

EFICÁCIA ANTI-HELMÍNTICA *IN VITRO* DO EXTRATO ETANÓLICO DE *OPERCULINA HAMILTONII* (G. DON) D.F. AUSTIN & STAPLES (1983) - BATATA DE PURGA

IN VITRO ANTHELMINTIC EFFECTIVENESS OF ETHANOLIC EXTRACTS OF *OPERCULINA HAMILTONII* (G. DON) D.F. AUSTIN & STAPLES (1983) – BATATA DE PURGA

M. M. ARAÚJO^{1*}, V. L. R. VILELA², W. A. SILVA³, R. V. R. SOUSA³,
T. F. FEITOSA⁴, A. C. R. ATHAYDE⁵

COMUNICAÇÃO CURTA

RESUMO

O experimento *in vitro* foi realizado para avaliar a ação do extrato etanólico da Batata de purga - *Operculina hamiltonii* (G. DON) D.F. Austin & Staples (1983), sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos. A recuperação dos ovos foi realizada em tamises e as larvas foram obtidas por meio de coproculturas, a partir de fezes de caprinos naturalmente infectados da mesorregião do Sertão Paraibano. O extrato foi utilizado nas concentrações de 50; 25; 12,5; 6,25 e 3,12 mg.mL⁻¹ para ambos os testes. Como controle positivo foi usado 0,2 mg.kg⁻¹ de moxidectina, e para testemunha, utilizou-se água destilada estéril. As placas foram examinadas ao microscópio óptico para contagem dos ovos em desenvolvimento e larvas móveis e imóveis, após 24 h, 48 h e 72 h de incubação. As concentrações do extrato etanólico da Batata de purga e os tratamentos testemunha e fármaco diferiram quanto ao número de ovos inviáveis e no teste de motilidade larval. O percentual de ovos viáveis decresceu com o aumento da concentração do extrato de Batata de purga, e que a partir da concentração de 25% do extrato, o percentual de ovos viáveis caiu para 53,07%, chegando a 29,57% na concentração de 50%, valores estes inferiores e significativos quando comparados com o controle positivo e negativo. A concentração do extrato da Batata de purga foi responsável pela redução no percentual de larvas viáveis, onde se observa que o extrato na concentração de 50% foi capaz de afetar negativamente 66,87% das larvas.

PALAVRAS-CHAVE: Caprinocultura. Helmintoses gastrintestinais. Fitoterapia.

SUMMARY

The experiment *in vitro* was realized to evaluate the action of the ethanolic extract of *Operculina hamiltonii* (G. DON) D.F. Austin & Staples (1983) -Batata de purga- on eggs and larvae of gastrointestinal nematodes of goats. The recovery of the eggs was realized in tamises and the larvae were obtained by means of larval culture, from feces of naturally infected goats of the semi-arid central region in Paraíba state, NE of Brazil. The extract was used at concentrations of 50; 25; 12.5; 6.25 and 3.12 mg.mL⁻¹ in both tests. Moxidectin (0.2 mg.kg⁻¹) was used as positive control, and in the negative control group was used distilled water. The plates were examined by optical microscopy, and the eggs and larvae counted were classified as: in development and movable and immovable larvae, after 24h, 48h and 72h of incubation. The concentrations of the ethanolic extract of *C. erosa* differed as the number of nonviable eggs and on the test of larval motility. The percentage of viable eggs decreased as the concentration of the extract of Batata de purga increased. When extract concentration reached 25%, the percentage of viable eggs decreased to 53.07%, and decreased further to 29.57% at concentration of 50%. The concentration of Batata de purga was responsible for the reduction of the percentage of viable larvae, where it was observed that the concentration of 50% affected negatively 66,87% of the larvae.

KEY-WORDS: Farming goat. Gastrointestinal helminthiasis. Phytotherapy.

^{1*} Doutorando em Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, 14884-900, Jaboticabal-SP. Autor Correspondência: mauriciomedprev@hotmail.com

² Mestrando em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Patos- PB.

