



Eficácia anti-helmíntica do extrato etanólico das folhas da *Momordica charantia* L., sobre ovos e larvas de nematódeos gastrintestinais de ovinos no estado do Acre, Amazônia Ocidental

Wallef Bandeira Rodrigues¹, Adriano Monteiro de Souza¹, Joelton da Silva Barata², Cleb Rocha², Sara Lucena de Amorim^{3*}

¹Discente do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Acre, Rio Branco, Acre, Brasil. ²Engenheiro Agrônomo Graduado pela Universidade Federal do Acre, Rio Branco, Acre, Brasil. ³Docente do Curso de Medicina Veterinária, Campus Rolim de Moura da Universidade Federal de Rondônia, Brasil. *saravet.la@bol.com.br

Recebido em: 19/07/2020

Aceito em: 30/07/2020

Publicado em: 24/08/2020

RESUMO

Este estudo objetivou avaliar o efeito do extrato da *Momordica charantia* L., sobre ovos e larvas de nematódeos gastrintestinais de ovinos naturalmente infectados. Para os testes, foram utilizadas fezes de animais naturalmente infectados, que passaram por exames parasitológicos de OPG e coprocultura. Durante os testes, foram adicionadas as culturas fecais, doses de 380µg do extrato, para o grupo CL-50%, e 760µg, para o grupo CL-100%. O grupo controle, não recebeu tratamento, apenas água destilada. A análise fitoquímica evidenciou a presença de importantes compostos metabólicos, como fenóis, taninos e esteroides triterpenoides. O resultado da coprocultura, expressa eficácia do produto testado em 22,15%, para o grupo CL-50%, e 34,72%, para o grupo CL-100%. A *Momordica charantia* L. exerce controle efetivo sobre infecções por nematódeos, mas deve ser testada em outras doses, buscando maior eficácia. **Palavras-chave:** Plantas medicinais. Nematódeos. Ovinos.

Anthelmintic efficacy of the ethanolic extract of the leaves of *Momordica charantia* L., on eggs and larvae of gastrointestinal nematodes of sheep in the state of Acre, western Amazon

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of the *Momordica charantia* L. extract on eggs and larvae of gastrointestinal nematodes of sheep. For the tests, feces from naturally infected animals were used, which underwent parasitological examinations of OPG and coproculture. During the tests, faecal cultures, 380µg of the extract were added to the CL-50% group and 760µg to the CL-100% group. The control group received no treatment. The phytochemical analysis evidenced the presence of important metabolic compounds, such as phenols, tannins and triterpenoid steroids. Coproculture, expressed efficacy of the tested product at 22.15% for CL50% group and 34.72% for CL-100% group. *Momordica charantia* L. exerts effective control on nematode infections, but should be tested in other doses, seeking greater efficacy.

Keywords: Medicinal plants. Nematodes. Sheep.

INTRODUÇÃO

Uma das principais problemáticas nas culturas de criação de pequenos ruminantes são as parasitoses gastrintestinais, que estão significativamente atreladas a grandes perdas econômicas, expressas de maneira notória nas taxas de mortalidade, crescimento, reprodução e em todos os parâmetros produtivos gerais dos rebanhos (CORDEIRO et al., 2010).

O predomínio de helmintoses se faz presente com mais frequência em países em processo de desenvolvimento, por consequência de práticas de manejo deficientes e medidas de controle pouco eficazes, além do caráter de distribuição dos rebanhos ao redor do mundo, que possui maior concentração em países com este perfil (BRITTOJUNIOR et al., 2011). Outro contraponto ao sucesso da ovinocultura no Brasil, é o desenvolvimento de resistência aos princípios ativos de ação anti-helmíntica conhecidos e utilizados nos tradicionais planos estratégicos de controle parasitário.

Portanto, a necessidade de métodos alternativos, surge como uma demanda real no cenário produtivo brasileiro. Fato este, evidenciado pelos inúmeros registros de grupos de parasitas com perfil de resistência anti-helmíntica, já presentes em diversas regiões do Brasil (SCZESNYMORAES et al., 2010).

