

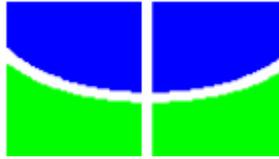
**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**PLANTAS MEDICINAIS COMO ALTERNATIVA PARA O CONTROLE**  
**DE**  
***Haemonchus contortus* EM OVINOS: TESTES *IN VITRO* E *IN VIVO***

**LUCIANA DINATO ROSA DE OLIVEIRA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS**

**BRASÍLIA/DF**  
**MARÇO DE 2013**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**PLANTAS MEDICINAIS COMO ALTERNATIVA PARA O CONTROLE  
DE  
*Haemonchus contortus* EM OVINOS: TESTES *IN VITRO* E *IN VIVO***

**LUCIANA DINATO ROSA DE OLIVEIRA**

**ORIENTADOR: HELDER LOUVANDINI**

**CO-ORIENTADORA: FRANCISLETE RODRIGUES MELO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS**

**PUBLICAÇÃO: 87/2013**

**BRASÍLIA/DF, 27 de MARÇO de 2013**

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

OLIVEIRA, L. D. R. **Plantas medicinais como alternativa para o controle de *Haemonchus contortus* em ovinos: testes *in vitro* e *in vivo***. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2013, 73p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e achase arquivado na Secretaria do Programa. O autor e seu orientador reservam para si outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor ou do seu orientador. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

### FICHA CATALOGRÁFICA

OLIVEIRA, Luciana Dinato Rosa de. **Plantas medicinais como alternativa para o controle de *Haemonchus contortus* em ovinos: testes *in vitro* e *in vivo***. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2013, 73p. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, 2013.

1. Plantas medicinais. 2. *Anacardium humile*. 3. *Syzygium cumini*.  
4. *Genipa americana*. 5. *Solanum lycocarpum*.  
6. *Haemonchus contortus*. I. Louvandini, H. II. PhD.

CDD ou CDU  
Agris / FAO

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**USO DE PLANTAS MEDICINAIS COMO ALTERNATIVA  
PARA O CONTROLE DE *Haemonchus contortus* EM OVINOS:  
TESTES *IN VITRO* E *IN VIVO***

**LUCIANA DINATO ROSA DE OLIVEIRA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO  
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM  
CIÊNCIAS ANIMAIS, COMO PARTE DOS  
REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO  
GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS ANIMAIS.**

**APROVADA POR:**

---

**HELDER LOUVANDINI, PhD, Centro de Energia Nuclear na Agricultura  
(ORIENTADOR)**

---

**BRUNO DALAGO, PhD (UNB)**

---

**EMANOEL ELZO LEAL DE BARROS, PhD (UPIS)**

**BRASÍLIA/DF,  
27 de MARÇO de 2013**

Dedico a todos aqueles que fizeram parte  
da construção, realização e conclusão deste sonho.

Em especial, à minha co-orientadora,

Dra. Francislete Rodrigues Melo.

Estes foram os mesmos que fizeram de mim

um ser humano melhor

pessoal e profissionalmente.

“Nada é mais importante  
para o bem-estar do homem hoje,  
do que compreender como  
funciona a natureza”

Ehrlich (1993)

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por ter me guiado e me dado forças em mais esta etapa da minha vida.

Aos meus pais, Donizetti e Lauro, que me mostraram o caminho a ser seguido e que tão pacientemente esperam que eu consiga segui-lo.

Ao meu irmão, Lauro Jr., que esteve sempre ao meu lado, passando alguns dos seus finais de semana tratando dos animais comigo.

Ao meu professor e orientador Dr. Helder Louvandini, pela oportunidade de ter sido sua aluna. Que mesmo longe, me guiou na realização deste trabalho.

À minha querida co-orientadora Dra. Francislete Rodrigues Melo, que me acompanhou durante toda a graduação e me iniciou na área científica. Agradeço pela amizade, por tudo que sou hoje profissionalmente e pelas inúmeras portas abertas durante todo esse tempo de convivência.

Ao amigo e estagiário, João Paulo Horta V. Miranda, que sempre esteve presente me dando a maior força e ajuda ao longo de toda essa caminhada. Que muito se dedicou ao experimento e vibrou comigo a cada resultado.

Aos estagiários da UPIS que me ajudaram em algum momento deste projeto: Hélio Araújo, Geysa Curado, Joaquim Costa Neto, Bruno Ferreira, Leonardo Ribeiro, Marcela Marques, Guilherme Resende, Anderson Eugênio, Marly Landuyt, Luana Frossard, Tailise Zils, Vanessa Belarmino, Taís Bernardes, Brunna Feitosa e Thaís Carvalho.

Aos professores da UPIS Emanuel Elzo Leal de Barros, Simone Sousa e Eliandra Bianchini, por estarem sempre do meu lado, me ajudando todas as vezes que precisei durante meu projeto.

Agradeço também a todos os funcionários da UPIS, que de alguma forma se envolveram neste trabalho. Especialmente à Gislaíne Gonçalves, ao funcionário do laboratório do Hospital Veterinário, Humberto, e aos funcionários da fazenda Augusto, Heitor e “Sete”, pela disposição em me ajudar.

À Dra. Luciana Morita Katiki, que tão carinhosamente me recebeu em seu laboratório no Instituto de Zootecnia, para realizar os testes *in vitro*. Que tão acolhedora, me ajudou a me instalar na hospedaria e cuidou de todos os detalhes da minha estadia. Que foi sempre disponível para todas as minhas dúvidas durante e após os testes.