³ Mestrado em Zootecnia, UFCG, Patos-PB.

⁴ Graduada em Medicina Veterinária, UFCG, Patos-PB.

⁵ Doutora em Ciências Biológicas, Professora Associada da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, UFCG, Patos-PB.

Os prejuízos à caprinocultura nacional causadas pelos nematódeos gastrintestinais são mais evidentes na região Nordeste, onde a exploração desta espécie animal é mais intensa e de relevante importância social. A utilização de anti-helmínticos contra nematódeos gastrintestinais de pequenos ruminantes, especialmente caprinos, é necessária, levando a maioria dos criadores a aplicarem diversos grupos de anti-helmínticos com várias dosificações por ano, causando diminuição da eficácia dos produtos (VIEIRA & CAVALCANTE, 1998).

Os frequentes surtos de verminoses junto à criação de caprinos no semiárido paraibano caracterizam o modelo inadequado de controle que vem sendo utilizado pelos produtores. A utilização de sub-dosagens, a persistência da utilização de anti-helmínticos com o mesmo princípio químico, o momento errado da everminação e a falta de medidas adequadas de manejo, ocorrem por deficiência de informações técnicas adequadas bem como sua disponibilidade junto aos pecuaristas; vindo a contribuir para o rápido desenvolvimento da resistência anti-helmíntica (ALMEIDA, 2005).

Muitas pesquisas têm buscado desenvolver produtos baseados em substâncias naturais, que tenham a capacidade de interferir nos processos biológicos dos parasitas, como reguladores de crescimento e também no comportamento alimentar (CHAGAS 2004).

A fitoterapia surge como alternativa para aumentar os lucros da criação, reduzindo o uso de anti-helmínticos convencionais (VIEIRA, 1991). Roeder (1988) refere-se à importância do emprego de plantas medicinais nas enfermidades dos rebanhos nas regiões semiáridas do Nordeste do Brasil e sugere a intensificação do uso das mesmas.

Este trabalho teve como objetivo avaliar *in vitro* a ação de extratos etanólicos de *Operculina hamiltonii* (G. DON) D.F. Austin & Staples (1983) - batata de purga sobre ovos e larvas de nematódeos gastrintestinais de caprinos.

O experimento foi desenvolvido nos Laboratórios de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos (LDPAD) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) e no Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LPPN) da Universidade Regional do Cariri (URCA).

Amostras da *Operculina hamiltonii* (G. DON) D.F. Austin & Staples (1983) Batata de purga foram coletadas no Centro de Saúde e Tecnologia Rural – CSTR/UFCG – Campus de Patos nos meses de Agosto e Setembro de 2008. Após a identificação das partes indicadas para estudo etnofarmacológico, as exsicatas foram depositadas no Herbário Caririense Dárdano de Andrade - Lima da Universidade Regional do Cariri – URCA sob o número # 3750.

O material vegetal da planta foi colocado para secagem ao ar por 48 horas, em seguida levado à estufa de ventilação forçada a 60° C por 24 horas, logo após, pesado e moído.

A obtenção dos extratos etanólicos seguiu a metodologia descrita por Matos (1997) e foi realizada

no Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais – LPPN da Universidade Regional do Cariri – URCA. Para a realização do extrato etanólico, foi utilizado 500,01g do pó do tubérculo da Batata de purga para 1.000 mL de etanol PA. Para extração, a mistura foi deixada em repouso por 72h, em seguida foi executado o processo de filtração e concentrado em rota- evaporador obtendo um material viscoso. Para uma eficiente evaporação do solvente, o material foi colocado em frascos de vidro tarados e colocados em banho-maria.

Para obtenção dos ovos e larvas de helmintos, foi utilizado 01 (um) caprino da raça Moxotó do Centro de Saúde e Tecnologia Rural – CSTR/UFCG, o qual foi coletado as fezes diretamente da ampola retal, acondicionadas em sacos plásticos e imediatamente encaminhadas para o Laboratório de Doenças Parasitárias e Animais Domésticos CSTR/UFCG, sob temperatura ambiente.

