



FEPEG

FÓRUM DE ENSINO,
PESQUISA, EXTENSÃO
E GESTÃO

TRABALHOS CIENTÍFICOS APRESENTAÇÕES ARTÍSTICAS E CULTURAIS DEBATES MINICURSOS E PALESTRAS

23 A 26 SETEMBRO DE 2015
Campus Universitário Professor Darcy Ribeiro

ISSN 1806-549X

A HUMANIZAÇÃO NA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO



EFICÁCIA DO EXTRATO DAS FOLHAS DE *PIPTADENIA VIRIDIFLORA* (KUNT) BENT. (MIMOSACEAE) NO CONTROLE *IN VITRO* DE *HAEMONCHUS CONTORTUS* DE OVINOS

Luís Henrique Assunção, Sergio Murilo Duarte, Franciellen Moraes-Costa, Kaike Magno de Macêdo, Sarah Maria Barbosa de Freitas, Maria Cristina Fiúza Ribeiro

Introdução

Os principais problemas encontrados na ovinocultura e que podem limitar o aproveitamento econômico dessa atividade, estão relacionados à sanidade, principalmente as parasitoses gastrintestinais. A alta prevalência e grande patogenicidade fazem de *Haemonchus contortus* uma das principais espécies de endoparasitas de ovinos no Brasil e no mundo. *H. contortus* é um dos mais patogênicos parasitas do abomaso e alimenta-se de sangue durante toda vida parasitária. Os ovinos com haemoncoses podem apresentar variados quadros de saúde, como anemia, edema submandibular e ainda casos de mortalidade em filhotes e fêmeas parturientes ocasionadas por esses parasitos são relativamente comuns [1].

O tratamento frequente dos rebanhos com anti-helmínticos tem sido a única medida de controle da verminose adotada pela maioria dos criadores. A administração constante e em doses inadequadas favorece a seleção de populações de parasitas resistentes aos princípios ativos e contribui para a contaminação dos produtos de origem animal com resíduos das drogas utilizadas [2].

Muitas espécies vegetais são tradicionalmente conhecidas como possuidoras de atividade anti-helmíntica, necessitando, entretanto, que suas eficácias sejam cientificamente comprovadas [3]. Para obtenção de sucesso nas criações de ovinos faz-se necessário adotar técnicas eficazes no controle das verminoses, aumentando assim o número de rebanhos cada vez mais resistentes e que dispensarão o uso de anti-helmínticos, e neste cenário os extratos vegetais aparecem como uma ótima opção, porém ainda é preciso muitos estudos que indiquem informações importantes sobre o assunto como dosagens efetivas, potencial de risco ambiental e influência no bem-estar animal [4].

Piptadenia viridiflora (Kunth) Benth. (Fabaceae Faboideae) conhecida como “surucucu” é encontrada no bioma Cerrado, é detentora de potencial medicinal, com registros de compostos químicos como taninos e flavonoides [5] e é uma espécie selecionada por ovinos em pastejo no Cerrado [6]. Diante disso, objetivou-se avaliar a atividade anti-helmíntica *in vitro* do extrato etanólico sem tanino das folhas de *Piptadenia viridiflora* no desenvolvimento embrionário de *H. contortus* em ovinos.

Material e métodos

A. Material vegetal e preparação do extrato etanólico

As folhas de *P. viridiflora* foram coletadas em Montes Claros/MG (W 43°50'33.56" e S 16°41'10.05"). Posteriormente, foram desidratadas em estufa com circulação forçada de ar a 40° C e foram pesadas de dois em dois dias, até atingir o peso constante. As folhas foram trituradas em moinho de facas com granulometria de 0,1 mm, armazenadas em sacos de papel escuro, livre da incidência de luz, em temperatura ambiente [6].

Para a preparação do extrato etanólico, as folhas desidratadas e trituradas (100 g), foram acondicionadas em recipientes de vidro âmbar acrescentando etanol PA (1.000 mL), que foi conservado em local escuro e em temperatura ambiente durante sete dias. Após esse período, o extrato foi filtrado em funil com gaze e algodão e foram levados à estufa de circulação forçada de ar a 40°C até atingir peso constante. Quando secos foram raspados e acondicionados em local fresco [6].