Ao amigo Edgard Franco Gomes, que tanto fez por mim enquanto estive em Nova Odessa-SP. Agradeço aos ensinamentos diários e aos momentos agradáveis que passamos.

Ao meu namorado, Eros Augusto, pelo amor, companheirismo e paciência de sempre.

À minha tia Elizabeth Dinato, pelas palavras de incentivo e pela ajuda na formatação deste trabalho.

Ao apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES.

À UPIS pelo total apoio nos testes *in vivo*.

À UnB pela oportunidade dessa evolução profissional.

A todas as pessoas que de alguma forma colaboraram para a realização deste sonho.

## ÍNDICE

ÍNDICE .....	VI
RESUMO .....	VIII
ABSTRACT .....	IX
LISTA DE ILUSTRAÇÕES .....	X
ÍNDICE DE TABELAS .....	XI
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES .....	XII
CAPÍTULO 1 .....	01
1. INTRODUÇÃO .....	01
1.2 OBJETIVOS.....	04
1.2.1 Objetivos gerais.....	04
1.2.2 Objetivos específicos.....	04
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	06
2.1 Fitoterapia.....	06
2.2 Histórico .....	06
2.3 Fitoterapia animal .....	08
2.4 Plantas medicinais com propriedades anti-helmínticas .....	09
2.5 Plantas medicinais no controle de <i>Haemonchus contortus</i> em ovinos .....	10
2.5.1 <i>Anacardium humile</i> (cajuzinho-do-cerrado) .....	10
2.5.2 <i>Genipa americana</i> (jenipapo) .....	12
2.5.3 <i>Solanum lycocarpum</i> (lobeira) .....	13
2.5.4 <i>Syzygium cumini</i> (jamelão) .....	14
2.6 Importância econômica da fitoterapia .....	15
2.7 Taninos como anti-helmínticos.....	16
2.8 Produção de ovinos no Brasil e no Distrito Federal.....	18
2.9 Resistência endoparasitária em ovinos .....	19
2.10 <i>Haemonchus contortus</i> .....	20
2.11 Fatores que afetam a resistência dos ovinos às verminoses .....	23
2.12 Alternativas de controle da verminose em ovinos.....	24
CAPÍTULO 2 .....	26
RESUMO.....	27
ABSTRACT .....	28

2.1. INTRODUÇÃO .....	29
2.2 MATERIAL DE MÉTODOS .....	31
2.2.1 Obtenção das folhas.....	31
2.2.2 Processamento do material vegetal.....	31
2.2.3 Estudo bromatológico do material vegetal e da dieta oferecida aos animais.....	32
2.2.4 Determinação de fenóis totais, taninos totais e taninos condensados.....	33
2.2.5 Ensaio de atividades <i>in vitro</i> do extrato aquoso do material vegetal.....	33
2.2.6 Teste da eclodibilidade de ovos - TEO (Egg Hatch Test – EHT).....	34
2.2.7 Avaliação do Projeto pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UPIS (CEUA – UPIS).....	36
2.2.8 Animais utilizados no experimento .....	36
2.2.9 Confinamento e adaptação dos animais .....	37
2.2.10 Tratamento de ovelhas com o material vegetal .....	37
2.2.11 Pesagem dos animais .....	37
2.2.12 Coleta de sangue e de fezes dos animais .....	38
2.2.13 Determinação do hematócrito e da OPG (contagem de ovos por gramas de fezes) .....	38
2.2.14 Análise estatística .....	38
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
2.3.1 Resultados do Teste da Eclodibilidade de Ovos .....	40
2.3.2 Análise da eficácia na redução do OPG dos animais durante os 14 dias de tratamento	43
2.3.3 Análise do peso dos animais durante os 14 dias de tratamento .....	46
2.3.4 Resultado do hematócrito realizado aos animais durante os 14 dias de tratamento .....	47
2.4 CONCLUSÕES.....	49
CAPÍTULO 3 .....	50
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	51

## RESUMO

**USO DE PLANTAS MEDICINAIS COMO ALTERNATIVA PARA O CONTROLE DE *Haemonchus contortus* EM OVINOS: TESTES *IN VITRO* E *IN VIVO*.** Luciana Dinato Rosa de Oliveira. Orientador: Helder Louvandini, PhD, São Paulo, SP.

