

Atividade *in vitro* de *Carapa guianensis* Aublet, *Copaifera officinalis* Jacquin Linnaeus e *Psidium guajava* Linnaeus sobre *Haemonchus contortus*

Suellen Alves de Azevedo
Raimundo Nonato Moraes Benigno
Livio Martins Costa-Junior
Suzana Gomes Lopes
Sérgio Alves de Azevedo

RESUMO

Avaliou-se a atividade anti-helmíntica *in vitro* do óleo fixo da semente de *Carapa guianensis* (andiroba) e *Copaifera officinalis* (copaíba) e do óleo essencial de *Psidium guajava* (goiaba) sobre ovos e larvas de *H. contortus* de caprinos. Foram utilizados testes *in vitro* do óleo das três plantas, avaliando-se a inibição da eclodibilidade dos ovos e do desembainhamento larvar. O óleo de *C. guianensis* foi o que apresentou melhor resultado, com maior média de inibição de eclodibilidade larvar (54,60%) obtida na maior concentração (20 mg mL⁻¹), que inclusive diferiu das demais concentrações ($p < 0,05$). Nesta concentração, os óleos da *C. officinalis* e da *P. guajava* apresentaram um percentual de apenas 6,69 e 10,33% dos ovos. Para a *C. guianensis*, a CE50 encontrada foi de 17,92 (16,92 - 18,93) mg mL⁻¹. Na segunda avaliação, alíquotas de larvas de terceiro estágio foram incubadas com o óleo e solução de hipoclorito em placas estéreis, observando-se os índices de desembainhamento em intervalos de 20 minutos, finalizando com 60 minutos. Durante as quatro observações (0, 20, 40 e 60 minutos) os percentuais de larvas de *H. contortus* sem bainhas encontrados nas placas tratadas com os óleos, independentemente da concentração, não diferiram daqueles percentuais nos respectivos grupos controles.

Palavras-chave: Fitoterapia. Óleo fixo. Anti-helmíntico. Caprinos.

In vitro activity of *Carapa guianensis* Aublet, *Copaifera officinalis* Jacquin Linnaeus and *Psidium guajava* Linnaeus on *Haemonchus contortus*

ABSTRACT

The *in vitro* anthelmintic activity of the fixed oil of *Carapa guianensis* (andiroba) and *Copaifera officinalis* (copaíba) and the essential oil of *Psidium guajava* (guava) on *H. contortus*

Suellen Alves de Azevedo – Prof. Msc. do curso de Licenciatura em Ciências Naturais – Química – da Universidade Federal do Maranhão – Campus de Grajaú.

Raimundo Nonato Moraes Benigno – Prof. Dr. da Universidade Federal Rural da Amazônia e do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia.

Livio Martins Costa-Junior – Prof. Dr. do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Maranhão.

Suzana Gomes Lopes – Prof. Msc. do curso de Licenciatura em Educação do Campo/Ciências da Natureza da Universidade Federal do Piauí (UFPI) – Campus Senador Helvídio Nunes de Barros.

Sérgio Alves de Azevedo – Mestre em Ciência de Materiais pela UFMA.

eggs and larvae of goats was evaluated. In vitro tests of the oil of the three plants were used, evaluating the inhibition of egg hatchability and larva exsheathment. The oil of *C. guianensis* presented the best result, with the highest inhibition of larval hatchability (54,60%) obtained in the highest concentration (20 mg mL⁻¹), which also differed from the other concentrations. At this concentration, the oils of *C. officinalis* and *P. guajava* presented a percentage of only 6,69 and 10,33% of the eggs. For *C. guianensis*, the EC50 found was 17,92 (16,92 – 18,93) mg mL⁻¹. In the second evaluation, aliquots of third instar larvae were incubated with the oil and hypochlorite solution in sterile plates, observing the induration rates in 20 minute intervals, ending with 60 minutes. During the four observations (0, 20, 40 and 60 minutes) the percentage of *H. contortus* larvae without sheaths found on the oil-treated plates, regardless of concentration, did not differ from those in the respective control groups.

Keywords: Phytoterapic. Fixed oil. Anthelmintic. Goats.