Para a extração do tanino, o extrato foi acrescido de água quente (95 °C) e a partir desta solução, 1 ml foi misturado com 4 ml de solução de gelatina a 1%, após ocorreu a centrifugação e o sobrenadante foi testado [7]. Subamostras foram submetidas à determinação de matéria seca (MS), a 105 °C, para cálculo das concentrações a serem testadas.

B. Teste de inibição da eclodibilidade

Para a avaliação *in vitro* da redução da eclosão de ovos de *H. contortus*, utilizou-se metodologia modificada do teste de eclodibilidade de acordo Coles *et al.* [8]. Em placas de microdiluição, foram adicionados 100 µL da solução, com aproximadamente 100 ovos e 100 µL das diluições do extrato. As placas foram homogeneizadas, cobertas com filme plástico e incubadas em estufa BOD a 28°C por 72h. Após esse período, foram adicionados 100 µL de



formaldeído 10 % (v/v) e as placas foram armazenadas sob refrigeração de aproximadamente 4 °C, para evitar a proliferação de fungos.

O extrato etanólico sem tanino, das folhas de *P. viridiflora* foi diluído em água purificada estéril para a obtenção das concentrações a serem testadas. Subamostras desse extrato foram submetidas à determinação de matéria seca (MS), a 105 °C, para cálculo das concentrações testadas.

C. Análise de dados

O experimento foi realizado com sete tratamentos e cinco repetições: I) albendazole (0,01 mg/mL), II) água estéril e III-VII) concentrações (0,075-1,2 mg/ml), em um delineamento inteiramente casualizado. A eficácia média de inibição da eclodibilidade foi calculada pela fórmula adaptada de Coles *et al.* [8]: % Eficácia = 100 x [1 - (L1 / número inicial de ovos)].

Procederam-se às análises em microscópio óptico na objetiva de 10x, quantificando-se os ovos blastomerados, os ovos larvados e as larvas de 1º estágio (L1). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo teste Tukey com 5% de probabilidade, no programa SAEG® 9.1.

Resultados e Discussão

A eficácia do EEST das folhas de *P. viridiflora* foi de 80,86 % na concentração de 1,2 mg/mL. A média de ovos blastomerados foi menor que o controle com anti-helmíntico. Para ovos larvados, a média foi maior em relação aos controles. Nas concentrações (0,075-1,2mg/mL) o número médio de larvas foi menor (16,0-51,8) em relação ao controle água estéril (70,8) (Tab. 1).

O extrato aquoso com tanino de *Eugenia uniflora* L., popularmente conhecida como “pitangueira”, na concentração de 200 mg/ml foi eficaz na redução de larvas (L1), inibindo em mais de 80% a eclosão de trichostrongilídeos [9]. Uma redução de eclosão superior à 95% foi observado nos extratos aquosos das folhas de *Mentha piperita* L. (hortelã) nas concentrações 115,9-196 mg/mL [9].

Ao extrair o tanino do extrato aquoso das folhas de *Alpinia zerumbet* e *Tagetes minuta* houve eficácia na inibição da eclodibilidade de entre 12,7-97,5 e 12,1-100% respectivamente nas concentrações entre 0,31-5,0 mg/ml [10]. Esses mesmos autores ao extrair o tanino do extrato aquoso das folhas de *Lantana camara* e *Mentha villosa* observaram eficácia na inibição da eclodibilidade de entre 19,7-18,3 e 97,6-24,7 % respectivamente nas concentrações entre 0,31-10 mg/ml.

Análises fitoquímicas do extrato etanólico de *P. viridiflora* indicaram a presença de taninos e flavonoides [6], os autores concluíram que nem todas as espécies do Cerrado que contêm maior concentração de tanino, são as que promovem maior eficácia *in vitro* no controle de *H. contortus*.