Objetivou-se com este trabalho avaliar a eficácia *in vitro* e *in vivo* de quatro plantas medicinais com uso das folhas de cajuzinho-do-cerrado (*Anacardium humile*), jamelão (*Syzygium cumini*), jenipapo (*Genipa americana*) e lobeira (*Solanum lycocarpum*), como alternativa para o controle de *Haemonchus contortus*. O teste *in vitro* utilizado foi de eclodibilidade de ovos (TEO) utilizando-se concentrações crescentes (3,12 mg/mL, 6,25 mg/mL, 12,5 mg/mL, 25 mg/mL, 50 mg/mL e 100 mg/mL) de extrato aquoso (EA) das plantas sobre os ovos de *H. contortus*. O EA de *A. humile* apresentou o menor valor da CL<sub>50</sub> (concentração letal) de 4,14 mg/mL, seguido por 12,35 mg/mL do *S. cumini*. No TEO do *S. lycocarpum*, na concentração máxima testada, houve inibição de 14,20 % na eclodibilidade, e da *G. americana*, inibição de 18,27 %, assim a CL<sub>50</sub> destas plantas foi muito superior às demais. Para os testes *in vivo*, 30 animais borregos, machos e fêmeas, mestiços Santa Inês, naturalmente infectados, foram divididos em 5 tratamentos, sendo um controle negativo (sem uso de planta), e outros quatro que receberam 30 g das respectivas plantas secas e moídas a saber: tratamento caju (folha de cajuzinho-do-cerrado), tratamento jenipapo (folha de jenipapo), tratamento lobeira (folha de lobeira) e tratamento jamelão (folha de jamelão). O período experimental foi de 28 dias: 7 de adaptação ao confinamento, 14 de fornecimento das plantas e 7 de período residual. Após os 7 dias de adaptação, nos dias 0, 7, 14 e 21, foram feitas as pesagens dos animais, coletas de sangue para contagem de eosinófilos e de fezes para contagem de ovos por grama de fezes (OPG). Após 14 dias de tratamento, foi observada redução de 25,55 % do OPG no tratamento controle, de 66,04 % no tratamento caju, de 66,18 % no tratamento jenipapo, de 53,53 % no tratamento lobeira e de 67,73 % no tratamento jamelão. No período residual (21 dias), o tratamento caju apresentou 47,84 % na redução no OPG, seguido da lobeira com 39,48 %, e do jenipapo com 30,20 %. Neste período, houve aumento de 27,98 % no OPG dos animais tratados com jamelão e de 139,72 % nos animais do grupo controle. Durante o período de tratamento, também foi observado ganho em peso entre 4,9 e 16,04 %, em todos os tratamentos e a contagem de eosinófilos apresentou redução de 43 % no controle e 17 % no tratamento caju, sendo que nos demais houve aumento de 5 % no tratamento jenipapo, de 43 % no tratamento lobeira de 12 % no tratamento jamelão. Concluiu-se que no teste *in vitro*, o *A. humile* apresentou a melhor atividade na inibição da eclosão dos ovos, e no teste *in vivo*, o *S. cumini* foi responsável pela melhor atividade após o tratamento e o *A. humile*, o melhor resultado no período residual, contra a verminose ovina.

**Palavras-chaves:** *Anacardium humile*. Anti-helmíntico. *Genipa americana*. Helmintos. Ruminantes. *Solanum lycocarpum*. *Syzygium cumini*.

## ABSTRACT

**USE OF MEDICINAL PLANTS AS AN ALTERNATIVE FOR CONTROLLING *Haemonchus contortus* IN SHEEP: *IN VITRO* AND *IN VIVO* TESTS.** Luciana Dinato Rosa de Oliveira. Orientador: Helder Louvandini, PhD, São Paulo, SP.

The objective of this study was to evaluate the *in vitro* and *in vivo* efficacy of four medicinal plants using *Anacardium humile*, *Syzygium cumini*, *Genipa americana* and *Solanum lycocarpum* leaves as an alternative for the control of *Haemonchus contortus*. The *in vitro* test used was hatchability of eggs (EHT) using increasing concentrations (3,12 mg/mL, 6,25 mg/mL, 12,5 mg/mL, 25 mg/mL, 50 mg/mL and 100 mg/mL) of aqueous extract (AE) of plants on *H. contortus* eggs. *A. humile* AE showed the lowest LC50 (lethal concentration) value of 4,14 mg/mL, followed by *S. cumini* 12,35 mg/mL. In *S. lycocarpum* EHT, the highest concentration tested (100 mg/mL) had at an inhibition rate of 14,20 % of hatchability, and in *G. americana*, there was an inhibition rate of 18,27 %, so the LC50 of these plants was much higher than the others. For *in vivo* tests, 30 lambs, males and females, Santa Ines (crossbred), naturally-infected were divided into 5 treatments: a negative control (no use of medicinal plant), and four others that received 30 g of the following plants dried and milled: *A. humile*, *G. Americana*, *S. lycocarpum* and *S. cumini*. The experimental period was 28 days: 7 days of confinement adaptation, 14 days for the treatment with plants and 7 days for the residual period. After 7 days of adaptation, at 0, 7, 14 and 21days, body weights, blood samples for eosinophil count and fecal egg counts per gram of feces (EPG) were taken. The following reductions in EPG were observed in 14 day: a 25,55 % reduction in the control, 66,04 % in the *A. humile* treatment, 66,18 % in the *G. americana* treatment, 53,53 % in the *S. lycocarpum* treatment and 67,73 % in the *S. cumini* treatment. In residual period (21 day), in *A. humile* treatment showed reduction of 47,84 % in OPG, following for 39,48 % in *S. lycocarpum* treatment e 30,20 % in *G. americana* treatment. In this period, there was an increase of 27,98 % in OPG in the animals treated with *S. cumini* and 139,72 % in the control group. During the treatment period, an increased rate of weight gain from 4,9 to 16,04 % was also observed in all treatments, and the eosinophil count was reduced 43 % in the control, 17 % in the *A. humile* treatment, compared with a 5 % increase in the *G. americana* treatment, 43 % in the *S. lycocarpum* treatment and 12 % in the *S. cumini* treatment. This study concluded that the *in vitro* test the *A. humile* showed the best activity in inhibiting the eggs hatch, and in the *in vivo* test *S. cumini* was responsible for the best activity after the treatment and *A. humile* showed the best result in the residual period against the nematode parasites of sheep.