INTRODUÇÃO

A caprino-ovinocultura desempenha papel importante no perfil socioeconômico da população em áreas tropicais incluindo o nordeste brasileiro, visando a produção sustentada de carne, de leite e seus derivados. Dentre os problemas associados a aspectos sanitários, estão as endoparasitoses gastrintestinais que se constituem no principal entrave para a produção de caprinos e ovinos, em todo o mundo, especialmente nas regiões tropicais, onde os prejuízos econômicos são mais acentuados (VIEIRA et al., 1997). Dentre essas parasitoses, ocasionadas por nematoides gastrintestinais, o *Haemonchus contortus* além de ser o mais virulento, é considerado o maior responsável pelo rápido desenvolvimento da resistência em pequenos ruminantes (SANGSTER, 2001).

A utilização de anti-helmínticos como método de controle e redução das perdas de produção é amplamente difundido. Entretanto o uso inadequado e contínuo destes fármacos favorece o desenvolvimento de populações resistentes, sendo um dos principais problemas enfrentados no controle parasitário (MELO et al., 2003).

De acordo com Vieira (2008), uma das alternativas para minimizar o problema de resistência é a utilização do método estratégico de controle. Apesar desta vasta aplicabilidade, os estudos visando determinar seus constituintes químicos e compostos ativos que confirmem a sua eficácia como medicamento semelhante ao dos anti-helmínticos comerciais, ainda são escassos (EGUALE et al., 2007).

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos *in vitro* foram realizados no Laboratório de Parasitologia Animal da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Campus de Ciências Agrárias e Ambientais de Chapadinha-MA e a análise do óleo de *C. guianensis* no Laboratório de Catálise e Oleoquímica da Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém- PA.

O projeto em questão foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação e Uso de Animais da Universidade Federal Rural da Amazônia, sob o protocolo de registro 23084.06564/2014-82.

A escolha das plantas *C. guianensis*, *C. officinalis* e *P. guajava* neste estudo, foi feita por abordagem etnofarmacológica tendo como fator determinante a disponibilidade dos óleos associado as suas potencialidades na medicina popular amazônica. O óleo fixo de andiroba e de copaíba foram adquiridos comercialmente na FERQUIMA Ind. e Com. de óleos Vegetais®, (Vargem Grande Paulista, State of São Paulo, Brazil). O óleo essencial das folhas da goiabeira foi doado pela Embrapa Meio-Norte, Parnaíba.

Obtenções de ovos e larvas de *H. contortus*

Ovos e larvas de *H. contortus* foram obtidos a partir de amostras fecais coletadas diretamente do reto de dois caprinos machos, com aproximadamente um ano de idade, com infecção monoespecífica para *H. contortus*, mantidos em gaiola metabólica no Campus de Ciências Agrárias e Ambientais da Universidade Federal do Maranhão de Chapadinha-MA.

No isolamento dos ovos, utilizou-se a metodologia descrita por Coles et al., (1992), amostras fecais foram maceradas, homogeneizadas em água e filtradas, sequencialmente, em peneiras com granulometrias de 1 mm, 105 µm, 55 µm e 25µm. Os ovos retidos na peneira de 25 µm foram lavados com água destilada e centrifugados a 1.100 xg/5min em tubos de 50 mL.

Para obtenção de larvas utilizou-se a técnica de Roberts e Sullivan (1950) e as larvas infectantes foram colhidas segundo técnica descrita por Ueno e Gonçalves (1998), sendo armazenadas em tubos de 15 mL, utilizando para o teste somente aquelas obtidas há no máximo 30 dias.

ANÁLISES IN VITRO

Teste de Eclodibilidade de Ovos (TEO)

Para cada óleo vegetal testado, utilizou-se uma placa com 24 poços, sendo que a cada um foi colocada uma alíquota de aproximadamente 100 ovos recuperados, juntamente com o óleo teste em cinco concentrações escolhidas aleatoriamente (20; 15; 11,25; 8,44; 6,33 mg mL⁻¹ para *C. guianensis*, e *C. officinalis* e 10; 6; 3,6; 2,16; 1,33 mg mL⁻¹ para *P. guajava*), diluídos com solvente Tween 80 a 3% e água destilada previamente homogeneizada, até obter-se um volume final de 1 mL em cada poço. Em cada óleo testado, utilizou-se o controle negativo, contendo, apenas, água destilada e Tween. Todas as placas foram identificadas e colocadas em estufa incubadora tipo BOD a 27°C por 48 horas (COLES et al.,1992).

