem continuar em latência e infectar fetos de gestações subsequentes (FREITAS, 1980; CURY & LIMA, 2002). Os vermes capazes de alcançar as glândulas mamárias infectam os filhotes durante a amamentação (RIBEIRO, 2004).

A última forma de contaminação ocorre quando cães e gatos consomem roedores, aves e outros animais que ingeriram ovos larvados e possuem larvas infectantes em seus tecidos. Já foram relatos larvas em vários órgãos, tais como fígado, pulmão, cérebro, olhos e em músculos, especialmente o diafragma e a língua (ALDAWEK *et al.*, 2002; TAIRA *et al.*, 2004).

### **2.2.3. Sinais clínicos**

Comumente a toxocaríase não apresenta infecção aparente, porém, os sinais podem ser moderados a severos em neonatos e animais jovens, nos quais os vermes adultos podem ocasionar diarreia, distensão abdominal, desidratação e em alguns casos retardo no crescimento. Em casos severos, pode levar à morte por consequência de obstruções, intussuscepções e perfurações intestinal (BURROWS *et al.*, 1995). Quando a infecção pré-natal é muito extensa, filhotes podem ir a óbito em decorrência das larvas que causam lesões hepáticas e focos pneumônicos. Alguns vermes adultos podem penetrar nos canais biliares ou pancreáticos levando a quadros agudo e às vezes fatais. Em casos de migração errática, sinais neurológicos podem estar presentes provocando irritação e até crises convulsivas (FREITAS, 1977; CURRY & LIMA, 2002).

### **2.2.4. Diagnóstico**

O diagnóstico pode ser o clínico, com a observação de proeminência de abdome, anorexia, diarreia, pneumonia e presença de parasitos imaturos em vômito. A confirmação pode ser feita pela presença de ovos em exame de fezes através de técnicas deflutuação (MONTEIRO, 2017).

### 2.2.5. “Larva *Migrans* Visceral”

A “Larva *Migrans* Visceral” ou Toxocaríase humana se caracteriza pela migração e persistência de larvas de alguns ascarídeos em vísceras humanas, causando várias manifestações clínicas que variam de casos assintomáticos, a severas injúrias (FIGUEIREDO *et al.*, 2005). Dentre os principais Ascarídeos, o gênero *Toxocara* é particularmente reconhecido como principal causador desta síndrome, uma vez que este é um parasito cosmopolita, possuindo uma alta prevalência de ovos encontrados em áreas públicas, principais locais fonte de infecção (LEITE *et al.*, 2004, MARQUES *et al.* 2012, SANTAREM *et al.* 1998).

Após a ingestão dos ovos de *Toxocara* pelo hospedeiro paratênico, as larvas eclodem no intestino delgado, penetram a mucosa, invadem o sistema porta até o fígado, onde algumas larvas iram se encistar, enquanto outras iram atingir os pulmões e o sistema circulatório (PERUCA *et al.*, 2009). Nos casos mais graves de “Larva *Migrans* Visceral”, ocorrem processos patológicos hipereosinofílicos crônicos, leucocitose, lesões granulomatosas, e ocasionalmente lesões oculares (GUIMARÃES *et al.*, 2005).

Pawlowski (2001) propôs um novo sistema de classificação para as formas clínicas observados na Toxocaríase humana, baseando-se no status clínico, no envolvimento dos mecanismos imunopatológicos, na localização das larvas, e na intensidade de resposta sorológica. Essa classificação divide a toxocaríase humana em: sistêmica clássica, assintomática, oculta e compartimentalizada (ocular e neurológica). A primeira forma clínica é denominada sistêmica, a qual é caracterizada por hepatoesplenomegalia, febre, hipergamaglobulinemia e alguns casos miocardite eosinofílica, e fibrose pulmonar, em decorrência da exposição prolongada e extensiva a eosinofilia.

As formas compartimentalizadas envolvem a toxocaríase ocular e neurológica (PAWLOWSKI *et al.*, 2001). A toxocaríase ocular manifesta-se apenas em um globo ocular na maior parte dos casos, apresentando uma inflamação leve a moderada, podendo ser difusa (CARVALHO *et al.*, 2011). Os sinais clínicos mais comuns são perda de visão, inflamação vítrea, edema macular cistoide e tração de filamentos vítreo-retinianos em direção ao nervo óptico e/ou um granuloma (STEWART *et al.*, 2013). Existem poucos relatos na literatura sobre a toxocaríase neurológica, uma vez que as invasões parasitárias no cérebro são assintomáticas, e permanecem sem diagnóstico.

A forma clínica oculta caracteriza-se por sintomas e sinais inespecíficos, que não se associam à categoria da larva *migrans* clássica, larva *migrans* incompleta, LMO ou LMN

(CARVALHO *et al.*, 2011). Possui ampla manifestação clínica e pode apresentar injúria pulmonar como asma, bronquite aguda e pneumonia com ou sem síndrome de Loeffler; urticaria, eczema, linfadenopatias, miosites e síndromes pseudoreumáticas como artralgia (PAWLOWSKI *et al.*, 2001). A toxocaríase oculta é diagnosticada apenas após o desaparecimento dos sinais e sintomas não-específicos tratados com anti-toxocaríase (CARVALHO *et al.*, 2011). Por fim, a Toxocaríase assintomática, diagnosticada por sorologia, ocorre principalmente em infecções leves ou antigas e pode ser acompanhada ou não por eosinofilia (CARVALHO *et al.*, 2011).

O diagnóstico da toxocaríase humana é bastante complicado, em razão do parasito não se desenvolver até a maturidade no organismo, e, portanto, não ser capaz de excretar ovos. A biopsia pode ser realizada como diagnóstico definitivo, porém são raros os casos onde a técnica é recomendada, predominando apenas o diagnóstico presuntivo (ANDRADE, 2000).

O tratamento varia de acordo com a forma clínica da doença desenvolvida pelo paciente, além disso, deve-se levar em consideração a relação risco-benefício entre o potencial tóxico da droga e o efeito terapêutico esperado (ANDRADE, 2000). Em casos de “Larva *Migrans* Visceral”, o tratamento consiste em anti-helmínticos com propriedade larvicida, tais como dietilcarbamazina, albendazol, mebendazol, levamisol, ivermectina, fenbendazol e oxfendazol, ou com ação inibidora da migração tecidual das larvas, como tiabendazol. Para o tratamento de Larva *Migrans* Ocular, se adota o tratamento sintomático, principalmente com uso de anti-inflamatórios associados a anti-helmínticos (ANDRADE, 2000).

### 2.3. CONTROLE BIOLÓGICO: FUNGOS NEMATÓIDES

O termo controle biológico se refere à utilização de microrganismos antagonistas naturais disponíveis no ambiente para diminuir a população de organismos considerados pragas (GRONVOLD *et al.*, 1996). Os estudos de controle biológico como método de eliminação de pragas têm evoluído gradativamente, pois apresentam diversos benefícios quando comparados aos métodos químicos, uma vez que estes são capazes de causar problemas ambientais como desequilíbrio biológico, e intoxicações no homem, além de já existir resistência de parasitos a vários produtos existentes comercialmente e o custo para o desenvolvimento de produtos químicos é demasiadamente superior ao custo de desenvolvimento de produtos biológicos (PARRA, 2002).