**Keywords:** *Anacardium humile*. Anthelmintic. *Genipa americana*. Helminthis. *Solanum lycocarpum*. Ruminants. *Syzygium cumini*.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.1 - Arbusto com frutos de <i>Anacardium humile</i> .....	11
Figura 1.2 - Árvore de <i>Genipa americana</i> . .....	12
Figura 1.3 - Arbusto de <i>Solanum lycocarpum</i> .....	13
Figura 1.4 - Árvore de <i>Syzygium cumini</i> . .....	14
Figura 1.5 - Ovo blastomerado de <i>Haemonchus contortus</i> .....	21
Figura 1.6 - Ovo larvado de <i>Haemonchus contortus</i> .....	21
Figura 1.7 - Larva L3 de <i>Haemonchus contortus</i> corada com lugol .....	22
Figura 1.8 - Larva L5 de <i>Haemonchus contortus</i> e sua cutícula que foi perdida .....	23
Figura 2.1 - Farinha das folhas .....	32
Figura 2.2 - Extratos aquosos obtidos.....	34
Figura 2.3 - Placas utilizadas no TEO com 24 poços.....	35
Figura 2.4 – Baías onde foram confinados os animais para o experimento. ....	36
Figura 2.5 - Gráfico dose x resposta do <i>A. humile</i> .....	40
Figura 2.6 - Gráfico dose x resposta do <i>S. cumini</i> .....	41
Figura 2.7 – Retas de regressão da relação entre os dias de pós tratamento com as plantas e ovos eliminados nas fezes .....	45

**ÍNDICE DE TABELAS**

Tabela 2.1 - Análise bromatológica das folhas das plantas e do concentrado expressos em g/kg de matéria seca.....	33
Tabela 2.2 - Análise de fenóis totais, taninos totais e taninos condensados das folhas das plantas e do concentrado.....	33
Tabela 2.3 - Porcentagem de inibição da eclodibilidade dos ovos e CL50 nas diferentes plantas avaliadas.....	42
Tabela 2.4 – Eficácia dos tratamentos durante os 14 dias de experimento e no período residual (dia 21); Redução de ovos/dia, durante os 21 dias de experimento, em cada tratamento.....	43
Tabela 2.5 - Pesos médios dos ovinos (kg) nos dias 0, 7 e 14 dias experimentais e ganho em peso médio diário (g/dia).....	47
Tabela 2.6 - Média e variação da contagem de eosinófilos em relação ao total de leucócitos, durante os 14 dias de experimento e no período residual (dia 21) .....	48

**LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIações**

°C	Graus Celsius
µl	Microlitro
µm	Micrometro
a.C.	Antes de Cristo
ABIFISA	Associação Brasileira das Empresas do Setor Fitoterápico, Suplemento Alimentar e de Promoção da Saúde
ACCOB	Associação dos Criadores de Caprinos e Ovinos de Brasília
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ATP	Adenosina Trifosfato
B.O.D.	Incubadora para demanda bioquímica de oxigênio
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CL	Concentração letal
CNA	Confederação de Agricultura e Pecuária do Brasil
DF	Distrito Federal
EA	Extrato aquoso
EMATER/DF	Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Distrito Federal
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EUA	Estados Unidos da América
FAO/IAEA	Food and Agriculture Organization/International Atomic Energy Agency
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
g	Gramas
h	Hora
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
kg	Kilograma
LIG	Lignina
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mg/mL	Miligramas por mililitro
MM	Matéria mineral

mm	Milímetro
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria seca
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPG	Ovos por grama de fezes
Ovos/vol.	Ovos por volume
PB	Proteína bruta
ROPG	Redução dos ovos por grama de fezes
Rpm	Rotações por minuto
TC	Taninos condensados
TEO/EHT	Teste da Eclodibilidade de Ovos / Egg Hatch Test
TH	Taninos hidrolisáveis
UFPR	Universidade Federal do Paraná
UNB	Universidade de Brasília
UPIS	União Pioneira de Integração Social
vol.	Volume
WAAVP	World Association for the Advancement of Veterinary Medicine

## CAPÍTULO 1

### 1.1 INTRODUÇÃO

Helmintíases representam um dos maiores problemas de saúde para pequenos ruminantes, comprometendo intensamente o desempenho dos animais. A presença de parasitas reduzem o ganho de peso e a capacidade de reprodução, assim como a produção de leite, lã e couro. A infecção é geralmente de natureza mista, e, juntamente com a sanidade inadequada e o manejo nutricional dos animais, culmina em consideráveis perdas econômicas (Cenci et al., 2007). O parasitismo gastrintestinal é um problema enfrentado por produtores de todo o mundo, sendo o *Haemonchus contortus*, um parasita do abomaso de pequenos ruminantes, o responsável pelas maiores perdas.

A produção de ovinos no Brasil, bem como em outros países, tem sido prejudicada pela intensa ocorrência de cepas desses parasitas resistentes a produtos anti-helmínticos convencionais. Um dos primeiros relatos brasileiros de resistência de *H. contortus* à benzimidazol ocorreu no Rio Grande do Sul, em 1967 (Santos & Gonçalves, 1967). Esse fato se deu principalmente, devido ao uso indiscriminado desses produtos e ao manejo inadequado dos rebanhos.

O mercado da carne ovina está em franca ascensão em todo o país. Os preços pagos por esta carne na unidade produtiva representam bem mais que o preço pago pela carne bovina nas mesmas condições. No entanto, em 2012, 63,1 % da carne ovina consumida pelos brasileiros foi importada, provenientes do Uruguai (93 %), da Argentina (3,8 %), do Chile (2,8 %), da Nova Zelândia (0,3 %) e da Austrália (0,1%), tornando a cadeia produtiva brasileira cada vez mais dependente do mercado externo (Souza, 2013).

Além dessa dependência do mercado externo, há também o prejuízo dessas

importações para os criadores. Os ovinocultores tem se constituído em dois grandes grupos: os produtores patronais, onde a ovinocultura é uma atividade que compõe o sistema de produção em conjunto com os bovinos de corte e alguma agricultura; e os agricultores familiares, que se dedicam à ovinocultura como uma atividade importante do seu sistema de produção, como fonte familiar de proteína animal. Devido às importações, há uma diminuição dos preços dos produtos, obrigando, assim, os criadores à diminuir os rebanhos e buscar alternativas de rentabilidade (Ribeiro, 2008).

