

## Atividade anti-helmíntica do extrato etanólico das folhas da *Arrabidaea chica* sobre ovos e larvas de nematódeos gastrintestinais de ovinos

Thayna Ferreira Bispo dos Santos<sup>1</sup>, Adriano Monteiro de Souza<sup>1</sup>, Wallef Bandeira Rodrigues<sup>1</sup>, Joelton da Silva Barata<sup>2</sup>, Alex Cicinato Paulino de Oliveira<sup>3</sup>, Sara Lucena de Amorim<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Discente do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Acre, Rio Branco, Acre.

<sup>2</sup>Engenheiro Agrônomo graduado pela Universidade Federal do Acre, Rio Branco, Acre. <sup>3</sup>Docentes do Curso de Medicina Veterinária, campus Rolim de Moura, da Universidade Federal de Rondônia, Brasil.

\*[saravet.la@bol.com.br](mailto:saravet.la@bol.com.br)

Recebido em: 31/01/2021

Aceito em: 18/02/2021

Publicado em: 20/03/2021

### RESUMO

O uso indiscriminado de produtos antiparasitários, na produção animal de ovinos e caprinos, tem selecionado parasitas resistentes que continuam causando prejuízos a este fim econômico. Na medicina popular, a *Arrabidaea chica* é utilizada como anti-inflamatório, cicatrizante, antianêmico e auxilia no tratamento de câncer. Esta variedade de classes de metabólitos secundários presente na planta comprova o interesse científico na sua utilização para outros fins. O objetivo do presente estudo foi de testar a eficácia do extrato etanólico da planta sobre a eclosão de ovos de helmintos encontrados nas fezes de ovinos naturalmente infectados e que não estiveram sob tratamento. A amostra da planta utilizada no estudo foi coletada da região urbana do município de Rio Branco- Acre e processada para a obtenção do extrato etanólico, as amostras biológicas de animais parasitados foram coletadas no Frigorífico Annasara. Para avaliação antiparasitária foram utilizadas dois ml nas doses CL50% (339ug/ml) e CL100% (678ug/ml) e adicionadas nas fezes(2g) dos animais parasitados naturalmente. A dose foi determinada a partir do teste de toxicidade com *Artemia salina*. A eficácia demonstrada pela planta *Arrabidaea chica* se mostrou insatisfatória para o tratamento dos ovos e larvas de nematódeos gastrintestinais de ovinos, visto que a taxa de eficácia, em média geral, se mostrou abaixo de 1%. Na identificação dos gêneros de nematódeos gastrintestinais de ovinos, através da coprocultura, identificou-se a predominância do gênero *Haemonchus* sp. (96,1%), seguido do *Oesophagostomum* sp. (3,2%) e *Trichostrongylus* sp. (0,66%) em todos os grupos tratados e no grupo controle. Portanto novas doses devem ser testadas para averiguar de fato seu papel na atividade antiparasitária.

**Palavras-chave:** Antiparasitários. Fitoterápicos. Extrato etanólico

## Anthelmintic activity of the ethanolic extract of the leaves of *Arrabidaea chica* on eggs and larvae of gastrointestinal nematodes in sheep

### ABSTRACT

The indiscriminate use of antiparasitic products in sheep and goat animal production has selected resistant parasites that continue to cause harm to this economic purpose. In popular medicine, *Arrabidaea chica* is used as an anti-inflammatory, healing, antianemic and helps in the treatment of cancer. This variety of classes of secondary metabolites present in the plant proves the scientific interest in its use for other purposes. The objective of the present study was to test the efficacy of the plant's ethanolic extract on the

hatching of helminth eggs found in naturally infected and untreated sheep faeces. The sample of the plant used in the study was collected from the urban region of the city of Rio Branco-Acre and processed to obtain the ethanolic extract, the biological samples of parasitized animals were collected in the Annasara Refrigerator. For the antiparasitic evaluation, two mls were used at doses CL50% (339ug / ml) and CL100% (678ug / ml) and added in the faeces (2g) of naturally parasitized animals. The dose was determined from the toxicity test with *Artemia salina*. The effectiveness of the *Arrabidaea chica* plant was unsatisfactory for the treatment of gastrointestinal nematode eggs and larvae of sheep, as the overall rate of effectiveness was below 1%. In the identification of the genera of gastrointestinal nematodes of sheep, through coproculture, it was identified the predominance of the genus *Haemonchus* sp. (96.1%), followed by *Oesophagostomum* sp. (3.2%) and *Trichostrongylus* sp. (0.66%) in all treated groups and in the control group. Therefore new doses should be tested to ascertain their role in antiparasitic activity.