Os ovos foram obtidos através da técnica dos quatro tamises (UENO & GUTIERREZ, 1983). A partir da suspensão obtida através da técnica de Gordon & Whitlock (1939) foram utilizados 2 mL do extrato nas concentrações 50; 25; 12; 6 e 3% mg/mL para cada 200 ovos em 2 mL, de acordo com Hubert & Kerboeuf (1984) e colocado na placa de Petri. As variáveis quantificadas foram ovo viável (OVV) e ovo inviável (OVI), identificado pelo gênero.

As larvas infectantes foram obtidas através da coprocultura pela técnica de Roberts & O'Sullivan (1950). A partir da suspensão obtida através da coprocultura procedeu-se a contagem e identificação das larvas. Foram utilizados 2 mL do extrato nas concentrações 50; 25; 12; 6 e 3% mg/mL-1 para cada 200 larvas em 2 mL, de acordo com Hubert & Kerboeuf (1984) e colocados em placa de Petri. As variáveis quantificadas foram larva viável (LVV) e larva inviável (LVI). O procedimento foi igualmente repetido com água destilada para o controle negativo e com albendazole 5% 1 (1Farmazole 1,9%® - Laboratório Fagra) para o controle positivo.

Os ensaios foram realizados em triplicatas. As leituras ao microscópio óptico, para a contagem dos ovos e larvas em desenvolvimento foram realizadas com 24h, 48h e 72h de incubação. Os resultados das cinco concentrações dos extratos, bem como os controles positivo e negativo, todos em triplicatas, foram avaliados em três tempos (24, 48 e 72 horas) e foram comparados por meio de cálculos estatísticos, utilizando-se o teste de Tukey a 5% de significância. Todos os dados foram transformados em porcentagem.

A análise parasitológica de contagem média foi de 4.500 OPG (ovos por grama de fezes). Os ovos apresentavam características morfológicas típicas da Superfamília *Trichostrongylidae*.

Na contagem e identificação das larvas verificou-se uma média de 2.150 larvas por placa, onde 70% das larvas correspondiam ao gênero *Haemonchus*, 16% *Trichostrongylus* e 14% ao gênero *Oesophagostomum*.

Com a metodologia utilizada no experimento, constatou-se que o percentual de ovos viáveis decresceu com o aumento da concentração do extrato

Tabela 1 - Eficácia anti-helmíntica *in vitro* do extrato da Batata de purga em ovos de helmintos gastrintestinais de caprinos no semi-árido paraibano.

OVV	24h	48h	72h
Controle negativo	95,67Aa	96,33Aa	92,33Aa
Controle positivo	93,63Aa	75,73Aa	52,83Bb
Ext. 3%	88,33Aa	38,33Bb	52,53Bb
Ext. 6%	77,83Aa	57,13ABa	68,07ABa
Ext. 12%	67,57Aa	52,50ABa	59,60ABa
Ext. 25%	21,53Ba	44,57ABa	53,07Ba
Ext. 50%	20,93Ba	38,00Ba	29,77Ba

Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúscula nas linhas não se diferem estatisticamente pelo teste de tukey a 5%. Obs: OVV= ovos viáveis.

Tabela 2 - Eficácia anti-helmíntica *in vitro* do extrato da Batata de purga em larvas de helmintos gastrintestinais de caprinos no semi-árido paraibano.

LVV	24h	48h	72h
Controle negativo	100,00Aa	100,00Aa	99,27Aa
Controle positivo	100,00Aa	98,43Aa	95,97Aa
Ext. 3%	100,00Aa	93,00ABa	97,43Aa
Ext. 6%	97,67Aa	90,77ABa	95,60Aa
Ext. 12%	98,77Aa	87,70ABab	74,70Bb
Ext. 25%	91,40Aa	84,10ABa	62,33Bb
Ext. 50%	85,50Aa	70,70Ba	33,13Cb

Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúscula nas linhas não se diferem estatisticamente pelo teste de tukey a 5%. Obs: LVV= larvas viáveis.

de *Operculina hamiltonii* (G. DON) D.F. Austin & Staples (1983) - Batata de purga, e que a partir da concentração de 25% do extrato, o percentual de ovos viáveis caiu para 53,07% chegando a 29,77% na concentração de 50%, valores estes inferiores e significativos quando comparados com o controle positivo e negativo (Tabela 1), demonstrando assim ser o mesmo eficaz como inibidor de eclosão de ovos de nematódeos gastrintestinais de pequenos ruminantes.