Teste de Desembainhamento Larvar (TDL)

Foram analisados quatro poços por tratamento com quatro repetições. As concentrações utilizadas neste teste foram de 0,6 e 1,2 mg mL⁻¹ para *C. guianensis* e *C. officinalis* e de 1,2 e 2,4 mg mL⁻¹ para *P. guajava*. Em tubos de 15 mL, óleo vegetal, o

solvente Tween 3%, as larvas e PBS (Tampão Fosfato Salino), foram adicionados até obter um volume final de 2 mL. A solução foi homogeneizada e incubada a 22°C em BOD por três horas. Após a incubação, foi adicionado 8 mL de PBS em cada tubo, centrifugados a 3000 rpm por seis minutos, repetindo-se esse processo por três vezes, obtendo-se um resíduo de 1,2 mL com aproximadamente 1000 larvas. A placa de 24 poços foi preparada, e em cada poço foi adicionado 1000 µL da solução de hipoclorito e 100 µL da solução com larvas. O timer foi ligado e adicionado uma gota de lugol, em um poço de cada tratamento a cada 20 minutos (BAHUAUD et al., 2006).

Análise do óleo de *C. guianensis* por cromatografia gasosa

A Cromatografia Gasosa acoplada à espectrometria de massa foi realizada no Laboratório de Catálise e Oleoquímica da UFPA. Para a análise foi utilizado 170 µL do óleo de *C. guianensis*. Os ésteres metílicos de ácidos graxos de *C. guianensis* foram preparados utilizando o (método AOCS Ce 2-66) e analisados com o (método AOCS Ce 1-62). O equipamento utilizado foi um Cromatógrafo Varian a gás CP-3800, CP-Wax 52 CB (30 m × 0,32 mm) e detector de ionização de chama. O Hélio foi usado como gás de arraste. O programa de temperatura utilizado foi de 1 minuto a 50 °C; com aquecimento gradual até 250 °C a 10 °C/min. Tanto o detector como o injetor foram aquecidos a 250 °C. Os ácidos graxos foram identificados por comparação dos tempos de retenção com uma mistura de padrões FAMES (SIGMA).

Análise estatística

Os resultados dos testes *in vitro*, de eficácia da inibição da eclosão de ovos e da eliminação cuticular larvar foram analisados usando Análise de Variância (ANOVA) e comparados através do teste de Tukey com nível de significância de 5% usando o programa Assistat versão 3.0. A eficácia de cada tratamento no teste de eclosão de ovos é determinada com base no percentual de eclosão calculado usando-se a seguinte fórmula: $(n^\circ \text{ de larvas eclodidas} / n^\circ \text{ de larvas eclodidas} + n^\circ \text{ de ovos}) \times 100$. No teste de eliminação da cutícula larvar, a taxa de desembainhamento é calculada usando a fórmula: $(n^\circ \text{ de larvas (L3) sem bainha} / n^\circ \text{ de larvas (L3) sem bainha} + n^\circ \text{ de larvas (L3) com bainha}) \times 100$. A concentração efetiva 50 (CE50), ou seja, a concentração capaz de inibir 50% da eclosão de ovos, calcula-se usando o programa estatístico GraphPadPrism versão 6.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Carapa guianensis

Os testes *in vitro* têm sido utilizados para triagem de plantas medicinais, pois possuem diversas vantagens que estão relacionadas com a simplicidade de execução, baixo

custo e rápida avaliação do efeito, além de permitir a utilização da pouca quantidade de material biológico em diferentes estágios parasitários (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2005). O Teste de Eclodibilidade de Ovos e o Teste de Desembainhamento Larvar foram desenvolvidos para avaliar a eclosão de ovos de helmintos e a eliminação cuticular (MOLENTO; PRICHARD, 2001).

No presente estudo, o óleo de *C. guianensis* apresentou na concentração de 20 mg mL⁻¹ o melhor percentual de inibição da eclosão, com 54,60%, diferindo dos resultados encontrados para o controle, sugerindo, portanto, a presença de algum constituinte químico que atua no embrião dos ovos, impedindo a eclosão de *H. contortus*. Os dados referentes a estes percentuais de eficácia estão disponíveis na Tabela 1.