Inúmeros microrganismos têm sido relatados como antagonistas de nematoides, tais como protozoários, insetos, ácaros, nematoides, vírus, bactérias e fungos (MANKAU, 1980;

LYSEK E NIGENDA, 1989; STIRLING, 1991; WALLER E LARSEN, 1993; GRONVOLD *et al.*, 1996). Os fungos nematófagos antagonistas dos nematoides, presentes naturalmente no ambiente, são cosmopolitas, ocorrendo em solos naturais, solos agricultáveis e em todos os tipos de matéria orgânica em decomposição. (GRAMINHA, 2005).

Os fungos nematófagos são classificados de acordo com seu modo de ação nos seguintes grupos: predadores, oportunistas, endoparasitos e produtores de metabólitos tóxicos aos nematoides (MANKAU, 1980; JATALA, 1986; MORGAN-JONES *et al.*, 1987). Fungos endoparasitos persistem no ambiente na maioria das vezes como esporos ou clamidósporos liberados no solo pela desintegração de nematoides parasitados. A infecção ocorre pela adesão do esporo à cutícula do nematoide ou através da ingestão. O esporo germina e se difunde pela cavidade corpórea, cresce e absorve o conteúdo do nematoide. As hifas não se desenvolvem para o exterior do corpo do nematoide infectado, porém ocorre à produção de tubos de liberação de esporos ou de conidióforos e conídios (BARRON, 1977; MOTA *et al.*, 2003).

Os fungos oportunistas penetram em ovos, larvas e adultos helmintos através de hifas vegetativas, por ação mecânica. As hifas penetram a casca do ovo através dos pequenos poros existentes na camada vitelínica, causando alteração na permeabilidade da casca e expandindo seu volume. Como consequência, a camada vitelínica se divide, a camada de quitina se torna vacuolizada e a camada lipídica torna-se densa. Por fim as hifas endógenas emergem do ovo e produzem conidióforos e conídios (ARAÚJO *et al.* 2004; CIARMELA *et al.*, 2002). Os fungos predadores crescem no solo como saprófitas e desenvolvem adaptações morfológicas ao longo das hifas para capturar nematoides de vida livre (NODBRING-HERTZ, 1988). Estas estruturas são formadas em resposta à presença de nematoides ou de substâncias dele derivados, além disso, condições nutricionais limitadas e escassez de água também levam a formação destas estruturas (BALAN E GERBER, 1972).

Por fim existem fungos produtores de metabólitos tóxicos a nematoides (NODBRING-HERTZ, 1988), essas toxinas podem afetar a motilidade, a capacidade de penetração no hospedeiro, a atração pelo hospedeiro a eclosão dos ovos ou causar a morte desses parasitos (KERRY *et al.*, 1984).

#### 2.4. *PLEUROTUS OSTREATUS*

Atualmente já foram descritas mundialmente, mais de 1000 espécies de fungos do gênero *Pleurotus*, no entanto apenas 50 destas são reconhecidas como válidas para este gênero (GUZMAN *et al.*, 2000). As espécies possuem ampla distribuição mundial e apresentam uma

variedade de cores como cinza-escuro (*P. ostreatus*), amarelo (*P. citrinopileatus*), salmão (*P. ostreatoroseus*), e branco (*P. ostreatus* variedade *florida*) representado na figura 2.4.1 (WARTCHOW *et al.*, 2008).

Figura 2.4 – *Pleurotus ostreatus* var. *florida*



Fonte: Arquivo pessoal

O *P. ostreatus* pertence ao filo Basidiomycota, classe Basidiomycetes, subclasse Holobasidiomycetidae, ordem Agaricales, e família Pleurotaceae, é um dos cogumelos mais comercializados e apreciados atualmente, pois é rico em vitaminas, proteínas, carboidratos, minerais, além de ser extremamente saboroso e possuir quase todos os aminoácidos essenciais (GUNDE-CIMERMAN, 1999). Bonatti *et al.*, (2004) demonstraram em seus estudos que o *P. ostreatus* tem uma composição de até 16,9% de proteínas quando cultivados em palha de bananeira. Além disso, o cogumelo apresenta grande capacidade de degradar diversos componentes insolúveis de materiais lignocelulolíticos, efetuando um papel importante na bioconversão de suplementos alimentares (LA GUARDIA *et al.* 2005). Possui muitas propriedades nutricionais e efeitos medicinais benéficos, sendo utilizado como antitumoral, imunomodulatório, antiviral e anti-inflamatório (SARANGI *et al.*, 2006).

O *P. ostreatus* é chamado de cogumelo ostra devido ao seu formato, possui um corpo frutífero com píleo e estirpe bem definidos. O píleo pode medir de 6 a 14 cm de diâmetro, ser sobreposto, de cor variável (branca, passando por creme, amarelo claro, rosa, até cinza), em forma de concha ou espátula, liso e brilhante. As lâminas são altas, juntas e desiguais ao longo do píleo (PACIONI, 1982).

O fungo tem alta capacidade de produzir enzimas lignocelulolíticas, as quais se destacam as lacases, manganês peroxidase e peroxidase versátil, enzima com numerosas aplicações na indústria (COHEN *et al.*; 2002). Além disso, Yashvant (2012) apontam possíveis

compostos bioativos produzidos por esses fungos, os quais podem ser aplicados na medicina tais como: polissacarídeos, lipídios e proteínas. A temperatura ótima de crescimento encontra-se em torno de 25°C, o que os torna próprios para clima tropical (BISARIA & MADAN, 1983; PATRABANHS & MADAN, 1997), podendo ser encontrados naturalmente em florestas temperadas, tropicais e subtropicais (ZADRAZIL & KURTZMAN, 1984; MAZIERO, 1990).

Até o início da década de 50, o *Pleurotus* era coletado diretamente da natureza, também nesta época houve tentativas de realização do cultivo empregando serragem como substrato. A partir de 1970, iniciou-se o seu cultivo em escala comercial, com aplicação de outros substratos como palha seca, palha de arroz, palha de trigo e capim (BONONI *et al.*; 1995).