A utilização de fitoterápicos, gradativamente ganha espaço como possível solução para a busca de novos princípios a serem integrados nas formulações de novos produtos de caráter antiparasitário. O melão de São Caetano (*Momordica charantia* L.) destaca-se entre uma das principais plantas a apresentarem perfil anti-helmíntico (BRITTO-JUNIOR et al., 2011). No entanto pouco se sabe sobre a eficácia da *Momordica charantia* L. encontradas no bioma Amazônico com atividade anti-helmíntica, uma vez que condições edafoclimáticas podem interferir nos resultados e no potencial bioativos dos metabólitos secundários encontrados na planta (AMORIM, 2016). O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antiparasitária do extrato etanólico do Melão de São Caetano (*Momordica charantia* L.) sobre ovos e larvas de nematódeos gastrintestinais de ovinos infectados naturalmente na região de Rio Branco, AC.

MATERIAIS E MÉTODOS

Comissão de ética

O experimento foi aprovado pela comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Acre-UFAC (protocolo número 10/2018).

Coleta da planta e obtenção do extrato etanólico

A coleta da planta foi realizada no município de Plácido de Castro, estado do Acre. Após a coleta foi realizado um trabalho que implica no processo de desidratação das folhas de *Momordica charantia* L. a planta em questão, por um período de 48 horas ao ar livre, e por mais 24 horas em estufa de ventilação forçada a temperatura controlada de 60 °C, logo após, pesado e moído. A obtenção do extrato etanólico das folhas da *Mormodica charantia* L. seguiu a metodologia descrita por Mattos (1997) e foram realizadas no laboratório de produtos naturais da Fundação de apoio de Pesquisa do estado do Acre –FUNTAC.

Experimento in vitro

Prospecção fotoquímica

Os testes fitoquímicos foram realizados no Laboratório de Química do Centro de Ciências Biológicas e da Natureza – CCBN da Universidade Federal do Acre – UFAC. Nesta fase os extratos da planta foram submetidos a testes que buscavam indicar a presença de metabólitos secundários, compostos orgânicos presentes nas plantas, não diretamente ligados ao metabolismo de crescimento, mas sim ao desempenho de fatores de controle a situações abióticas, portanto importantes ao nosso trabalho no que diz respeito a sua associação ao potencial de ação antiparasitária. Nesta fase a partir da utilização de reagentes indicadores específicos para cada teste realizado, foram feitos ensaios em triplicata e realizada a leitura/interpretação de acordo com a metodologia utilizada, que por sua vez é baseada nas reações cromáticas e de precipitação descritas por Simões et al. (2001).

Ensaio de toxicidade – Artemia salina Leach

Para análise de toxicidade do extrato da *Mormodica charantia* L. utilizou a metodologia de Araújo et al. (2010). Para o cálculo da CL50% utilizou-se o método de Análise de Probits, de acordo como o teste de Trimmed Spearman-Kärber

(HAMILTON et al.1977) com intervalos de confiança de 95%, utilizando o software TRIMMED (versão 1.5).

Realização do exame parasitológico de fezes: OPG (ovos por gramas de fezes)

O exame parasitológico de fezes foi realizado com animais naturalmente infectados, o material fecal utilizado, foi de ovinos adultos mestiço Santa Inês/Doorper naturalmente infectados e mantidos sem tratamento anti-helmíntico por pelo menos 60 dias, provenientes de uma propriedade particular da região do Baixo Acre criados em sistema semi-intensivo e com indicador parasitológico de contagem média de 1000 ovos por gramas de fezes (OPG). Amostras fecais foram coletados diretamente da ampola retal dos animais, e acondicionado em potes coletores, a fim de evitar contaminação deste material. Posteriormente foi encaminhado para processamento no Laboratório de Toxicologia e Fisiologia-UFAC. O processamento das amostras foi realizado segundo a metodologia de Gordon & Whitlock modificado (UENO; GUTIERRES,1983).

Realização do exame parasitológico de fezes: coprocultura

Após a realização do exame parasitológico para avaliar o grau parasitário das fezes, amostras fecais foram submetidas ao teste de coprocultura, segundo a metodologia de Robert O`Sullivan (1950). Foram adicionadas as culturas fecais de animais naturalmente infectados, 2 ml das concentrações do extrato etanólico, definidas a partir dos testes de toxicidade e mantidas em estufa BOD para controle de temperatura e umidade. Após sete dias, foram realizadas a recuperação e contagem das larvas. As larvas foram visualizadas por microscopia óptica, utilizando aumentos de 10x, e contadas em sua totalidade. Sendo assim possível, a determinação da sua taxa de incidência, bem como a sua identificação por gênero a partir das características morfológicas determinadas pela literatura. No grupo controle negativo utilizou água destilada. Todos os tratamentos foram realizados em triplicatas.