O consumo de carne fresca ou resfriada, em substituição à carne congelada, é uma tendência atual de mercado, favorecendo o consumo de produtos internos. Assim, os rebanhos ovinos precisam ser aumentados rapidamente para diminuir as importações e cobrir as ociosidades existentes nos abatedouros e frigoríficos (MCT/CNPq/CGAPB, 2001 apud Embrapa, 2013).

Portanto, os planejamentos adequados, aliados ao manejo correto dos animais, à organização dos produtores e às pesquisas bem orientadas, poderão contribuir para o aumento do período de oferta desses animais para abate por maior número de meses do ano, atendendo a demanda crescente dos consumidores.

A maioria dos produtores não adota o programa estratégico de controle de parasitas recomendado, nem realiza anualmente e de forma racional, a alternância dos grupos químicos dos anti-helmínticos utilizados. Esse problema ocorre devido à falta de conhecimento básico no que se refere à biologia e à epidemiologia dos endoparasitas, e também aos custos elevados dos insumos químicos.

Na maioria das vezes, as vermifugações são realizadas sem base técnica, com isso selecionam-se rapidamente nematoides resistentes às drogas disponíveis no mercado (Silva, 2007) o que determina a necessidade da renovação do estoque de anti-helmínticos, porém, a disponibilidade de novos produtos ainda é restrita. Outros fatores também influenciam na resistência, como clima, idade dos animais afetados e o estado nutricional em que esses animais se encontram.

Atualmente o uso de insumos químicos e os processos de produção não naturais na agricultura têm sido cada vez mais questionados e se tornaram uma preocupação dos consumidores. Sabe-se que os antiparasitários deixam níveis consideráveis de resíduos na carne, no leite e no meio ambiente e isso interfere na saúde humana (Padilha et al., 2000). Devido ao risco de resíduos nos produtos alimentícios e no ambiente, percebe-se hoje uma tendência crescente de uma agricultura orgânica e de uma agricultura sustentável. Neste sentido, alguns efeitos negativos para a saúde com o uso de tratamentos convencionais já

foram comprovados. Segundo Gracey et al. (1999), efeitos teratogênicos foram observados em ovelhas tratadas com parabendazole durante a gestação, resultando em defeitos congênitos em nível do esqueleto dos neonatos. O levamisol também foi associado a um variado número de efeitos indesejáveis em animais de produção.

Por outro lado, inúmeros relatos foram feitos sobre alternativas de baixo custo e menos prejudiciais à saúde humana e ao ambiente, baseadas na redução ou mesmo na exclusão desses tratamentos químicos no controle parasitário (Silva, 2007).

A fim de contribuir com práticas alternativas para o controle de nematoides gastrintestinais em pequenos ruminantes, vários pesquisadores, em diversos países, tem se empenhado em testar plantas usadas na medicina popular para avaliação da eficácia e segurança das mesmas (Nery et al., 2009).

Nos EUA, Ketzis et al.(2002), obtiveram eficácia igual ao tiabendazole, trabalhando com óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* (0,2 mL/kg de peso vivo), promovendo a inibição da eclosão dos ovos de *H. contortus*.

Na Nigéria, extratos etanólico e aquoso de *Spondias mombin* (Ademola et al., 2005) e *Spigelia anthelmia* (Ademola et al., 2007) (500 mg/kg de peso vivo) foram eficazes na redução de até 65 % do OPG (ovos por grama de fezes) de ovinos.

No Brasil, um levantamento realizado por Krychak-Furtado (2006), 106 espécies foram citadas com ação anti-helmínticas, entretanto menos de 17 % tiveram suas eficácias comprovadas. Das espécies identificadas, somente 17,9 % eram indicadas para tratamento de nematoides em ruminantes. Este fato mostra que, apesar de muitas plantas já terem sido descritas com este potencial, poucas foram avaliadas cientificamente.

Estudos realizados no Brasil, 15 plantas apresentaram eficácia acima de 95 % para inibição do desenvolvimento de trichostrongilídeos. As plantas que revelaram resultados mais promissores foram: *Aster lanceolatus*, *Croton zehntneri*, *Cymbopogon citratus*, *Dicksonia sellowiana*, *Digitaria insularis*, *Genipa americana*, *Lippia sidoides*, *Mangifera indica*, *Melia azedarach*, *Ocimum gratissimum*, *Petiveria alliacea*, *Pterocaulon interruptum*, *Oryza latifolia*, *Spigelia anthelmia* e *Trichilia pallida* (Nery et al., 2009).

A fitoterapia no controle de verminoses é uma alternativa que poderá reduzir o uso de anti-helmínticos, prolongando assim, a vida útil dos produtos químicos disponíveis. Muitas plantas são tradicionalmente conhecidas por suas atividades anti-helmínticas, no entanto, seu uso requer verificação científica para comprovação de sua eficácia (Silva, 2007).

O Brasil possui uma “farmacopeia popular” muito diversa, baseada em plantas medicinais, isto se deve à uma miscigenação cultural que envolve africanos, europeus e

indígenas, e à introdução de espécies exóticas pelos colonizadores, imigrantes e escravos (Martins et al., 2003).

Este trabalho se propôs a fazer o estudo de algumas plantas medicinais utilizadas tradicionalmente como vermífugas, que são de fácil disponibilidade, fornecendo assim ao produtor rural alternativa às drogas anti-helmínticas para o controle das verminoses gastrintestinais.