### 3. MANUSCRITO

Artigo submetido a revista Ciência Rural

**Atividade ovicida *in vitro* do fungo *Pleurotus ostreatus* var. *florida* sobre ovos de  
*Ancylostoma* sp. e *Toxocara canis***

Dionatan Teixeira de Oliveira, Leticia dos Santos Petry, Marjorie Giacometti, Guilherme Henrique  
Mueller, Silvia Gonzalez Monteiro, Angela Isabel dos Santos Dullius

**Atividade ovicida *in vitro* do fungo *Pleurotus ostreatus* var. *florida* sobre ovos de *Ancylostoma* sp. e *Toxocara canis***

***In vitro* ovicide activity of the fungus *Pleurotus ostreatus* var. *florida* on eggs of *Ancylostoma* sp. and *Toxocara canis***

**Dionatan Teixeira de Oliveira<sup>1</sup>, Leticia dos Santos Petry<sup>1</sup>, Marjorie Giacometti<sup>1</sup>,  
Guilherme Henrique Mueller<sup>1</sup>, Silvia Gonzalez Monteiro<sup>1</sup>, Angela Isabel dos Santos  
Dullius<sup>2</sup>**

**RESUMO**

Este estudo teve como objetivo avaliar *in vitro* a atividade ovicida do fungo *Pleurotus ostreatus* em ovos de *Ancylostoma* spp. e *Toxocara canis*. Foi realizado um ensaio experimental com cada parasito, onde foram testadas cinco concentrações diferentes de *P. ostreatus* (50mg/ml, 25 mg/ml, 12 mg/ml, 6,25 mg/ml, 3,12 mg/ml), estes foram vertidos em placas de cultura celular de 6 poços, com uma solução de aproximadamente 1.000 ovos/poço. O grupo controle foi constituído da solução de ovos e água destilada. As placas foram vedadas, incubadas a 26°C, após um período de 48h o número total de larvas de *Ancylostoma* spp. foram contabilizados, enquanto no experimento com *T. canis*, foram feitas análises morfológicas a cada 7 dias, até o vigésimo primeiro dia. Todos os testes foram realizados em triplicatas. No ensaio com ancilostomídeos, houve um percentual de redução de eclodibilidade de até 67,16% em relação ao controle, tendo a concentração de 3,12% o menor percentual de redução de eclodibilidade de larvas dentre as concentrações testadas. No ensaio com ovos de *T. canis*, houve uma redução significativa nos ovos larvados a partir do 21º dia em todas as concentrações em relação ao grupo controle. O *P. ostreatus* mostrou possuir uma boa atividade ovicida, sobre *A. caninum*, além de ter retardado o desenvolvimento de ovos de *T. canis*, podendo ser utilizado como controle biológico do nematódeo.

**Palavras-chaves:** controle biológico, ovicida, nematoides, helmintos, cão.

---

<sup>1</sup> Laboratório de Parasitologia Veterinária – Departamento de Microbiologia e Parasitologia – Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) – Santa Maria – RS – Brasil. E-mail: [medvetdionatan@gmail.com](mailto:medvetdionatan@gmail.com), [sgmonteiro@uol.com.br](mailto:sgmonteiro@uol.com.br). Autores para correspondência.

<sup>2</sup> Prof Associada Departamento de Estatística UFSM.

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the ovicidal activity of *Pleurotus ostreatus* in eggs of *Ancylostoma* spp. and *Toxocara canis*. An experimental assay was performed with each parasite, where five different concentrations of *P. ostreatus* (50mg/ml, 25 mg/ml, 12 mg/ml, 6,25 mg/ml, 3,12 mg/ml) were tested, which were poured into 6 cell culture dishes wells, with a solution of approximately 1,000 eggs. The control group consisted of egg solution and distilled water. The plates were sealed, incubated at 26 ° C, after a period of 48 hours the total number of larvae of *Ancylostoma* spp. were counted, while in the experiment with *Toxocara canis*, morphological analyzes were performed every 7 days until the twenty-first day. All tests were performed in triplicates. In the hookworm test, there was a percentage of hatchability reduction of up to 67.16% in relation to the control, and the concentration of 3.12% had the highest percentage of hatchability of larvae among the tested concentrations. In the *Toxocara canis* egg assay, there was a significant reduction in larval eggs from day 21 at all concentrations relative to the control group. *P. ostreatus* showed to have good ovicidal activity on *A. caninum*, besides delaying the development of *Toxocara canis* eggs, being able to be used as biological control of the nematode.

**Key words:** biological control, ovicide, nematodes, helminths, dog, eggs.

## INTRODUÇÃO

As doenças infectocontagiosas e parasitárias estão dentre as principais causas de mortalidades de animais de companhia. Estudos demonstram que verminoses intestinais são responsáveis por 3,3% das mortes de cães na região central do Rio Grande do Sul, ficando entre as cinco causas mais frequentes (FIGHERA *et al.*, 2008). Além disso, o estreito convívio da população com animais domésticos tem corroborado com o aumento de infecções zoonóticas nos últimos anos (LABRUNA *et al.*, 2006; SANTARÉM *et al.*, 2004).

Os parasitos *Ancylostoma* spp. e *Toxocara canis* são geohelminthos intestinais de cães e gatos com um alto potencial zoonótico. No mundo estima-se que aproximadamente 1 bilhão de pessoas se infectam por helmintos através do contato com solo contaminado, mostrando a importância da contaminação ambiental como fator de risco (CROMPTON, 1999; SANTARÉM, *et al.*, 2004). O gênero *Ancylostoma* é responsável pela dermatose “Larva Migrans Cutanea”, na qual ocorre a migração de larvas sob a camada mais superficial da pele (SOARES *et al.*, 2018). Com a ingestão de ovos larvados de *Toxocara canis*, o indivíduo

apresentará um quadro de Toxocaríase humana, as larvas eclodem, penetram no intestino delgado e atingem a diferentes órgãos através da via sistêmica (EL NAGA, 2018).

O desenvolvimento de métodos alternativos de prevenção e controle de geohelmintos se tornaram cruciais na redução da contaminação ambiental por larvas e ovos infectantes. O controle biológico tornou-se uma alternativa extremamente benéfica, pois seus efeitos causam menos danos para o ambiente quando comparados a outros métodos de controle, como o uso de produtos químicos (GRØNVOLD *et al.*, 1996).

Os cogumelos do gênero *Pleurotus* são famosos por seus benefícios, apresentam alto conteúdo protéico, contém aminoácidos essenciais, elevada proporção de ácidos graxos insaturados, além de baixos teores de gorduras, colesterol e calorias. São considerados também como uma importante fonte de carboidratos, fibras, minerais e vitaminas (COGORNI *et al.*, 2014; RAMPINELLI *et al.*, 2010). O *Pleurotus ostreatus*, também chamado de fungo ostra, é muito apreciado na culinária mundial por seu delicioso sabor, e por possuir a habilidade de colonizar uma variedade de substratos quando comparado a outros fungos (BALDRIAN *et al.*, 2005).

Estudos já realizados confirmaram que algumas espécies do gênero *Pleurotus* possuem ação antioxidante, antitumoral e antimicrobiana (SUN *et al.* 2017), porém, não existem trabalhos na literatura sobre a atividade de *P. ostreatus* em nematoides parasitos de animais. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* a atividade ovicida do fungo *P. ostreatus* em *Toxocara canis* e *Ancylostoma* spp.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Local do experimento**

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Parasitologia Veterinária, do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) no período de julho de 2017 a abril de 2018.