No presente estudo, o óleo de *C. guianensis* não demonstrou efetividade na inibição da eclosão das larvas, pois o maior índice obtido foi de 54,60% na concentração mais elevada (20 mg mL⁻¹) (Tabela 1), entretanto há indícios de que este óleo apresenta na sua composição química alguma substância que interfere no processo de embriogênese ou que inibe a produção de algumas enzimas que participam no processo de eclosão do embrião, evento este, relatado por Sommerville et al., (1987). Em concentrações mais baixas ($\leq 5\%$), Kloster et al. (2010) também não detectaram efeito anti-helmíntico contra os nematoides *Cooperia* sp e *Trichostrongylus* sp. pelos testes de eclodibilidade larvar, obtendo índice inferior a 3,5% em todos os tratamentos.

Entretanto, Farias et al., (2010) detectaram efeito anti-helmíntico do extrato hexânico da semente de *C. guianensis* em larvas de terceiro estágio de três nematoides gastrintestinais de caprinos, ao avaliarem cinco concentrações do produto (10, 25, 30, 50 e 100%), demonstrando efeito de grau elevado nos tratamentos 30, 50 e 100 % e moderado nas concentrações 10 e 25%. Independente das perdas que podem ocorrer no desenvolvimento larvar, a redução do número de larvas de *Haemonchus* sp. expostas na concentração mais baixa do óleo (10%) foi de 94,24%, bastante superior ao índice de inibição da eclosão de ovos, obtido no presente trabalho com o óleo fixo da planta, inclusive na concentração máxima (20% inibição de 54,60%).

Por terem utilizado concentrações elevadas do óleo vegetal, esta atividade promissora contra nematoides gastrintestinais de caprinos obtida por Farias et al. (2010), deve ser analisada considerando as relações custo/benefício, praticidade e principalmente sua aplicabilidade *in vivo*, já que no presente estudo, a concentração de 5% do óleo foi equivalente a 38,6 mg/mL, considerada elevada, já que a mesma necessita de grande quantidade de solvente, que pode ser tóxico ao animal, além de causar danos ambientais, de acordo com Melo et al., (2003), Macedo et al. (2009) e Kloster et al. (2010).

TABELA 1 – Percentual de eficácia média \pm erro padrão do óleo fixo de *Carapa guianensis* na inibição da eclosão de ovos de *Haemonchus contortus*.

Concentrações (mgmL ⁻¹)	Eficácia \pm e.p (%)
20	54,60 \pm 6,38 ^c
15	34,30 \pm 7,51 ^d
11,25	30,79 \pm 5,55 ^c
8,44	16,94 \pm 2,46 ^b
6,33	10,04 \pm 2,46 ^b
Controle Negativo (3% Tween 80)	0,00 \pm 0,00 ^a

Letras diferentes indicam significância estatística nas linhas ($p < 0,05$).

Fonte: o autor.

Neste teste, a CE50, ou seja, a concentração efetiva para inibição a 50% foi de 17,92 (16,92 -18,93) mg mL⁻¹. Esta baixa eficácia pode ser explicada pelo fato do óleo fixo apresentar diversas substâncias químicas que interagem entre si, com ações anti-helmínticas ovicida e larvicida, diferentemente dos anti-helmínticos sintéticos, que são substâncias ativas isoladas (MACEDO et al., 2009).

Na avaliação do desembainhamento larvar do óleo fixo de *C. guianensis* (Tabela 2) observa-se que após 60 minutos de exposição ao óleo fixo, os valores percentuais de desembainhamento das larvas de *H. contortus* nos dois tratamentos foram similares e não diferiram do controle ($p < 0,05$), cujo valor foi de 98,09%, comprovando-se *in vitro*, a ineficácia óleo fixo de *Carapa guianensis* nas concentrações analisadas.

TABELA 2 – Percentual da taxa de desembainhamento \pm erro padrão do óleo fixo de *Carapa guianensis* na inibição da eliminação cuticular em larvas de *Haemonchus contortus*.

Tempo (minutos)	Eficácia \pm e.p 0,6 mg mL ⁻¹ (%)	Eficácia \pm e.p 1,2 mg mL ⁻¹ (%)	Eficácia \pm e.p Tween 3% (%)
0	1,96 \pm 1,35 ^d	10,49 \pm 2,63 ^d	0,41 \pm 0,48 ^d
20	39,12 \pm 6,42 ^c	44,08 \pm 2,42 ^c	16,62 \pm 8,65 ^c
40	75,77 \pm 8,37 ^b	80,99 \pm 8,49 ^b	68,54 \pm 11,51 ^b
60	96,27 \pm 2,32 ^a	98,16 \pm 1,28 ^a	98,09 \pm 1,29 ^a

Letras diferentes indicam significância estatística nas linhas ($p < 0,05$).