Ao relacionar os tratamentos aplicados com o tempo de exposição dos ovos de helmintos gastrintestinais, observou-se que não houve diferença significativa do tempo de exposição dos ovos ao extrato, sendo, portanto, a concentração do extrato responsável pela ação anti-helmíntica.

O número de pesquisas a cerca da ação de extratos de plantas sobre nematódeos gastrintestinais em pequenos ruminantes ainda é escasso e, mesmo assim, pouco conclusivos, dificultando uma discussão com efeito comparativo. No entanto, pode-se explorar os resultados encontrados por Girão et al. (1998), que realizaram um levantamento etnoveterinário com plantas possuidoras de ação anti-helmínticas em

caprinos, no estado do Piauí. Neste trabalho realizado *in vitro* constatou-se a ação ovicida da Batata de purga sobre ovos de nematóides gastrintestinais de caprinos, administradas nas doses entre 0,4 a 5g, da planta seca triturada para 10 g de fezes, utilizando-se o método de coprocultura.

Athayde et al., (2004) utilizando sementes de abóbora (*Cucurbita pepo*), Batata de purga - *Operculina hamiltonii* (G. DON) D.F. Austin & Staples (1983) e melão de São Caetano (*M. charantia*), em núcleos rurais situados nos municípios de Patos-PB, São Mamede-PB e Santa Terezinha-PB, constataram atividade anti-helmíntica, por meio da redução do OPG em caprinos naturalmente infectados, 30 dias após a sua administração.

Ao avaliar a ação do extrato da Batata de purga sobre a viabilidade de larvas, podemos observar que o percentual de larvas viáveis teve um decréscimo à medida que a concentração do extrato aumentava, apresentando o mesmo diferença significativa a partir da concentração 12%, chegando a 33,13% de larvas viáveis na concentração de 50% (Tabela 2). Apesar da diferença significativa quando comparada com a

testemunha observamos que o extrato da batata de purga quando aplicada em testes *in vitro* ineficiente no controle de larvas de helmintos gastrintestinais de pequenos ruminantes quando comparado aos propostos pelo Grupo Mercado Comum para substâncias químicas (GMC 1996), que preconiza ser: altamente efetivo > 98%; efetivo entre 90- 98%; moderadamente efetivo entre 80-89% e insuficientemente ativo < 80% (não registrável).

No Estado do Piauí, foram listadas por Girão et al., (1998), com base em informações de produtores de caprinos, 14 plantas como possuidoras de atividade antihelmíntica. As plantas relacionadas foram: *Operculina sp.* (Batata de purga), *Cucurbita moschata* (Abóbora), *Luffa operculata* (Bucha paulista, Cabacinha), *Heliotropium sp.* (Crista de galo), *Mentha sp.* (Hortelã), *Carica papaya* (Mamoeiro), *Chenopodium ambrosioides* (Mastruço), *Momordica charantia* (Melão de são caetano), Milome (nome científico não identificado), *Plumeria sp* (Pau de leite, Janguba), *Jatropha curcas* (Pinhão-branco, Pinhão de purga), *Scopularia dulcis* (Vassourinha) e *Croton sp* (Velame).

Almeida et al. (2003), em estudo realizado também *in vitro*, observaram a ação do extrato do *Cymbopogon citratus* e *Digitaria insularis* sobre larvas de nematoides gastrintestinais de caprinos, constatando uma redução acima de 95,00% da superfamília Strongyloidea. As doses administradas foram de 224 e 355,2 mg/mL, para as plantas respectivamente.