### **Obtenção e manutenção dos isolados de *P. ostreatus***

Nestes estudos foram utilizados um isolado da espécie *P. ostreatus* var. *florida*, adquirido comercialmente. Para obtenção dos frutos, porções da parte interna do píleo do cogumelo foram semeadas em meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar), mantido em vidros fechados e vedados com filme PVC por dez dias no escuro em temperatura ambiente até a formação do micélio. Posteriormente pequenas frações de 1x1cm do BDA colonizado foram

removidas e cultivadas em grãos previamente autoclavados por um período de vinte dias em sacos de polietileno, mantidos no escuro e em temperatura ambiente. Após a colonização dos grãos, os mesmos foram misturados em feno tifton previamente fervido e mantidos no escuro em sacos plásticos de polietileno transparentes até o início da frutificação. Os cogumelos obtidos, foram submetidos ao processo de desidratação (40°C por 24h), triturados com água destilada na proporção de 1:25 e mantido em banho maria por 60 minutos sob agitação em temperatura constante de 40°C. O extrato obtido foi filtrado em papel filtro de 14 µm e submetido a liofilização.

### **Obtenção de ovos de *Ancylostoma* spp.**

Ovos de ancilostomídeos provindos de fezes de cães positivas para *Ancylostoma* spp. foram utilizadas no experimento. O material fecal foi submetido à técnica de recuperação de ovos de nematoides gastrointestinais, onde as amostras positivas foram maceradas em água destilada e filtradas através de quatro tâmises com diferentes micrometros de abertura da malha metálica. Os ovos retidos na última peneira foram submetidos a sucessivas centrifugações com solução salina, até a obtenção de uma solução límpida composta apenas de ovos.

### **Obtenção de ovos de *Toxocara canis***

Os ovos de *Toxocara* foram obtidos por dissecação do útero de vermes femininos adultos de *Toxocara canis*, que foram expelidos após vermifugação. Os ovos foram lavados 10 vezes em água destilada e centrifugados a 1.000 rpm por 5 minutos cada vez. O sobrenadante foi descartado no final de cada ciclo de centrifugação. Os ovos foram incubados a 25°C durante 14 dias com uma solução contendo 0,05% de formalina como descrito por Araújo *et al.* (1995). Após este período, o processo de lavagem foi repetido em água destilada como descrito acima e os ovos foram submetidos aos testes.

### **Ensaio experimental**

Foram realizados dois ensaios experimentais, um com ovos *Toxocara canis* e outro com ovos de *Ancylostoma* sp. Ambos os experimentos foram constituídos de cinco tratamentos, compostos por concentrações crescentes de inóculos fúngicos (3,12 mg/ml; 6,25 mg/ml; 12 mg/ml; 25 mg/ml; 50 mg/ml.) e controle negativo. No primeiro experimento, aproximadamente 1000 ovos de *Ancylostoma* spp. foram vertidos em cada placa de cultura de 6 poços contendo os diferentes tratamentos, finalizando um volume total padrão de 5ml. As placas foram vedadas com películas de parafilme e incubadas a 26°C no escuro por 48h. Após, foram adicionados aos

grupos lugol e o número total de larvas de *Ancylostoma* presentes em cada placa foi contabilizado de acordo com a metodologia descrita por MUKHTAR E PERVAZ (2003). Posteriormente, o percentual de redução da média de larvas foi calculado de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ redução} = \frac{(\text{média de larvas do controle} - \text{médias de larvas do tratamento}) \times 100}{\text{Média de larvas do controle}}$$

No segundo ensaio experimental, foram utilizados cerca de 1.000 ovos de *Toxocara canis*, estes foram despejados em placas de cultura de 6 poços contendo os tratamentos e foram incubados a 25°C por 21 dias. Foram realizadas leituras a cada 7 dias em microscópio óptico invertido afim de classificar o efeito ovicida, seguindo tais parâmetros: ovo sem alteração, ovo embrionado, ovo larvado.

### **Análise estatística**

Os dados do ensaio experimental com *Ancylostoma* spp. foram submetido ao teste de normalidade Shapiro Wilk ( $p > 0,05$ ). Para comparações entre os grupos, foi realizada a Análise de Variância (ANOVA), e o teste *post hoc* Dunnet para comparação dos grupos de concentrados diferentes de fungo com o grupo controle e para as comparações entre os grupos de concentrações diferentes entre si, foi feito o teste de Tukey. O nível de significância utilizado foi de 5% ( $p < 0,05$ ). Utilizou-se o teste Binomial para verificar as diferenças entre as proporções médias, ao nível de 5% de significância, no ensaio experimental com ovos de *T. canis*.

## **RESULTADOS**

Após um período de 48h, observou-se que todas as concentrações do *P. ostreatus* foram eficazes, isto é, foram capazes de reduzir significativamente o número de larvas de *Ancylostoma caninum* em todas as concentrações testadas, quando comparadas com o grupo controle. Em relação à eficiência, verificou-se que a concentração de 50% de fungo foi superior às demais concentrações ( $p < 0,05$ ), porém a concentração de 25% de fungo foi tão eficiente quanto a de 12% e 6,25%. (Tabela 1).

No ensaio experimental com *T. canis*, foi possível observar que todas as concentrações foram eficazes na diminuição de ovos larvados a partir do 14º dia de avaliação, em relação ao

grupo controle ( $p < 0,05$ ). Entretanto, as concentrações 12,5%; 25% e 50% de *P. ostreatus* foram equivalentes quanto a eficiência ( $p > 0,05$ ). (Tabela 2 e 3)

## DISCUSSÃO

Atualmente ainda é predominante o uso de produtos químicos como controle de pragas, porém apesar de apresentarem bons resultados, ainda representam grandes riscos para o ambiente e para a saúde humana. O uso desregrado tem provocado o surgimento de populações mais resistentes, exigindo a superdosagem de químicos e uso novos princípios ativos (PARRA, 2002). Buscando evitar o abuso na utilização de produtos químicos, nos últimos anos tem se investido a fundo no desenvolvimento de métodos de controle biológico, tais como óleos essenciais e inóculos fúngicos. Dentre os métodos de controle biológico, os fungos têm se destacado nesse cenário, pois diversos fungos tais quais: *Pochonia chlamydosporia*, *Paecilomyces lilacinus*, *Duddingtonia flagrans* e *Monacrosporium thaumasium* já tiveram suas atividades confirmadas sobre inúmeros parasitas (FRASSY *et al.*, 2010; BRAGA *et al.*, 2011).

Estudos prévios já demonstraram o potencial do fungo do gênero *Pleurotus* em controle biológico de *A. Caninum*. LOPES *et al.* (2015) avaliaram a atividade predatória do fungo *Pleurotus eryngii* em larvas de *A. caninum*, e verificaram que o isolado fúngico foi capaz de interagir e preda as larvas durante o experimento reduzindo o número médio de larvas L3 de *A. caninum* em 47,56% em relação ao grupo controle. O uso de diferentes concentrações de *P. ostreatus* neste estudo demonstrou o grande potencial ovicida sobre *A. Caninum*.