## **1.2 OBJETIVOS**

### **1.2.1 Objetivos gerais**

Avaliar *in vitro* e *in vivo*, através das folhas de cajuzinho-do-cerrado (*Anacardium humile*), jamelão (*Syzygium cumini*), jenipapo (*Genipa americana*) e lobeira (*Solanum lycocarpum*), a eficácia de plantas medicinais como alternativa para o controle de *Haemonchus contortus* em ovinos mestiços infectados naturalmente no Distrito Federal.

### **1.2.2 Objetivos específicos**

- Obtenção do material vegetal;
- Processamento das folhas;
- Obtenção dos extratos aquosos das folhas;
- Obtenção do material biológico para o teste *in vitro* (ovos de *H. contortus*);
- Teste da eclodibilidade de ovos, utilizando os extratos aquosos;
- Fornecimento, na proporção de 10 % do concentrado diário, do pó das folhas aos animais;
- Pesagem para avaliação de ganho em peso durante os 14 dias de experimento;
- Coleta de sangue para avaliação do número de eosinófilos durante os 21 dias de experimento;

- Coleta de fezes para avaliação da contagem de OPG durante os 21 dias de experimento.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Fitoterapia

Fitoterapia é um método de tratamento caracterizado pela utilização de plantas medicinais em suas diferentes preparações sem a utilização de substâncias ativas isoladas, ainda que de origem vegetal. Um fitoterápico é um produto obtido de planta medicinal ou de seus derivados, exceto substâncias isoladas, com finalidade profilática, curativa ou paliativa (Brasil, 2009).

### 2.2 Histórico

O uso das plantas medicinais teve início provavelmente na pré-história, quando tanto os homens, quanto os animais, iniciaram as práticas de saúde, utilizando plantas pelo instinto de sobrevivência, observando determinados efeitos para minimizar suas enfermidades, acumulando, assim, conhecimentos empíricos que foram passados de geração para geração, até os tempos atuais (Ferro, 2008).

Os primeiros relatos de uso de plantas medicinais pelo homem datam aproximadamente de 2.600 a.C., na Mesopotâmia, sendo relatados também no Egito e na Grécia antiga. O primeiro registro de uso de plantas medicinais como remédios foi proveniente da medicina tradicional chinesa, encontrado na obra *Pen Ts'ao* (A Grande Fitoterapia), que descreve a utilização dos recursos vegetais para a cura de diversas doenças. Durante séculos, desde a Idade Antiga até o Iluminismo, as plantas medicinais consistiram no

principal instrumento terapêutico para a cura de doenças (Leite, 2009).

O uso de ervas medicinais, inicialmente, era meramente intuitiva (empírica) ou era feita observando-se os animais, que buscavam nas ervas cura para suas afecções. A utilização de plantas para o tratamento de doenças acontece em todo o mundo e há muito tempo (Ferro, 2008).

No Brasil, os índios utilizavam das plantas medicinais nos seus rituais de cura, enquanto os povos africanos às associavam com rituais religiosos. A disseminação deste uso foi auxiliada pelos colonizadores europeus, e pelos imigrantes chineses e japoneses (Ferro, 2008).

Nos séculos XVII e XVIII, períodos do Iluminismo, foram desenvolvidas as primeiras técnicas fitoquímicas de isolamento, quando se iniciou estudos visando a obtenção de substâncias puras a partir de drogas vegetais, até então usadas na forma bruta. Essa mudança de enfoque da medicina influenciou a história da cura nos anos seguintes (Leite, 2009).

O grande ganho econômico das indústrias farmacêuticas e a carência de comprovação científica sobre a eficácia de vários produtos medicamentosos de origem vegetal, aliada às dificuldades no controle químico, físico-químico, farmacológico e toxicológico dos extratos vegetais usados, impulsionaram a substituição desses produtos por fármacos de origem sintética (Rates, 2001).

O uso abusivo de medicamentos, constituídos principalmente por princípios ativos sintetizados e purificados, gerou várias consequências, como o surgimento de doenças iatrogênicas (decorrente do uso de medicamentos) e o aumento de resistência aos antibióticos. Em meados de 1960, diante desses fatos e da dependência de altos investimentos necessários ao financiamento da pesquisa de novos fármacos, surgem na sociedade ocidental, movimentos em busca de um modelo alternativo ou complementar no campo da saúde. Movimentos esses, interessados nas “terapias alternativas” (Leite, 2009).

Recentemente, iniciaram-se os estudos científicos de alguns medicamentos fitoterápicos, visando à confirmação de suas eficácias clínicas e segurança, devido ao crescimento do mercado de plantas medicinais em todo o mundo. Juntamente com esses estudos, houve a melhoria no controle de qualidade para alguns produtos, o que fez com que o interesse da classe médica em prescrever fitoterápicos aumentasse (Calixto, 2001).

A megabiodiversidade da flora brasileira pode assegurar uma enorme vantagem competitiva do Brasil no mercado global, com a utilização racional dos recursos naturais, proporcionando grandes benefícios para a saúde pelo oferecimento de fármacos

seguros e eficazes.

O Brasil detém cerca de 10 % da flora mundial, e apesar de ter proporcionado à humanidade produtos como o curares, a emetina, a pilorcapina, entre outros com propriedades extraordinárias, continua a ser um país com muitas potencialidades. Visto que, menos de 1 % das espécies vegetais brasileiras foram analisadas sob o ponto de vista químico e farmacológico, e que 80 % a 85 % da população mundial utiliza medicamentos à base de plantas, estudos que garantam a segurança e eficácia das plantas medicinais são necessários (Ferro, 2008).