Considerações finais

Piptadenia viridiflora é uma espécie promissora para o controle do desenvolvimento embrionário de *Haemonchus contortus*. Há outros metabólitos secundários além do tanino, no extrato etanólico que atuam na eficácia da inibição da eclodibilidade. Testes *in vivo* com as folhas de *P. viridiflora* torna-se essencial para o desenvolvimento de novos produtos fitoterápicos, podendo contribuir para a redução da resistência anti-helmíntica em ovinos.

Agradecimentos

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico Desenvolvimento (CNPq). Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro. Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Programa de Educação Tutorial (PET-MEC/Sesu) e Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (PRPq-UFMG).

Referências

- [1] BIZIMENYERA, E. S., *et al.* *In vitro* activity of *Peltophorum africanum* Sond. (Fabaceae) extracts on the egg hatching and larval development of the parasitic nematode *Trichostrongylus colubriformis*. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 142, p. 336-343, 2006.
- [2] AMARANTE, A. F. T., *et al.* Efeito da administração de oxfendazol, ivermectina e levamisol sobre os exames coproparasitológicos de ovinos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 31-38, 1992.
- [3] VIEIRA, L. S. *Alternativas de Controle da Verminose Gastrointestinal dos Pequenos Ruminantes*. EMBRAPA. 10 p. 2003.



- [4] MOLENTO, M. B., *et al.* Alternativas para o controle de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 80, n. 2, p. 253-263, abr./jun., 2013.
- [5] LORENZI H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. v. 2.
- [6] MORAIS-COSTA, F., *et al.* Plants of the Cerrado naturally selected by grazing sheep may have potential for inhibiting development of *Haemonchus contortus* larva. **Trop Anim Health Prod**. DOI 10.1007/s11250-015-0866-8. 2015.
- [7] NYMAN, U., *et al.* Ethnomedical information and in vitro screening for angiotensin-converting enzyme inhibition of plants utilized as traditional medicines in Gujarat, Rajasthan and Kerala (India). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 60, p. 247-263. 1998.
- [8] COLES, G. C., *et al.* World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) – methods for detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 44, n. 1-2, p. 35-44, 1992.
- [9] HASSUM, I. C., *et al.* Acción de extractos de cuatro plantas en las larvas infectivas de nematodos gastrointestinales de ovinos. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 18, n. 2, p. 278-287. 2013.
- [10] MACEDO, I. T. F. *et al.* In vitro activity of *Lantana camara*, *Alpinia zerumbet*, *Mentha villosa* and *Tagetes minuta* decoctions on *Haemonchus contortus* eggs and larvae. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 190, p. 504-509. 2012.

Tabela 1. Valores médios de ovos blastomerados, ovos larvados e larvas rabiditoides de *Haemonchus contortus* em diferentes concentrações (mg/mL) do extrato etanólico sem tanino das folhas de *Piptadenia viridiflora*.

<i>Piptadenia viridiflora</i> (Tratamentos)	Ovos Blastomerados	Ovos Larvados	Larvas (L1)	Total de ovos + L1	Eficácia (%)
1,2	4,4 ^b	2,8 ^a	16,0 ^e	23,2	80,86
0,6	3,0 ^b	1,8 ^{ab}	49,2 ^{bc}	54,0	41,15
0,3	6,2 ^b	0,4 ^b	39,4 ^{cd}	46,0	41,68
0,15	3,0 ^b	1,0 ^{ab}	38,4 ^d	42,4	54,07
0,075	4,6 ^b	1,4 ^{ab}	51,8 ^b	57,8	38,04
Água estéril	0,0 ^b	0,0 ^b	70,8 ^a	70,8	--
Albendazole (0,01 mg/mL)	79,2 ^a	0,0 ^b	0,0 ^f	79,2	100,0
CV	21,08 %	91,15 %	12,84 %	--	--

Letras diferentes na coluna indicam diferenças significativas. Teste Tukey (p<0,05).

% Eficácia = 100 x [1 – (L1 / número inicial de ovos)].