No presente estudo observou-se que os ovos de *A. caninum* sofreram ação do isolado fúngico *P. ostreatus*, mesmo em baixas concentrações, uma vez que foi possível observar lesões na casca dos ovos e baixa eclosão de larvas. Alguns estudos realizados já demonstraram a atividade larvicida do *P. ostreatus*, porém pouco se conhece da ação ovicida do mesmo. THORN & BARRON (1984) demonstraram em seu estudo que alguns fungos pertencentes à ordem Agaricales, incluindo *P. ostreatus*, possuem a habilidade de matar larvas de nematóides vegetais em raízes de plantas. KWOK *et al.*, (1992) mencionaram a existência de um grupo especial de células responsáveis pela produção de substâncias ricas em toxinas (ostreatina e pleurotolisina), que em contato com nematóides são capazes de causar a paralisia e a lise da cutícula.

Neste trabalho, o extrato de *P. ostreatus* reduziu em 67,16% a eclosão de larvas de *Ancylostoma* spp. na maior concentração utilizada. Encontramos um aumento na atividade ovicida do *P. ostreatus* quando comparado com os resultados obtidos por HOFSTÄTTER *et al.*

(2017), onde se observou uma redução na eclosão das larvas de 63,32% com o isolado fúngico de *Paecilomyces lilacinus*, 56,35% com o isolado fúngico de *Trichoderma harzianum* e 52,24% com o isolado fúngico de *Trichoderma virens* no formato de extrato bruto macerado. Dentre as concentrações testadas neste estudo, a concentração de 50% demonstrou ser a mais eficiente na redução da eclosão de larvas, porém a concentração de 25% teve uma redução semelhante de 58,68%.

Neste estudo também verificou-se que a presença do fungo diminuiu a proporção média de ovos larvados de *Toxocara canis*, pois até mesmo em baixas concentrações, foi possível observar uma redução no desenvolvimento dos ovos. Observou-se também, que a partir do 14º dia houve um retardo na evolução dos ovos. Isso demonstra a relevância deste resultado, uma vez que os ovos de *Toxocara canis* se tornam infecciosos no período de 2 a 5 semanas (ARAUJO, 1972). Embora no presente estudo não tenha ocorrido a identificação e purificação das enzimas presentes no extrato do fungo, observou-se um efeito ovicida possivelmente resultado da ação enzimática de quitinases, proteases e glucanases do fungo sobre a casca do ovo. Além disso, com redução do desenvolvimento larval, sugere-se que o *P. ostreatus* seja capaz de produzir substâncias que afetam diretamente o desenvolvimento embrionário.

Resultados semelhantes foram encontrados por Filho *et al.* (2013), o qual foi avaliado a atividade ovicida de fungos do gênero *Acremonium*, *Aspergillus*, *Bipolaris*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Mucor* e *Trichoderma* sobre ovos de *Toxocara canis*. Os fungos do gênero *Trichoderma*, *Fusarium* e *Acremonium* apresentaram efeito sobre a parede dos ovos, o gênero *Trichoderma* apresentou ação sobre o desenvolvimento embrionário no 14º dia de avaliação. Estes dados vão de encontro com os dados obtidos no presente trabalho, onde foram observados atrasos no desenvolvimento a partir do 14º dia. Entretanto, em outro estudo, Carvalho *et al.* (2010) analisou a atividade ovicida da *Pochonia chlamydosporia* e *Paecilomyces lilacinus*, observou ação dos isolados já no 7º dia de avaliação, porém houve um aumento crescente nas leituras seguintes, demonstrando que quanto maior o tempo de contato do fungo com os ovos, mais eficiente é a atividade ovicida do fungo (ARAÚJO *et al.* 2008).

## CONCLUSÃO

O presente trabalho demonstrou o potencial do cogumelo no uso como controle biológico, uma vez que o fungo foi capaz de diminuir significativamente o número de larvas de *Ancylostoma* e também interferiu no desenvolvimento de ovos de *Toxocara canis*. Entretanto, o desenvolvimento de novos estudos objetivando a identificação e caracterização de enzimas e

suas atividades em ovos de helmintos patógenos de animais é essencial para a continuidade e uso desses fungos no controle biológico de parasitas.

## DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não haver nenhum tipo de conflito de interesse no desenvolvimento do estudo.

## REFERÊNCIAS

ARAUJO, P., Observações pertinentes as primeiras ecdises de larvas de *Ascaris lumbricoides*, *A. suum* e *Toxocara canis*. **Revista do Instituto de Medicina Tropic-cal de São Paulo**, 14(2), pp. 83 -90, 1972.

ARAUJO, J. V.; BRAGA, F. R.; SILVA, A. R.; ARAÚJO, J. M.; TAVELA, A. O. In vitro evaluation of the nematophagous fungi *Duddigtonia flagrans*, *Monacrosporium sinense* and *Pochonia clamydosporia* on *Ascaris sunn*. **Parasitology Research**, v.102, p.787-790, 2008.

BALDRIAN, P. *et al.* Degradation of lignocellulose by *Pleurotus ostreatus* in the presence of copper, manganese, lead and zinc. **Research in Microbiology**. v. 156, n. 5–6, p. 670- 676, , 2005.

BERNY, J.-F.; HENNEBERT, G. L. Viability and Stability of Yeast Cells and Filamentous Fungus Spores during Freeze-Drying: Effects of Protectants and Cooling Rates. **Mycologia**, v. 83, n. 6, p. 805, 1991.

BRAGA, F.R., SILVA, A.R., CARVALHO, R.O., ARAUJO, J.V., PINTO, P.S.A. Ovicidal activity of diferente concentration of *Pochonia Clamydosporia* on *Taenia taeniaformis* eggs. **J. Helminthol**, 85:7-11, 2011.

BRENNER, M. A.; PATEL, M. B. Cutaneous larva migrans: The creeping eruption. **Cutis**. v. 72, n. 2, p. 111–115, 2003.

CARVALHO, R. O, ARAÚJO, J. V., BRAGA, F. R. ARAUJO, J. M., ALVES, C. D. F. Ovicidal activity of *Pochonia chlamydosporia* and *Paecilomyces lilacinus* on *Toxocara canis* eggs. **Veterinary Parasitology**. v. 169, p. 123-127, 2010

COGORNI, P. F. B. O. The production of *Pleurotus sajor-caju* in peach palm leaves (**Bactris gasipaes**) and evaluation of its use to enrich wheat flour. **Food Science and Technology (Campinas)**. v. 34, n. 2, p. 267–274, 2014.

CROMPTON, D. W. T. How Much Human Helminthiasis Is There in the World? **The Journal of Parasitology**. v. 85, n. 3, p. 397, 1999.

EL-NAGA, I. F. A. Developmental stages and viability of *Toxocara canis* eggs outside the host. **Biomédica** 38:189-97, 2018.