### **2.3 Fitoterapia animal**

Em muitos países em desenvolvimento, com limitado acesso ao serviço de saúde, a maioria da população rural confia na medicina tradicional para aliviar uma variedade de enfermidades, tanto humanas quanto animais. Entretanto, o esforço para melhorar os serviços de saúde dos animais nas áreas rurais é necessário, utilizando-se todos os recursos disponíveis, incluindo a medicina etnoveterinária (Eloff et al., 2010). A Etnoveterinária é a ciência que envolve a opinião e o conhecimento das práticas populares utilizadas para o tratamento ou prevenção das doenças que acometem os animais (Mathius-Mundy & McCorkle, 1989).

O Brasil possui uma vasta fonte de produtos naturais que podem ser úteis para a prevenção ou tratamento de doenças, tanto para uso humano como animal. As plantas medicinais podem ser usadas como tratamento alternativo ou complementar na veterinária, empregando-se tanto vegetais frescos, extratos vegetais e fitoterápicos (Simoni, 2011).

Segundo Eloff et al. (2010), a pesquisa por alternativas antibacterianas e anti-helmínticas, em particular, é intensificada por seguidos problemas associados à resistência a medicamentos e resíduos químicos na produção animal. Práticas etnoveterinárias, quando comprovadas eficientes e não prejudiciais, podem fornecer respostas para os problemas encontrados atualmente na medicina veterinária convencional.

Estudos das atividades biológicas das plantas usadas contra doenças nos animais podem indicar caminhos promissores para o desenvolvimento de extratos que podem ser usados de forma comercial (Eloff et al., 2010).

## 2.4 Plantas medicinais com propriedades anti-helmínticas

As plantas medicinais podem reunir inúmeras substâncias farmacologicamente ativas, os fitocomplexos. Em média, são 5 mil princípios ativos, com muitas ações sinérgicas no sentido curativo e outras antagônicas, no sentido toxicológico (Ferro, 2008).

Os princípios ativos são compostos químicos ou grupos desses compostos que são sintetizados pelas plantas a partir de nutrientes, da água e da luz que recebem. Muitos desses compostos ou grupos, quando interagem com o organismo humano, podem provocar reações biológicas. Assim, a planta medicinal é aquela que contém um conjunto de princípios ativos com ação terapêutica. Essas substâncias medicinais apresentam funções bem específicas dentro da planta e, na maioria das vezes, são frutos do metabolismo secundário, portanto, possuem função ligada à ecologia da planta (Ferro, 2008).

Muitos são os princípios ativos encontrados nas plantas, responsáveis pelos efeitos terapêuticos. Do ponto de vista clínico, os princípios ativos podem ser divididos em grupamentos químicos presentes na droga vegetal. Baseando-se nas indicações clínicas, os principais grupos são: ácidos orgânicos, alcaloides, compostos fenólicos, compostos inorgânicos, cumarinas, flavonoides, glicosídeos cardiotônicos, antraquinonas, mucilagens, óleos essenciais, saponinas, taninos, substâncias amargas, compostos sulfurados, lignanas, neolignanas, gomas e glucoquininas (Ferro, 2008).

O potencial promissor de plantas ricas em princípios ativos, principalmente os taninos, no controle de nematoides, tem sido relatado por autores de diversos países. Esse metabólito secundário está presente em muitas plantas nativas do Cerrado e da Caatinga, devido à sua rusticidade, indicando um campo amplo de pesquisas de fitoterápicos com ação anti-helmíntica nessas vegetações brasileiras (Nery et al., 2009).

Helmintos são comuns em áreas rurais, e os anti-helmínticos formam um componente importante tanto da medicina etnoveterinária animal, quanto da medicina humana tradicional (Eloff et al., 2010). A emergência e a transmissão de populações de nematoides resistentes a um ou mais anti-helmínticos de largo espectro é um fenômeno mundial, sendo particularmente grave em pequenos ruminantes (Hoste et al., 2006).

Um grande número de plantas medicinais possui propriedades anti-helmínticas no sistema tradicional de medicina humana e veterinária, sendo utilizadas por grupos étnicos em todo o mundo (Mali et al., 2008). Na América Latina, foi relatado o uso de 201 espécies de plantas na medicina veterinária tradicional (Eloff et al., 2010).

Extratos de plantas foram testados usando ensaios com ovos e larvas de nematoides parasitas. A inibição da eclodibilidade dos ovos e o desenvolvimento larval de *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus columbriformis*, os dois mais importantes parasitas pecuários, por vários extratos de plantas, foram relatadas (Eloff et al., 2010).

Por causa da limitada disponibilidade e acessibilidade aos modernos medicamentos, a maioria da população mundial depende, em grande parte das vezes, de fitoterápicos. A medicina tradicional sustenta uma grande promessa como fonte facilmente disponível de agentes anti-helmínticos eficazes para o povo, particularmente em países tropicais em desenvolvimento. É neste contexto que as pessoas consomem várias plantas ou preparações derivadas de plantas para curar as infecções helmínticas (Mali et al., 2008). Entretanto, muitas necessitam que suas eficácias sejam comprovadas cientificamente (Vieira, 2008).

## **2.5 Plantas medicinais no controle de *Haemonchus contortus* em ovinos**

A fitoterapia pode constituir uma alternativa eficaz no controle de parasitas gastrintestinais. Entretanto, estudos envolvendo produtos fitoterápicos ainda são escassos.

O bioma Cerrado possui aproximadamente 7 mil espécies, sendo uma das maiores floras do mundo (Mendonça et al., 1998), utilizada para diversos fins, principalmente alimentício e medicinal. Apesar dessa riqueza, poucos estudos mostram, experimentalmente, a atividade dessas plantas, as quais guardam características selvagens extremamente valiosas.