Fonte: o autor.

Na composição química de *C. guianensis*, analisada por cromatografia gasosa, foram isolados nove ácidos graxos com a seguinte ordem crescente de concentração: ácido mirístico (0,04%), ácido linolênico (0,21%), ácido behênico (0,32%), ácido palmitoleico (0,82%), ácido araquídico (1,37%), ácido esteárico (8,97%), ácido linoleico (9,50%), ácido palmítico (27,69%) e ácido oleico (50,9%). Destes nove ácidos identificados, seis estão compatíveis com aqueles registrados nos trabalhos de Oliveira (2008) e Farias et al. (2010), com diferenças de percentuais não ultrapassando 4%. Entretanto, a comparação

com os dados da ANVISA, observa-se que apenas as composições dos ácidos esteárico, linolênico e mirístico estão compatíveis (Tabela 3), já que os ácidos não referidos nestas bibliografias, o araquídico, behênico e palmitoleico, suas concentrações somaram apenas 2,51%.

TABELA 3 – Composição comparativa da composição dos ácidos graxos do óleo fixo de *Carapa guianensis* comparados a Literatura.

Ácido graxo	Estrutura	Composição (%)				
		Atual	Kloster et al. (2010)	Farias et al. (2010)	Oliveira (2008)	ANVISA (1999)
Ác. Mirístico	C14:0	0,04	-	0,13	0,06	< 0,3
Ác. Palmítico	C16:0	27,69	39,0	28,29	26,81	5,5 - 11,0
Ác. Palmitoleico	C16:1	0,82	-	-	-	-
Ác. Esteárico	C18:0	8,97	-	8,57	7,72	3,0 - 6,0
Ác. Oleico	C18:1	50,9	46,8	49,74	54,56	12,0 - 28,0
Ác. Linoleico	C18:2	9,50	-	7,57	8,09	58,0 - 78,0
Ác. Linolênico	C18:3	0,21	-	1,49	0,19	<1,0
Ác. Araquídico	C20:0	1,37	-	-	-	-
Ác. Behênico	C22:0	0,32	-	-	-	-
Total	-	99,82	-	-	-	-

Fonte: o autor.

Apesar da ação comprovada do ácido linoleico no controle de insetos e fitonematoides, neste trabalho e nos trabalhos de Kloster et al. (2010) e Farias et al. (2010), não foi possível avaliar atividade significativa do óleo, pela ausência ou a baixa produção desse composto, que neste estudo apresentou para o ácido linoleico um percentual de (9,50%), enquanto que a Anvisa preconiza valores entre (58,0 - 78,0%).

Copaifera officinalis

Os testes *in vitro* utilizando o óleo fixo de *C. officinalis*, não comprovaram sua efetividade em inibir a eclodibilidade dos ovos de *H. contortus*, pois em sua maior concentração analisada (20 mg mL⁻¹) a taxa de inibição foi de apenas 6,69% (Tabela 4). A inefetividade também foi comprovada na atividade de inibição do desembainhamento larvar, no maior período de contato (60 minutos) com o fluido de desembainhamento, em que 95,24 e 98,09% das larvas do nematoide estavam sem bainha, nas concentrações de 0,6 mg mL⁻¹ e 1,2 mg mL⁻¹, respectivamente (Tabela 5).

TABELA 4 – Percentual de eficácia média \pm erro padrão do óleo fixo de *Copaifera officinalis* na inibição da eclosão de ovos de *Haemonchus contortus*.

Concentrações (mg mL ⁻¹)	Eficácia \pm e.p (%)
20	6,69 \pm 3,73 ^b
15	4,47 \pm 1,68 ^{ab}
11,25	0,00 \pm 0,00 ^a
8,44	0,00 \pm 0,00 ^a
6,33	0,00 \pm 0,00 ^a
Controle Negativo (3% Tween 80)	0,00 \pm 0,00 ^a

Letras diferentes indicam significância estatística nas linhas ($p < 0,05$).

Fonte: o autor.

TABELA 5 – Percentual da taxa de desembainhamento \pm erro padrão do óleo fixo de *Copaifera officinalis* na inibição da eliminação cuticular em larvas de *Haemonchus contortus*.