- FIGHERA, R. A. *et al.* Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense (1965-2004). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. V. 28, n. 4, p. 223–230, 2008.
- FILHO, F.S.M., VIEIRA, J. N., BERNE, M. E., STOLL, F. E., NASCENTE, P. S., POTTER, L. Fungal ovicidal activity on *Toxocara canis* eggs. **Rev Iberoam Micol.** 2013;30(4):226–230
- FRASSY, L.N., BRAGA, F.R., SILVA, A.R., ARAÚJO, J.V., FERREIRA, S.R., FREITAS, L.G. Destruição de ovos de *Toxocara canis* pelo fungo nematófago *Pochonia chlamydosporia*. **Rev Soc Bras Med Trop.** 43:102-104, 2010
- GRØNVOLD, J. *et al.* Induction of traps by *Ostertagia ostertagi* larvae, chlamydospore production and growth rate in the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans*. **Journal of helminthology**. V. 70, p. 291–297, 1996.
- HOFSTÄTTER, B. D. M. *et al.* Efecto de los extractos de los hongos *Paecilomyces lilacinus*, *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma virens* en la eclosionabilidad de huevos de *Ancylostoma*. **Revista Iberoamericana de Micología**. V. 34, n. 1, p. 28–31, 2017.
- KWOK, O. C. H. *et al.* A nematicidal toxin from *Pleurotus ostreatus* NRRL 3526. **Journal of Chemical Ecology**. v. 18, n. 2, p. 127–136, 1992.
- LABRUNA, M. B.; PINTER, A; GENNARI, S. M. Município De Monte Negro , Rondônia. **Arq. Inst. Biol.** v. 73, n. 2, p. 183–193, 2006.
- LOPES, A. Del C. G. *et al.* Predatory activity of the Fungus *Pleurotus eryngii* on *Ancylostoma caninum* infective larvae. **SOJ Veterinary Sciences**. V. 1, n. 1, p. 104–130, 2015.
- MUKHTAR, T.; PERVAZ, I. In Vitro Evaluation of Ovicidal and Larvicidal Effects of Culture Filtrate of *Verticillium chlamydosporium* Against *Meloidogyne javanica*. **International Journal of Agriculture & Biology**. v. 5, n. 4, p. 576–579, 2003.
- PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Editora Manole, São Paulo. 609p. 2002
- RAMPINELLI, J. R. *et al.* Valor nutricional de *Pleurotus djamor* cultivado em palha de bananeira. **Alim. Nutr.** V. 21, n. 2, p. 197–202, , 2010.
- SANTARÉM, V. A.; GIUFFRIDA, R.; ZANIN, G. A. Larva migrans cutânea: Ocorrência de casos humanos e identificação de larvas de *Ancylostoma* spp em parque público do município de Taciba, São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. V. 37, n. 2, p. 179–181, 2004.
- SOARES, S. Larva *Migrans* Cutânea: apresentação típica de dois casos clínicos. **Nascer e Crescer**. 2018, vol.27, n.1, pp.46-49, 2018.
- SUN, Y.; HU, X.; LI, W. Antioxidant, antitumor and immunostimulatory activities of the polypeptide from *Pleurotus eryngii* mycelium. **International Journal of Biological Macromolecules**. V. 97, p. 323–330, 2017.

THORN, R. G.; BARRON, G. L. Carnivorous mushrooms. **Science (New York, N.Y.)**. V. 224, n. 4644, p. 76–8, 1984.

WANG, X.; WANG, Y. Apoptosis-like death was involved in freeze-drying-preserved fungus *Mucor rouxii* and can be inhibited by L-proline. **Cryobiology**. V. 72, n. 1, p. 41–46, 2016.

Tabela 1- Número médio de larvas e porcentagem de redução de eclosão de larvas *A. caninum* submetidos aos tratamentos com diferentes concentrações de *P. ostreatus* var. *florida*.

<i>Grupos*</i>	<i>Média</i>	<i>Desvio-Padrão</i>	<i>Erro-padrão</i>	<i>IC95%</i>	<i>Redução Larval (%)</i>
C 50%	220,67	10,53	6,06	194,57 - 246,76	67,16
C 25%	277,67	9,71	5,61	253,54 - 301,79	58,68
C 12%	303,67	10,26	5,93	278,17 - 329,16	54,81
C 6.25%	335,67	32,33	19,67	255,35 - 415,98	50,05
C 3.12%	402,67	5,96	3,28	388,54 - 416,79	40,08
<b>Controle</b>	672,00	34,60	19,97	586,05 - 757,95	

\* Distribuição Normal, Teste Shapiro Wilk ( $p > 0,05$ ), estatística descritiva e intervalo de Confiança de 95% para a média.

Tabela 2 - Estatística descritiva para a proporção de ovos larvados de *Toxocara canis* aos 14 dias de experimento.

<i>Grupos</i>	<i>Média</i>	<i>Mediana</i>	<i>Desvio-padrão</i>
G 3,12%	0,45	0,46	0,011
G 6,25%	0,44	0,44	0
G 12,5%	0,33	0,33	0,006
G 25%	0,23	0,23	0,020
G 50%	0,18	0,18	0,006
<b>Controle</b>	0,61	0,61	0,10

Tabela 3- Estatística descritiva para a proporção de ovos larvados de *Toxocara canis* aos 21 dias de experimento.

<i>Grupos</i>	<i>Média</i>	<i>Mediana</i>	<i>Desvio-padrão</i>
G 3,12%	0,46	0,46	0,006
G 6,25 %	0,44	0,44	0,006
G 12,5 %	0,33	0,33	0,010
G 25%	0,27	0,27	0
G 50%	0,23	0,23	0,010
<b>Controle</b>	0,82	0,82	0,015

#### 4. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, concluiu-se a partir do primeiro estudo que o cogumelo do gênero *Pleurotus ostreatus* var. *florida* foi capaz de diminuir a eclosão de larvas de *Ancylostoma* spp., mesmo sendo utilizado o cogumelo adulto. Além disso, no segundo experimento, o fungo demonstrou possuir atividade sobre ovos de *Toxocara canis*, retardando o desenvolvimento larval.

Novos estudos devem ser conduzidos a fim de entender o mecanismo de predação, pois confirmada a ação enzimática, o cogumelo terá potencial inclusivo na medicina terapêutica, quando alinhado a tecnologia de nanoencapsulamento.