O cálculo da eficácia anti-helmíntica do extrato, que compara cada concentração em relação ao grupo controle, foi realizado da seguinte maneira: Legenda:

L1/L Inicial= Grupo controle (Coprocultura realizada sem adição do extrato).

L2/L Tratamento= Grupo Tratamento (Coprocultura realizada com adição do extrato).

Fórmula: $L1/ \text{Inicial (Média)} - L2/ \text{Tratamento (Média)} \times 100 = \text{Percentual de eficácia do Produto testado.}$

$L1/\text{Inicial (Média)} \% \text{ de eficácia} = (\text{média de helmintos das amostras do grupo controle} - \text{média de helmintos das amostras do grupo tratado}) \text{ sobre a } (\text{média de helmintos das amostras do grupo controle}) \times 100.$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de toxicidade com *Artemia salina* determinou uma concentração letal de 50% de 320µg/ml. Sendo assim as concentrações testadas no presente trabalho foram: o grupo CL 50% que corresponde a concentração de 320 µg /ml e o outro grupo testou a dose duplicata, ou seja, o grupo CL100% com a concentração de 740 µg /ml.

Os resultados fitoquímicos demonstraram a presença de compostos bioativos indicativos de atividade anti-helmíntica (Tabela 1).

Tabela 1 - Resultados dos testes de Prospecção Fitoquímica.

Bioativos	Resultados
Fenóis e Taninos	+
Saponinas	-
Esteroides triterpenoides	+
Alcaloides (Dragendorff)	-
Alcaloides (mayer)	-
Flavonoides	-
Ácidos orgânicos	-

+ (Positivo para o reagente); - (Negativo para o reagente);

Os grupos tratados com o extrato etanólico das folhas da *Mormodica charantia* L. demonstrou uma inibição no desenvolvimento parasitário, ou seja, do estágio de ovo para as fases larvais, havendo uma redução na contagem total de larvas infectantes (L3) recuperadas na coprocultura em relação ao grupo controle (Tabela 2).

Tabela 2 - Média e percentual de redução (%) do número de larvas de terceiros estágio (L3) de nematódeos gastrintestinais recuperados de ovinos mestiços de Santa Inês, após o tratamento com o extrato etanólico de *M. charantia* L. na concentração de 380 µg /ml (CL50%) e 760 µg /ml (CL100%).

Gênero/ Grupo	<i>Haemonchus</i> sp	<i>Oesophagostom</i> um sp.	<i>Trichostrongylus</i> sp.	Média Geral	Percentual de redução %
Tratamento CL 50%	1166(98.00%)	16.33(1.40%)	7(0.60%)	189,33(100%)	22,72%
Tratamento CL100%	1009(99.50%)	3.33(0.34%)	1.6(0.16%)	1013,93(100%)	34,15%
Controle Negativo	1455(94.50%)	3.6(0.24%)	81(5.25%)	1539,6(100%)	-----

Estes resultados podem estar associados a presença de taninos encontrados nos testes fitoquímicos. Estudos sugerem que a capacidade anti-helmíntica notada nas plantas, está associada aos taninos condensados, o qual interage indiretamente com o hospedeiro aumentando sua resposta imunologia e diretamente sobre o parasito impedindo processos biológicos e incapacitando a viabilidade deste no organismo (OLIVEIRA et al., 2011).

Foram identificados no exame de coprocultura três gêneros de nematódeos gastrintestinais: *Haemonchus* sp., *Oesophagostomum* sp., e *Trichostrongylus* sp. Onde o gênero que apresentou a maior taxa de prevalência, foi *Haemonchus* sp., com 98.70% em seguida *Oesophagostomum* sp., com 0.90% e *Trichostrongylus* sp., com 0.40% (Tabela 2).

A prevalência do parasitismo por *Haemonchus* sp., apresentada neste estudo, se faz semelhante aos resultados encontrados em outros estudos realizados, onde culturas fecais de animais naturalmente infectados por parasitismo misto, também mostraram predominância do gênero (SCZESNY-MORAES et al., 2010). A atividade larvicida do extrato é representada na diminuição da eclosão de ovos, o que implica diretamente na taxa de incidência de larvas presentes nas leituras dos resultados das culturas fecais realizadas no estudo.