A exposição das larvas de helmintos gastrintestinais ao extrato da Batata de purga em períodos consecutivos (24, 48 e 72h) resultou na redução significativa do número de larvas viáveis. Esta redução se deu em relação ao tempo de exposição, sendo o período de 72h responsável pelos menores valores, quando comparados com 24 e 48 horas. A concentração do extrato da Batata de purga foi responsável pela redução no percentual de larvas viáveis, onde se observa que o extrato na concentração de 50% foi capaz de inviabilizar 66,87% das larvas. Fato este atribuído ao tempo de exposição do extrato, bem como a concentração do mesmo.

Os resultados obtidos neste estudo sugerem que o extrato da Batata de Purga é eficaz no tratamento *in vitro* de nematoides gastrintestinais de caprinos. No entanto, mais estudos *in vivo* são necessários para validar o seu uso no controle alternativo das parasitoses nos animais.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. A. O.; BOTURA, M. B.; SANTOS, M. M.; COSTA, G. N.; COSTA S. L.; BATATINHA, M. J. M. Efeitos dos extratos aquosos de folhas de *Cymbopogon citratus* Linn. (capim santo) e de *Digitaria insularis* Linn. (capim açú) sobre cultivo de larvas de nematódeos gastrintestinais de caprinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v.12, n.3, p.125-129, 2003.
- ALMEIDA, W. V. F. **Uso de plantas medicinais no controle de helmintos gastrintestinais de caprinos naturalmente infectados**. Patos: Universidade Federal de Campina Grande, 2005. 63p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Campina Grande, 2005.
- ATHAYDE, A. C. R.; ALMEIDA, W. V.; MORAES, L. F. F.; LIMA, R. C. A. Difusão do Uso de Plantas Medicinais Anti-helmínticas na Produção de Caprinos do Sistema de Produção da Região de Patos, PB. In: I CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA: RECONHECER DIFERENÇAS, CONSTRUIR RESULTADOS, 2004, Belo Horizonte. **Anais... UNESCO**. 2004. v.II, p.498-506.
- CHAGAS, A. C. S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, supl.1, p.156-160, 2004.
- GIRÃO, E. S.; CARVALHO, J. H.; LOPES, A. S.; MEDEIROS, L. P.; GIRÃO, R. N. Avaliação de plantas medicinais com efeito anti-helmíntico para caprinos. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 1998. 9p. (Embrapa Meio-Norte. Pesquisa em andamento, 78).
- GMC - GRUPO MERCADO COMUM. Regulamento técnico para registros de produtos antiparasitários de uso veterinário. Resolução n. 11/93. MERCOSUL, Resolução n.76, 1996.
- IDRIS, A. A.; ADAM, S. E. I.; TARTOUR, G. The anthelmintic efficacy of Artemisia herba-alba against *Haemonchus contortus* infection in goats. **Natural Institute of Animal Healthy**, v.22, n.3, p.138-143, 1982.
- GORDON, H. M. & WHITHLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**, v.12, n.1, p.50-52, 1939.
- MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: UFC Edições, 1997, p.44-46.
- ROBERTS, F. H. S. & O' SULLIVAN, J. P. Methods of egg counts and laval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Agriculture Research**, v.1, p.99-102, 1950.
- ROEDER, R. Promoção da agricultura em regiões semi-áridas do Nordeste (Piauí) brasileiro: pesquisa sobre a pecuária nos planaltos da chapada. Teresina: DNOCS – 1ª DR, p.125, 1988.
- UENO, H., GUTIERREZ, V. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. Tóquio: Japan International Cooperative Agency, 1983, p. 176.
- VIEIRA, L. S. Epidemiologia e Controle das Principais Anoparasitoses de Caprinos e Ovinos, In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 28., 1991, João Pessoa. **Anais... João**

Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia.
Caprinocultura e Ovinocultura, p.27-36, 1991.

VIEIRA, L. S. & CAVALCANTE A. C. R. Resistência anti-helmíntica em nematoides gastrintestinais de caprinos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.20, n.3, p.112-117, 1998.