## 5. REFERÊNCIAS

- ALDAWEK, A.M.; LEVKUT, M.; REVAJOVÁ, V.; KOLODZIEYSKI, L.; SEVEIKOVÁ, Z.; DUBINSKÝ, P. Larval toxocarosis in sheep: the immunohistochemical characterization of lesions in some affected organs. **Veterinary Parasitology**, v.105, n.3, p.207-214, 2002.
- ANDRADE, L. Aspectos clínico-epidemiológicos da toxocaríase humana. **Journal of Tropical Pathology**, 29, 2000.
- ARAUJO, P. Observações pertinentes à primeiras ecdises de larvas de *Ascaris lumbricoides*, *Ascaris suum* e *Toxocara canis*. **Rev Inst Med Trop São Paulo**. 14:83-90, 1972.
- ARAÚJO, A.; FERREIRA, L. F.; CONFALONIERI, U; CHAME, M. “Hookworms and the Peopling of America”, **Cadernos de Saúde Pública**, 40, p. 226-33, 1988.
- ARAÚJO, J.V.; MOTA, M.A.; CAMPOS, A.K. Controle de helmintos de animais por fungos nematófagos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, n.0, p. 165- 169, 2004.
- BALAN, J.; GERBER, N. Attraction and killing of the nematode *Panagrellus redivivus* by the predacious fungus *Arthrobotrys dactyloides*. **Nematológica**, v.18, n.1, p.163-173, 1972.
- BARRON, G.L. The nematode-destroying fungi. Topics in microbiology. Guelph, Canadá: Canadian Biological Publications, P.140, 1977.
- BISARIA, R.; MADAN, M. Mushrooms: potential protein source from cellulosic residues. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 5, 251-259, 1983.
- BLAZIUS, R. D. Ocorrência de protozoários e helmintos em amostras de fezes de cães errantes da Cidade de Itapema, Santa Catarina. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** vol.38, n.1, p.73-74, 2005.
- BONATTI, M. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. **Food Chemistry**, v. 88, 2004.
- BONONI, V. L. R. & TRUFEM, S.F.B. **Cogumelos Comestíveis**. 1 ed. São Paulo: ícone, 1995.
- BURROWS, C.F.; BATT, R.M.; SHERDING, R.G. Disease of the small intestine. In: ETTINGER, S. J. and FELDMAN, E. C., Textbook of Veterinary Internal Medicine **Disease of the dog and cat**, 4 ed., v. 2, 1995.
- CARVALHO, E. A. A.; ROCHA, R. L. Toxocaríase: larva *migrans* visceral em crianças e adolescentes. **Jornal de Pediatria** (Rio J.). vol.87, n.2, pp.100-110, 2011.
- CAUMES E. Treatment of cutaneous larva *migrans*. **Clinical Infectious Diseases** 30:811-814, 2000.
- CIARMELA, M.L.; LORI, M.G.; BASULADO, J.A. Biological interaction between soil fungi and *Toxocara canis* eggs. **Veterinary Parasitology**, v.103, n.3, p.251-257, 2002.

CIRNE, F. S. L.; SILVA, T.; CARVALHO, A. C. F.; DIAS, P. M.; RAMOS, C. D.; BATISTA, L. C. S. O. Contaminação ambiental por ovos de *Ancylostoma* spp. e *Toxocara* spp. em áreas de seis praça públicas do município de Valença, estado do Rio de Janeiro. **Acta Biomedica Brasiliensia**. v. 9, n.1, p.35-42, 2017.

COHEN, R.; PERSKY, L.; HADAR, Y. Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. **Applied Microbiology & Biotechnology**. V. 58, 582-594, 2002.

COSTA, A. F., GOMES-RUIZ, A.C., RABELO, E. M., Identification of gender-regulated genes in *Ancylostoma braziliense* by real-time RT-PCR. **Veterinary Parasitology**. 153: 227-84. 2008.

CURY, M.C.; LIMA, W.S. Helminhos de cães e gatos. **Caderno Técnico Veterinária e Zootecnia**, n 39, p.12 – 35, 2002.

FERREIRA, J. I. G., PENA, H. F. J., AZEVEDO, S. S. LABRUNA, M. B., GENNARI, S. M. Occurrences of gastrointestinal parasites in fecal samples from domestic dogs in São Paulo, SP, Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** vol.25 no.4, 2016.

FIGHERA, R. A. et al. Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense (1965-2004). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 28, n. 4, p. 223–230, 2008.

FIGUEIREDO, S.D.P, TADDEI, J.A.A.C., MENEZES, J.J.C., NOVO, N.F., SILVA, E.S., CRISTÓVÃO, H.L.G. Estudo clínico-epidemiológico da toxocaríase em população infantil. **Jornal de Pediatria** (Rio J). 81:126-32, 2005.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**, 4 ed. São Paulo: Icone, 607p. 2004.

FREITAS, M.G. **Helmintologia Veterinária**, 4 ed. Ed. Gráfica Rabelo LTDA, Belo Horizonte, p. 238, 1980.

GILLESPIE, S.H. The Epidemiology of *Toxocara canis*. **Parasitology Today**, v.4, n.6, p.180-182, 1988.

GRAMINHA, E.B.N; MONTEIRO, A.C.; SILVA, H.C.da; OLIVEIRA, G.P.; COSTA, A.J.da. Controle de nematóides parasitos gastrintestinais por *Arthrobotrys musiformis* em ovinos naturalmente infestados mantidos em pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 40, 927-933, 2005.

GRONVOLD, J.; NANSEN, P.; HENRIKSEN, S.A.; LARSEN, M.; WOLSTRUP, J.; BRECIANI, J.; RAWATE, H.; FRIBERT, L. Induction of traps by *Ostertagia ostertagi* larvae, chlamydospore production and growth rate in the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans*. **Journal of Helminthology**, v.70, n.4, p.291-297, 1996.

GUIMARAES, A. et al. Ovos de *Toxocara* sp. e larvas de *Ancylostoma* sp. em praça pública de Lavras, MG. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 39, n. 2, p. 293-295, 2005.

GUNDE-CIMERMAN, N. Medicinal Value of the genus *Pleurotus* (Fr.) P. Karst. (Agaricales S.I., Basidiomycetes). **Intern. J. of Medicinal Mushrooms**, v. 1 p. 69-80, 1999.

GUZMÁN, G. “Genus *Pleurotus* (Jacq.: Fr), *P. Kumm* (Agaricomycetidene): Diversity, taxonomic, problems and cultural and tradicional medicinal uses”, **International Journal of Medicinal Mushrooms**. Vol. 2, p. 95- 123. 2000.

HOFF, N.P., MOTA, R., GROFFIK, A., & HENGGE, U.R. Cutaneous larva *migrans*. **Hautarzt** 59: 622-626, 2008.

HOMERO, H. Q. **Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos**. 1ed. México, Limusa, 876p. 1984.

JATALA, P., Biological control of plant-parasitic nematodes. **Annals Review Phytopathology**, v.24, p.453-489, 1986.

KALKOFEN, U.P. Hookworms of dogs and cats. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, vol. 17, n 6, p.1341 - 1354, 1987.

KERRY, B.R., SIMONN, A.; ROVIRA, A.D. Observations on the introductions of *Verticillium chlamydosporium* and other parasitic fungi into soil for control of the cereal cyst-nematode *Heterodera avenae*. **Annals of Applied Biology**, v.105, n.3, p.509-516. 1984.

LA GUARDIA, M., VENTURELLA, G., VENTURELLA, F. On the chemical composition and nutritional value of *Pleurotus* taxa growing on umbelliferous plants (apiaceae). **J. Agric. Food Chem.** 53:5997-6002, 2005.

LEITE, L.C., MARINONI, L.P., CÍRIO, S.M., DINIZ JMF, Silva MAN, Luz E, et al. Endoparasitas em cães (*Canis familiaris*) na cidade de Curitiba, Paraná, Brasil. **Arch Vet Sci**; 9(2): 95-99, 2004.

LLOYD, S., PALMER, S.R.; SOULSBY, L.; SIMPSON, D.I.H. Toxocarosis. **Zoonoses Biology, Clinical Practice, and Public Health Control**. Oxford University Press, 841-854, 1998.