Tempo (minutos)	Eficácia \pm e.p	Eficácia \pm e.p	Eficácia \pm e.p Tween 3% (%)
	0,6 mg mL ⁻¹ (%)	1,2 mg mL ⁻¹ (%)	
0	2,41 \pm 0,80 ^d	8,50 \pm 2,01 ^d	0,41 \pm 0,48 ^d
20	28,93 \pm 3,84 ^c	38,97 \pm 3,41 ^c	16,62 \pm 8,65 ^c
40	74,31 \pm 4,63 ^b	80,68 \pm 2,61 ^b	68,54 \pm 11,51 ^b
60	94,44 \pm 5,90 ^a	95,24 \pm 1,49 ^a	98,09 \pm 1,29 ^a

Letras diferentes indicam significância estatística nas linhas ($p < 0,05$).

Fonte: o autor.

A eficácia da planta *C. officinalis* na inibição da eclodibilidade e no desembainhamento larvar, não foi comprovada neste estudo. Apesar do seu uso como fitoterápico ser consagrado pela medicina tradicional por suas propriedades biológicas, anti-inflamatória e cicatrizante (FRANCISCO, 2005).

Psidium guajava

Os resultados obtidos nos testes *in vitro* de efetividade anti-helmíntica do óleo fixo de *P. guajava*, também não comprovaram efetividade em inibir a eclodibilidade dos ovos e o desembainhamento larvar de *H. contortus*. No primeiro teste, o maior índice obtido foi de apenas 10,33% na mais elevada concentração do óleo (10,33%), (Tabela 6), e no segundo teste, 95,28 e 93,18% das larvas do nematoide estavam sem bainha, nas concentrações de 1,2 mg mL⁻¹ e 2,4 mg mL⁻¹, respectivamente (Tabela 7).

TABELA 6 – Percentual de eficácia média \pm erro padrão do óleo essencial de *Psidium guajava* na inibição da eclosão de ovos de *Haemonchus contortus*.

Concentrações (mg mL ⁻¹)	Eficácia \pm e.p (%)
10	10,33 \pm 4,16 ^d
6	4,33 \pm 2,93 ^c
3,6	0,97 \pm 1,09 ^b
2,16	1,55 \pm 0,37 ^b
1,33	1,94 \pm 2,57 ^b
Controle Negativo (3% Tween 80)	1,90 \pm 1,33 ^a

Letras diferentes indicam significância estatística nas linhas (p<0,05).

Fonte: o autor.

TABELA 7 – Percentual da taxa de desembainhamento \pm erro padrão do óleo essencial de *Psidium guajava* na inibição da eliminação cuticular em larvas de *Haemonchus contortus*.

Tempo (minutos)	Eficácia \pm e.p 2,4 mg mL ⁻¹ (%)	Eficácia \pm e.p 1,2 mg mL ⁻¹ (%)	Eficácia \pm e.p Tween 3% (%)
0	1,59 \pm 1,20 ^d	2,05 \pm 1,65 ^d	0,97 \pm 0,93 ^d
20	11,93 \pm 7,65 ^c	42,25 \pm 7,27 ^c	23,62 \pm 14,16 ^c
40	90,68 \pm 3,69 ^b	86,85 \pm 2,06 ^b	80,04 \pm 11,27 ^b
60	93,18 \pm 3,49 ^a	95,28 \pm 1,61 ^a	93,86 \pm 5,30 ^a

Letras diferentes indicam significância estatística nas linhas (p<0,05).

Fonte: o autor.

Sánchez et al. (2013), ao testarem a planta *P. guajava* na formulação de extratos metanólico, etanólico, acetônico e aquoso, obtiveram resultados favoráveis na mortalidade de larvas cultivadas de *H. contortus*, quando tratadas com o extrato metanólico e associaram essa eficácia à presença de alguns constituintes químicos da classe dos flavonoides, glicosídeos e ácidos orgânicos, presentes no extrato que podem não estar presentes no óleo essencial, de acordo com Craveiro et al. (1981).

Entende-se que o baixo efeito dessas plantas, na inibição em ovos e larvas de *H. contortus*, pode ser atribuído ao fato desses óleos não apresentarem compostos com potencial efeito anti-helmíntico, como os terpenos, demonstrados nos testes com *Lippia sidoides* de Carvalho et al. (2003), *Croton zehntneri* e *Cymbopogon martinii* (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2007), ou mesmo taninos, substâncias que possuem ação comprovada em nematoides gastrintestinais de plantas como *Schinopsis* spp. (ATHANASIADOU et al., 2001), *Leucaena leucocephala* (ALONSO-DÍAZ et al., 2008), *Acacia mearnsii* (MINHO et al., 2008).