Apesar do percentual de redução dos grupos tratados terem sido baixo (22,72% e 34,15%), foi possível identificar que a medida que se aumentou a concentração do extrato também aumentou a eficácia do produto frente ao desenvolvimento parasitário. Assim sugerimos que outras concentrações maiores possam apresentar uma maior eficácia do produto frente as doenças parasitárias. Vários estudos comprovaram a

eficácia da *Mormodica charantia* L. como anti-helmíntica, porém em doses muito maiores quando comparadas com o presente trabalho (CORDEIRO et al., 2010, ALMEIDA et al., 2007).

Cabe ressaltar que o estudo tem grau de representatividade regional, o que significa dizer que os percentuais de eficácia, podem, e possivelmente serão variáveis de acordo com a região (edafoclimática) de incidência da planta. Uma vez que este fator implica numa série de características da planta, desde a sua morfologia até seu metabolismo e fisiologia de maneira geral (PINTO et al. 2000).

Sendo assim, se faz necessária a revisão dos testes, e alterações nas concentrações utilizadas. A fim de que seja encontrada uma dose mais responsiva, e conseqüentemente, mais adequada, no que diz respeito a grau de inibição e percentual de eficácia do produto. Também vale ressaltar a importância de continuar os estudos com *M. charantia* L. buscando o isolamento dos compostos bioativos e suas aplicações no controle estratégico das verminoses de ovinos.

CONCLUSÃO

A *Mormodica charantia* L. apresentou atividade anti-helmíntica, inibindo o desenvolvimento larval de nematódeos gastrintestinais, sendo assim uma boa alternativa no controle das verminoses de ovinos.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, W.V. F.; SILVA, M. L. C. R.; FARIAS, E. B.; ARHAYDE, A. C. R.; SILVA, W. W. Avaliação de plantas medicinais em caprinos da região do semiárido paraibano naturalmente infectados por nematódeos gastrintestinais. **Caatinga**, v. 20, n. 3, p. 1-7, 2007.

AMORIM, S. L. **Ação antiparasitária de plantas medicinais da Amazônia Ocidental sobre nematódeos gastrintestinais de ovinos: Prospecção Fitoquímica, Potencial Antihelmíntico e Análise Toxicológica**. 2016. 106 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2016.

ARAÚJO, M. G. F.; CUNHA W. R.; VENEZIANI, R. C. S. Estudo fitoquímico pre liminar e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de extrato obtido de frutos de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hill. (Solana-ceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, p. 205-209, 2010.

BRITO-JUNIOR, L. **Avaliação comparada da ação anti-helmíntica da batata de purga (*Operculina hamiltoni* (G. Don) D.F Austin & Staples), do melão de são caetano (*Momordica charantia* L.) e do capim santo (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em caprinos naturalmente infectados**. 2006. 52f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2006.

CORDEIRO, L. N.; ATHAYDE, A. C. R.; VILELA, V. L. R.; COSTA, J. G. M.; SILVA, W. A.; ARAUJO, M. M.; RODRIGUES, O. G. *In vitro* effect of the ethanolic extract of "melão de São Caetano" (*Momordica charantia* L.) leaves on the eggs and larvae of gastrointestinal nematodes from goats. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 4, p. 421-426, 2010.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Sperm- Karber: method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environmental Science & Technology**, v. 11, p. 714-719, 1997.

MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**. Fortaleza: UFC Edições. p. 44-46, 1997.

OLIVEIRA, L. M. B.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, M.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; MACEDO, I. T. F. Plantas taniníferas e o controle de nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, v. 41, p. 1967-1974, 2011.

PINTO, J. E. B. P.; SANTIAGO, E. J. A.; LAMEIRA, O. A. **Compêndio de plantas medicinais**. Lavras: PROEX/UFLA, 2000. 74 p (Boletim Extensão, 70).

ROBERTS, F. H. S.; O'SULLIVAN, J. P. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 1, p. 99-102, 1950.

SCESNEZY_MORAES, E. A.; BIACHIN, I.; CATTO, J. B.; SILVA, K. F.; HONER, M. R.; PAIVA, F. Resistência anti-helmíntica de nematóides gastrintestinais em ovinos, Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasil**, v. 30, n. 3, p. 229-236, 2010.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (org.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3.ed. Porto Alegre Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS, UFSC, 2001.

UENO, H.; GUTIERRES, V. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. Japan International Cooperation Agency, Tóquio, Japão. 1983.