LYSEK, H., NIGENDA, G. Capacidad de autodeshelminización del suelo. **Salud Pública de México**, v.31, n.6, p.763–771, 1989.

MANKAU, R. Biological control of nematode pests by natural enemies. **Annals Review Phytopathology**, v.18, p.415-440, 1980.

MARQUES, J. P. et al. Contamination of public parks and squares from Guarulhos- SP by *Toxocara* spp. and *Ancylostoma* spp. **Rev. Inst. Med. Trop**, São Paulo, v. 54, n. 5, p. 267-271, 2012.

MAZIERO, R.; BONONI, V. L.; CAPELARI, M. Cultivo e Produtividade de *Pleurotus ostreatus* var. *Florida* em Mogi das Cruzes, SP, Brasil.. **Hoehnea**, v. 19, v. 1 -2 , n. 1-7, 1992.

MITTRA, S.; SASMAL, N.K.; SINHA, P.K. Infectivity of *Ancylostoma caninum* in dogs by different routes of inoculation. **Veterinary Parasitology**, v.16, n.3-4, p.289-293, 1984.

MONTEIRO, S. G. **Parasitologia na Medicina Veterinária**, Editora Roca Ltda. São Paulo, 2011.

MORGAN-JONES, G.; RODRIGUES-KABANA, R., Fungal biocontrol for the management of nematodes In: **Veech, J.; Dickson, D.W.**(eds), *Vistas on Nematology*. USA: Maryland, p.94-99, 1987.

MORSY, H., MOGENSEN, M., THOMSEN, J., THRANE, L. Imaging of cutaneous larva *migrans* by optical coherence tomography. **Travel Med Infect Dis** 5:243-246. 2007.

MOTA, M.A.; CAMPOS, A.K.; ARAÚJO, J.V. Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.23, n.3, p.93-100, 2003.

NGAI, P.H.K.; NG, T.B. A ribonuclease with antimicrobial, antimitogenic and antiproliferative activities from the edible mushroom *Pleurotus sajor-caju*. **Peptides, New York**, V. 5, p. 11-17, 2004.

NORDBRING-HERTZ, B., Nematophagous fungi: strategies for nematode exploitation and for survival. **Micrabiology Sciences**, v.5, n.4, p.108-116, 1988.

PACIONI, G. **Guiade hongos**. 523 p. Barcelona: Grijalbo, 1982.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Editora Manole, São Paulo. 609p. 2002

PATRABANSH, S. & MADAN, M. Studied on cultivation, biological efficiency and chemical analysis of *Pleurotus sajor-caju* (FR.) Singer on different bio-wastes. **Acta Biotechnology**, v. 17, n. 2, p. 107-122, 1997.

PAWLOWSKI Z. Toxocariasis in humans: clinical expression and treatment dilemma. **J Helminthol**. 75:299-305, 2001.

PERUCA, L.C.B.; LANGONI, H.; LUCHEIS, S.B. Larva *Migrans* Visceral e Cutânea como Zoonoses: Revisão de Literatura. **Veterinária e Zootecnia**. São Paulo, v. 16, n. 4, p. 601-616, dez., 2009.

PIVOTO F.L., LOPES L.F.D., VOGEL, F.S.F., BOTTON, S.A., SANGIONI, L.A. Occurrence of gastrointestinal parasites and parasitism risk factors in domestic cats in Santa Maria, RS, Brazil. **Ciência Rural**; 43(8): 1453-1458, 2013.

PRATS, A. **Neonatologia e pediatria canina e felina**. São Caetano do Sul. 469p, 2005.

RIBEIRO, V.M. Controle de helmintos de cães e gatos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, n.1, p.88-95, 2004.

SANTAREM, V.A.; SERTOR, I.F.; BERGAMO, F.M.M. Contamination by *Toxocara* spp.s eggs in public parks and squares in Botucatu, São Paulo State, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, n. 6, p. 529-532, 1998.

SARANGI, I., GHOSH D., BHUTIA, S.K., MALLICK, S.K., MAITI, T.K. Antitumor and immunomodulating effects of *Pleurotus ostreatus* mycelia-derived proteoglycans. **Int Immunopharmacol** 6:1287- 1297, 2006.

SCAINI, C. J. Contaminação ambiental por ovos e larvas de helmintos em fezes de cães na área central do Balneário Cassino, Rio Grande do Sul. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** vol.36, n.5, p.617-619, 2003.

SOULSBY, E. J. L. **Helminthes, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals**.7. ed. London: Bailliere & Tindall, p 809,1982.

STEWART, J.M., CUBILLAN, L.D., CUNNINGHAM, E.T. Prevalence, clinical feature, and causes of vision loss among patients with ocular toxocariasis. **Retina**. 25:1005-13, 2005.

STIRLING, G.R.; SMITH, L.J. Field tests of formulated products containing either *Verticillium chlamydosporium* or *Arthobotrys dactyloides* for biological control of rootknot nematodes. **Biological Control**, v.11, n.3, p. 231- 239, 1998.

TAIRA, K.; SAEED, I.; PERMIN, A.; KAPEL, C. M. O. Zoonotic risk of *Toxocara canis* infection through consumption of pig or poultry viscera. **Veterinary Parasitology**, v.121, n.1-2, p.115-124, 2004.

VELHO, P.E.N.F.; FARIA, A.V.; CINTRA, M.L.; SOUZA, E.M.; MORAES, A.M. Larva *migrans*: A case report and review. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.45, n.3, p.167-171, 2003.

URQUHART, N. S., PAULSEN, S. G., LARSEN, D. P. Monitoring for policy-relevant regional trends over time. **Ecological Applications** 8(2):246-257, 1998.

WALLER, P.J.; LARSEN, M. The role the nematophagous fungi in the biological control of nematode parasites of livestock. **International Journal for Parasitology**, v.23, n., p.539-546, 1993.

WARTCHOW, F., PUTZKE, J., CAVALCANTI, M.A.Q. Agaricaceae Fr. (Agaricales, Basidiomycota) from areas of Atlantic Forest in Pernambuco, Brazil. **Acta Botanica Brasilica** 22: 287-299, 2008.

YASHVANT, P.; NARAIAN, R.; SINGH, V.K. Medicinal Properties of *Pleurotus* Species (Oyster Mushroom): A Review. **World Journal of Fungal and Plant Biology**, v. 3, n.1, p. 01-12, 2012.

ZADRAZIL, F. & KURTZMAN, R. H. The biology of *Pleurotus* cultivation in the tropics. **Tropical Mushrooms**. Hong Kong, the Chinese Univ. Press., 493 p., 1984.

## APÊNDICE 1 – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO

### Submission Confirmation



---

Thank you for your submission

---

**Submitted to** Ciência Rural

**Manuscript ID** CR-2019-0138

**Title** Atividade in vitro do fungo *Pleurotus ostreatus* var. *florida* sobre ovos de *Ancylostoma* spp. e *Toxocara canis*

**Authors** Oliveira, Dionatan  
Petry, Leticia  
Giacometti, Marjorie  
Monteiro, Silvia  
Dullius, Angela

**Date Submitted** 19-Feb-2019

---