É comprovada a ação *in vitro* e *in vivo* dos taninos sobre o desembainhamento de *H. contortus* tratados com extratos de plantas taniníferas (*Castanea sativa*, *Pinus sylvestris*, *Erica erigena* e *Sarothamnus scoparius*), que foi verificada por Bahuau et al. (2006). Foi descrito por Hoste et al. (2006) e Max (2010), que os taninos, foram os principais responsáveis pela inibição do desembainhamento larvar, uma vez que, agem

diretamente na bainha dessas larvas. Alguns fatores também podem interferir na ação inibitória dessa substância, como a espécie de nematoide, a quantidade, a concentração e a estrutura dos taninos presentes na composição de plantas, diferenças fisiológicas entre caprinos e ovinos e o tipo de teste utilizado (HOSTE et al., 2006).

Ainda que as plantas utilizadas neste estudo apresentem índices de eficácia insatisfatórios, sobre a eclosão dos ovos e desembainhamento larvar de *H. contortus* isoladas de caprinos, as avaliações da atividade anti-helmíntica de plantas, a partir de levantamentos etnobotânicos e da comprovação científica, constituem uma forma vantajosa na descoberta de novas substâncias, pois as plantas utilizadas a partir de saberes tradicionais, nem sempre apresentam efeito farmacológico quando testadas *in vitro*.

CONCLUSÃO

O óleo fixo de *Carapa guianensis* e *Copaifera officinalis*, e o óleo essencial de *Psidium guajava* apresentaram resultados insatisfatórios na avaliação *in vitro* da eclodibilidade de ovos e no desembainhamento larvar artificial de *Haemonchus contortus* de caprinos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Universidade Federal Rural da Amazônia, ao Centro de Ciências Agrárias e Ambientais da Universidade Federal do Maranhão, Campus Chapadinha, ao Laboratório de Parasitologia Animal da Universidade Estadual do Ceará pelo apoio na realização deste trabalho. A CAPES e o PROCAD pelo incentivo financeiro.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA. Resolução nº 104, de 14 de maio de 1999 (Diário Oficial da União: 17/05/1999). Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/104_99.htm> Acesso em: 20 jun. 2014.
- ALONSO-DÍAZ, M. A.; TORRES-ACOSTA, J. F.; SANDOVAL-CASTRO, C. A. et al. In vitro larval migration and kinetics of exsheathment of *Haemonchus contortus* exposed to four tropical tanniferous plants. *Veterinary Parasitology*. v.153, p.313-319, 2008.
- ATHANASIADOU, S.; KYRIAZAKISA, I.; JACKSON, F. et al. Direct anthelmintic effects of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: in vitro and in vivo studies. *Veterinary Parasitology*. v.99, p.205-219, 2001.
- BAHUAUD, D.; MONTELLANO, C. M.; CHAUVEAU, S. Effects of four tanniferous plant extracts on the *in vitro* exsheathment of third-stage larvae of parasitic nematodes. *Parasitology*, v.132, p.545-554, 2006.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, S. M. et al. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. *Veterinary Parasitology*, v.148, p.288-94, 2007.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; MORAIS, S. M.; SANTOS, L. F. L. Validação de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.7, n.3, p.97-106, 2005.

CARVALHO A. F. F. U.; MELO, V. M. M.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L.; BANTIM, M. B.; RABELO, E. F. Larvicidal activity of the essencial oil from *Lippia sidoides* Cham. against *Aedes aegypti* Linn. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v.98, n.4, p.569-571, 2003.

COLES, G. C. Anthelmintic resistance looking to the future: a UK perspective. *Research Veterinary Science*. v.78, n.2, p.99-108. 2005.

COLES, G. C.; BAUER, C.; BORGSTEEDE, F. H. M. et al. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*. v.44, p.35-44. 1992.

CRAVEIRO, A. A.; FERNANDES, A. G.; ANDRADE, C. H. S. et al. *Óleos essenciais de plantas do Nordeste*. Fortaleza. ED.: UFC, p.210. 1981.