**Keywords:** Antiparasitics. Herbal medicines. Ethanolic extract.

## INTRODUÇÃO

O Brasil abriga cerca de 55 mil espécies de plantas, dentre estas 10 mil podem ser medicinais ou aromáticas úteis. As plantas medicinais da flora nativa são consumidas com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas e são propagandas por usuários ou comerciantes (VEIGA JÚNIOR et al., 2005). A Organização Mundial de Saúde (OMS), visando diminuir o número de excluídos dos sistemas governamentais de saúde, recomenda aos órgãos responsáveis pela saúde pública de cada país que: a) procedam a levantamentos regionais das plantas usadas na medicina popular tradicional e identifiquem-nas botanicamente; b) estimulem e recomendem o uso daquelas que tiverem comprovadas sua eficácia e segurança terapêutica; c) desaconselhem o emprego das práticas da medicina popular consideradas prejudiciais; d) desenvolvam programas que permitam cultivar e utilizar as plantas selecionadas na forma de preparações dotadas de eficácia, segurança e qualidade (LORENZI; MATOS, 2002). A ação terapêutica dos extratos vegetais (ou óleos essenciais) está frequentemente associada a metabólitos secundários. Diversos fitoterápicos com suposta ação anti-helmínticos têm sido testados cientificamente (CHAGAS, 2004). Entre as plantas ricas em metabólitos secundários as mais pesquisadas ao que se refere a ação anti-helmíntica, estão as plantas ricas em tanino. Os taninos podem exercer ação anti-helmíntica direta, ao interferir no ciclo natural dos helmintos ou indireto (com incremento da disponibilidade proteica no trato gastrointestinal inferior), o que dificulta a determinação do seu real efeito antiparasitário (KETZIS et al., 2006). A *Arrabidaea chica* é rica em fonte e ações de flavonoides, antocianinas, ácido anísico, carajurina, taninos, ferro assimilável, triterpenos e cianocobalamina. As propriedades tintoriais desta planta são devido a dois pigmentos antociânicos do tipo 3 desoxiantocianidinas: a carajurina que é o pigmento principal e a carajurona (ALVES, 2008). Os efeitos do parasitismo no desempenho produtivo do

rebanho de ovinos se manifestam de várias formas, conforme as espécies presentes, a intensidade da infecção e a categoria e/ou estado fisiológico e nutricional dos animais (LIMA et al., 2010). O impacto sobre a produção é consequência do atraso no crescimento, redução dos parâmetros produtivos e morte das categorias mais susceptíveis (FORTES et al., 2013, BORGES et al., 2013). Diante disso o uso de plantas medicinais passa a ser uma boa alternativa no controle parasitário principalmente de pequenos ruminantes (ovinos e caprinos), espécies mais acometidas pelo parasitismo. Assim o objetivo deste trabalho foi avaliar *in vitro* a ação de extratos etanólicos da folha da *Arrabidaea chica* com ação antiparasitária sobre ovos e larvas de nematódeos gastrintestinais de ovinos.

## **METODOLOGIA**

O experimento foi desenvolvido nos laboratórios de Toxicologia e Plantas Tóxicas da UFAC, no laboratório de produtos naturais da Fundação de apoio de Pesquisa do estado do Acre – FAPAC e no centro de confinamento de ovinos/UFAC.

A coleta do material botânico foi realizada baseando-se nas metodologias de Cartaxo et al., (2010). A planta foi colhida no município de Rio Branco – Acre, no bairro Calafate, Rua São João, 133 (9,97873 Sul e a 67,87616 leste), e levadas para identificação e deposição no Herbário do Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre.

A obtenção do extrato etanólico seguiu a metodologia descrita por Mattos (1997) e foi realizada no laboratório de produtos naturais da Fundação de apoio de Pesquisa do estado do Acre-FUNTAC. As folhas da *Arrabidaea chica* foram coletadas e colocadas para secagem ao ar livre por 48 horas, em seguida levado à estufa de ventilação forçada a 60 °C por 24 horas, logo após, foram pesadas e moídas, o peso final das folhas moídas foi de 136g. Em um Becker, as folhas moídas foram misturadas a quantidade de 1 Litro de solução hidro alcóolica (70% álcool etílico + 30% água destilada), para a homogeneização utilizou-se o aparelho Agitador Magnético pelo período de vinte e quatro horas. Após o período de homogeneização, o extrato foi colocado no recipiente percolador, o qual fez o processo de separação da parte sólida e líquida do extrato, no período de sete dias. Com o material líquido em recipiente apropriado, passou-se para o processo de descarte de álcool, visto que esta substância poderia influenciar no resultado da eficácia do produto final. Em um aparelho de rotoevaporador, que utiliza um mecanismo de evaporação e reciclagem do álcool (obtendo este em estado puro

novamente), fez-se a subtração do álcool presente no extrato. Após estes processos, o extrato ainda precisou subtrair mais substâncias de interferência, como a água que foi evaporizada através do equipamento Banho Maria, restando, assim, apenas uma amostra de aspecto pastoso. Para o processo de liofilização, que foi a etapa final do processo de obtenção deste extrato utilizado na pesquisa, colocou-se o extrato em um freezer com temperatura negativa, e após a secagem total, enfim, liofilizou-se a amostra, obtendo um aspecto em pó que pode ser armazenado em pote de vidro conservado em geladeira.

Teste *in vitro*:

### ***Ensaio de toxicidade – Artemia salina Leach***

Para análise de toxicidade do extrato da *Arrabidaea chica* utilizou-se a metodologia de Araújo et al. (2010). Uma solução salina (com sal marinho) na concentração 3,5% (m/v) foi preparada, sendo o pH ajustado entre 8,0 – 9,0 acondicionando-se gotas de uma solução 0,1M NaOH (Merck). Esta solução foi utilizada para a eclosão dos ovos da *A. salina* L. e no preparo das outras diluições. Os ovos foram colocados para eclodir na solução salina, por 48 horas, com aeração constante e temperatura controlada de 25°C. Foram transferidas 10 larvas de *A. salina* L. para tubos de ensaio contendo a solução salina e amostras a serem testadas, nas seguintes concentrações dos extratos (100ug, 500ug, 1000ug). A contagem dos animais mortos e vivos foi realizada após vinte e quatro horas. Por se tratar de um crustáceo ativo em água salina, a falta de movimento e sedimentação são os indicadores de morte do mesmo. Os testes foram acompanhados de controle negativo, somente com água salina, e positivo com uma solução de  $K_2Cr_2O_7$  0,1 mol L (dicromato de potássio). A DL 50 foi estimada a partir da regressão linear simples, por meio da correlação entre a porcentagem de indivíduos mortos e a concentração do extrato. 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).

### ***Atividade biológica do extrato da Arrabidaea chica sobre ovos e larvas de nematódeos gastrintestinais de ovinos infectados naturalmente***

Para obtenção dos ovos e larvas de helmintos, foram utilizados seis 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), segundo o método de Gordon & Whitlock modificado (UENO; GUTIERRES, 1983). Para avaliar sua atividade ovicida e larvicida, foram realizadas coproculturas usando a metodologia de Robert O'Sullivan (1950). Adicionou-se 2 mL do extrato etanólico a uma concentração a ser determinada de acordo com o teste de toxicidade (citada anteriormente) às culturas fecais contaminadas naturalmente por nematódeos gastrintestinais. No grupo controle negativo utilizou-se água destilada. Todos os tratamentos foram realizados em triplicatas. As amostras foram colocadas em estufas BOD para o controle da temperatura e umidade. Após sete dias, realizou-se a recuperação e contagem de larvas infectantes (L3) em microscópio óptico. Para avaliar a eficiência do extrato sobre ovos e larvas no tratamento, utilizou-se a fórmula adaptada descrita por Camurça-Vasconcelos et al. (2007):  $ET: L3 \text{ inicial} - L3 \text{ do grupo tratado} / L3 \text{ inicial}$  Onde: L3 inicial corresponde a estimativa do número de larvas em cada coprocultura do grupo controle. L3 do grupo tratado corresponde o número de larvas recuperadas após oito dias de incubação nos diferentes tratamentos.

O experimento foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Acre-UFAC (protocolo número 10/2018).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os testes realizados com *Artemia salina* indicaram a CL50% de 339 µg/ml e a CL100% de 678 µg/ml, logo, quando feito a coprocultura, estas quantidades do extrato ativo foram adicionadas em triplicata para a obtenção de resultados.

A eficácia antiparasitária demonstrada pelo extrato etanólico da planta *Arrabidade chica* nas concentrações testadas se mostrou insatisfatória para o tratamento dos ovos e larvas de nematódeos gastrintestinais recuperados na coprocultura, visto que o percentual de redução (PR%), em média geral, se mostrou abaixo de 1% (tabela 1).

**Tabela 1** - Total de larvas encontradas nos grupos tratados e no grupo controle e percentuais de redução (PR%) do número de larvas de terceiro estágio (L3) de nematódeos gastrintestinais de ovinos, obtidas de coprocultura tratadas com extrato etanólico da *Arrabidaea chica*.