EGUALE, T.; TILAHUN, G.; DEBELLA, A. et al. *In vitro* and *in vivo* anthelmintic activity of crude extracts of *Coriandrum sativum* against *Haemonchus contortus*. *Journal of Ethnopharmacology*, v.110, p.428-33, 2007.

FARIAS, M. P. O.; TEIXEIRA, W. C.; WANDERLEY, A. G. et al. Avaliação *in vitro* dos efeitos do óleo da semente de *Carapa guianensis* Aubl. sobre larvas de nematoides gastrintestinais de caprinos e ovinos. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. Botucatu, v.12, n.2, p.220-226, 2010.

FRANCISCO, S.G. Uso do óleo de copaiba (*Copaifera officinalis*) em inflamação ginecológica. *Femina*, v.33, n.2, p.89-93, 2005.

HOSTE, H.; JACKSON, F.; ATHANASIADOU, S.; THAMSBORG, S. M. et al. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends in Parasitology*, v.22, p.253-261, 2006.

KLOSTER, F. S.; CHAGAS, A. C. S.; BORGES, F. A. et al. Avaliação do potencial antihelmíntico de *hura crepitans* sobre ovos de nematódeos gastrintestinais de bovinos e larvas L3 de *Cooperia* sp. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária., 16, Campo Grande. *Anais*. Campo Grande: CBPV, 2010.

MACEDO, I. T. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; OLIVEIRA, L. M. B. et al. Ovicidal and larvicidal activity in vitro of *Eucalyptus globulus* essential oils on *Haemonchus contortus*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. (Online) v.18, n.3, Jaboticabal, 2009.

MAX, R. A. Effect of repeated wattle tannin drenches on worm burdens, faecal egg counts and egg hatchability during naturally acquired nematode infections in sheep and goats. *Veterinary Parasitology*, v.169, p.138-143, 2010.

MELO, A.C. F. L.; REIS, F. I.; BEVILAQUA, C. L. et al. Nematoides resistentes a anti-helmíntico em rebanhos de ovinos e caprinos do Estado do Ceará, Brasil. *Ciência Rural*. Santa Maria, v.37, n.2, p.339-344, 2003.

- MINHO, A. P.; BUENO, I. C. S.; LOUVANDINI, H.; JACKSON, F. et al. Effect of Acacia molissima tannin extract on the control of gastrointestinal parasites in sheep. *Animal Feed Science and Technology*. v.147, p.172-181, 2008. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com>>. Acesso em: 2 ago. 2013.
- MOLENTO, M. B.; PRICHARD, R. K. Effect of multidrug resistance modulators on the activity of ivermectin and moxidectin against selected strains of *Haemonchus contortus* infective larvae. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. São Paulo, v.21, n.3, p.117-121, 2001.
- OLIVEIRA, B. R. *Desenvolvimento e avaliação de nanoemulsões com óleos de Carapa guianensis e Copaifera sp. e estudo da ação repelente frente a Aedes aegypti*. Dissertação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, 2008.
- ROBERTS, F. H. S.; O'SULLIVAN, P. J. Methods for egg counts and larval cultures for Strongyles infecting the gastrointestinal tract of cattle. *Australian Journal of Agricultural Research*, v.1, p.99-102, 1950.
- SÁNCHEZ, A. Z.; BASTIDA, A. Z.; MARTINEZ, M. A. et al. In vitro nematocidal activity of *Psidium guajava* and *Rosmarinum officinalis* against *Haemonchus contortus*. *Anais...* In: XV Congresso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, Cancún, México, 2013.
- SANGSTER, N. C. Managing parasiticide resistance. *Veterinary Parasitology*, v.98, p.89-109, 2001.
- SOMMERVILLE, R. I.; ROGERS, W. P. The nature and action of host signals. *Advances Parasitology*, v.26, p.239-293, 1987.
- UENO, H.; GONÇALVES, P. C. *Manual para diagnóstico das helmintoses de bovinos*. 4.ed. Toquio: JIICA, p.143, 1998.
- VIEIRA, L. S. Métodos alternativos de controle de nematoides gastrintestinais em caprinos e ovinos. *Tecnologia & Ciências Agropecuária*, v.2, p.49-56, 2008.
- VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. G. R.; XIMENES, L. J. F. et al. Epidemiologia e controle das principais parasitoses de caprinos nas regiões semiáridas do Nordeste do Brasil. *Circular Técnica*. Embrapa Caprinos, Sobral, p.49, 1997.