	Total de larvas	Percentual de redução (PR%)
Grupo controle	1537	
Grupo DL 50%	1506	0,02%
Grupo DL100%	1717	-0,11%

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento-MAPA (portaria nº 48/1997) para a confirmação de eficácia do teste in vitro, estabelece índices de eficácia de um produto com ação antiparasitária em: altamente efetivo >98%; efetivo 90-98%; moderadamente efetivo 80 – 89% e insuficientemente ativo.

As doses testadas neste presente estudo não demonstraram eficácia do uso do extrato etanólico das folhas de *Arrabidaea chica* como um antiparasitário sobre ovos e larvas de nematódeos gastrintestinais de ovinos. Sabendo do potencial medicinal que a *Arrabidaea chica* apresenta para a medicina alternativo, principalmente para as comunidades que moram no Bioma Amazônico, novos estudos com concentrações maiores devem ser feitos para se aprofundar o conhecimento sobre o linear de ação que este tipo de extrato necessita para apresentar seu potencial terapêutico no controle sobre nematódeos gastrintestinais de ovinos.

Na identificação dos gêneros de nematódeos gastrintestinais de ovinos através da coprocultura identificou a predominância do gênero *Haemonchus* sp. (96,1%), seguido do *Oesophagostomum* sp. (3,2%) e *Trichostrongylus* sp. (0,66%) em todos os grupos tratados e no grupo controle.

## CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos no presente trabalho concluímos que as doses de 339ug/ml e 678ug/ml do extrato etanólico da *Arrabidaea chica*, foram insuficientemente ativos na atividade antiparasitária sobre nematódeos gastrintestinais de ovinos.

## REFERÊNCIAS

ALVES, M. S. M. **Caracterização farmacológica, química, físico-química e estudos preliminares da pré-formulação da *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.** 116 f. 2008. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêutica) - Universidade Federal do Pará, Belém, PA, 2008.

- ARAÚJO, M. G. F.; CUNHA, W. R.; VENEZIANI, R. C. S. Estudo fitoquímico preliminar 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 Farmacêutica Básica e Aplicada**, v. 31, p. 205-209, 2010.
- CHAGAS, A. C. S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, supl. 1, p.156-160, 2004.
- CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, S. M.; MACIEL, M. V.; COSTA, C. T. C.; MACEDO, I. T. F.; OLIVEIRA, L. M. B.; BRAGA, R. R.; SILVA, R. A.; VIEIRA, L. S. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippiasidoid* essential oils. **Veterinary Parasitology**, v. 148, p. 288-294. 2007.
- BORGES, F. A.; ALMEIDA, G. D.; HECKLER, R. P.; LEMES, R. T.; ONIZUKA, M. K. V.; BORGES, D. G. L. Impact on tropical beef cattle productivity: effect on weight gain of weaned calves. **Tropical Animal Health Production**, v. 45, p. 723-727. 2013.
- FORTES, F. S.; LOSTER, F. S.; SCHAFER, A. S.; BIER, D.; BUZATTI, E.; YOSHITANI, U. Y.; MOLENTO, M. B. Evaluation of resistance in a selected field strain of *Haemonchus contortus* to ivermectin and moxidectin using the larval migration on agar test. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 183-187. 2013.
- HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Kärber: method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environmental Science & Technology**, v. 11, p. 714-719, 1997.
- KETZIS, J. K.; VERCRUYSSSE, J.; STROMBERG, B. E.; LARSEN, M.; ATHANASIADOU, S.; HOUDIJK, J. G. M. Evaluation of efficacy expectations for novel and non-chemical helminth control strategies in ruminants. **Veterinary Parasitology**, v. 139, n. 4, p. 321-335, 2006.
- LORENZI, H.; MATOS, A. F. J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.
- LIMA, W. C.; ATHAYDE, A. C. R.; MEDEIROS G. R.; LIMA, D. A. S. D.; BORBUREMA, J. D.; SANTOS, E. M.; VILELE, V. E. R.; AZEVEDO, S. S. Nematodes resistant to some anthelmintics in goats herds in Cariri Paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 12, p. 1003-1009. 2010.
- MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**. Fortaleza: EDUFC, p. 44-46, 1997.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação em Saúde**. Saúde Brasil 2006 – Brasília: Ministério da Saúde, 2006.
- ROBERTS, F. H. S.; O’SULLIVAN, J. P. Methods for egg counts and larval cultures for strongyle infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.1, p. 99-102, 1950.
- UENO, H.; GUTIERRES, V. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. Japan International Cooperation Agency, Tóquio, Japão. 1983.
- VEIGA JUNIOR, V. F.; PONTO, A. C.; MACIEL, M. A. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.