### **2.5.1 *Anacardium humile* (cajuzinho-do-cerrado)**

Espécie nativa do cerrado, o *Anacardium humile* A. St. Hil. (Figura 1.1), da família Anacardiaceae, é conhecido popularmente como cajueiro-anão, caju-do-cerrado, cajueiro-do-campo, cajuí, cajuzinho, cajuzinho-do-cerrado, cajuzinho-do-campo (Lorenzi, 2008).

A espécie ocorre com frequência no cerrado *sensu stricto*, campo sujo, campo limpo e campo rupestre de todo o Brasil (Rodrigues & Carvalho, 2001), sendo que as

principais áreas de distribuição são os estados do Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Bahia, São Paulo, Rondônia e Bahia (López-Naranjo & Pénia, 1990; Almeida et al., 1998).

As sinonímias encontradas desta espécie são *Anacardium pumilum* Walp. e *Anacardium nanum* A. St. Hil. (Lorenzi, 2008).



Figura 1.1 - Arbusto com frutos de *Anacardium humile*.  
Fonte: Arquivo próprio.

A família Anacardiaceae, tem sido objeto de investigação, nos últimos anos, pois as espécies desta família têm mostrado bastante promissoras na busca de substâncias bioativas (Correia et al., 2006).

Todas as partes da planta são empregadas na medicina caseira em várias regiões do país, com indicações baseadas na tradição: o óleo do pericarpo do fruto é usado para afecções da pele, a infusão das folhas ou da casca do caule subterrâneo é indicada contra diarreia, o suco dos pseudofrutos (cajuzinho) é referido como antissifilítico, o decocto das inflorescências é usado para baixar o teor de glicose nos diabéticos (Lorenzi, 2008).

### 2.5.2 *Genipa americana* (jenipapo)

Árvore de copa estreita, de 8 a 14 m de altura, a *Genipa americana* L. é nativa de várzeas úmidas ou encharcadas de todo o Brasil (Figura 1.2). Da família Rubiaceae, é conhecido popularmente como jenipapo, jenipapeiro, janapapeiro, janipaba, janipapeiro, jenipapo, jenipá e jenipapinho.

Esta espécie possui várias sinonímias, são elas: *Gardenia genipa* Sw., *Genipa americana* var. *cauto* (Kunth) K. Schum., *Genipa barbata* Presl, *Genipa caruto* Kunth, *Genipa codonocalix* Standl., *Genipa cymosa* Spruce, *Genipa excelsa* K. Krause, *Genipa grandifolia* Pers., *Genipa nervosa* Spruce, *Genipa oblongifolia* Ruiz & Pav., *Genipa pubescens* DC., *Genipa spruceana* Steyerl., *Genipa venosa* Standl. (Lorenzi, 2008).



Figura 1.2 - Árvore de *Genipa americana*.  
Fonte: Arquivo próprio.

Todas as partes dessa planta são empregadas na medicina tradicional em muitas regiões do país. O chá das raízes é utilizado como purgativo e antigonorreico; a casca do tronco é catártica, antidiarreica, empregada externamente como emplastro contra úlceras, dores de várias origens e nos casos de faringite; a decocção das folhas é indicada contra diarreia e sífilis; a polpa dos frutos verdes é usada contra sífilis e para ruptura de umbigo em recém-nascidos; e, os frutos maduros são diuréticos e estomáticos, indicados contra anemia, icterícia, asma, hidropsia, e problemas do fígado e do baço. Os índios da Amazônia usam a

polpa dos frutos verdes, em aplicação local, contra dor de dentes (Lorenzi, 2008).

### 2.5.3 *Solanum lycocarpum* (lobeira)

A lobeira é também conhecida como fruta-de-lobo, capoeira-branca, berinjelado-mato, jurubebão, baba-de-boi, loba, jurubeba-de-boi. O *Solanum lycocarpum* St. Hil (Figura 1.3) pertence à família Solanaceae e é nativo de quase todo o país em áreas de Cerrado (Lorenzi, 2008)

No Brasil, o lobo-guará caça por suas pequenas presas à noite, mas sua dieta é composta por 51 % de plantas. A planta favorita deste animal é a fruta da lobeira. Embora essa fruta seja mais abundante em determinada época do ano, o lobo-guará se esforça para comer uma quantidade constante durante o ano, sugerindo que esta fruta tem um significativo valor (Wynn & Fougère, 2007).



Figura 1.3 - Arbusto de *Solanum lycocarpum*.  
Fonte: Arquivo próprio.

Pesquisas feitas no zoológico de Brasília apontam que os cuidados dados no local não podem ajudar os lobos em cativeiro à sobreviver à infestação de *Dioctophyme renale*, um verme renal letal, a menos que os animais se alimentem de lobeira diariamente

(Silveira, 1969).

Os frutos da lobeira são utilizados na medicina caseira no interior do país principalmente com função diurética, calmante, antiespasmódica, antiofídica e antiepilética.

O amido dos frutos é utilizado para o tratamento de diabetes, cuja eficácia está sendo comprovada por relatos de uso em humanos. O suco do fruto é utilizado para eliminação de verrugas, sendo usado externamente. A decocção das folhas é indicada contra afecções das vias urinárias, cólicas abdominais e renais, espasmos e epilepsia (Lorenzi, 2008).

#### 2.5.4 *Syzygium cumini* (jamelão)

O *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Figura 1.4), da família Myrtaceae, é conhecido popularmente por jambolão, cereja, jamelão, jalão, jambol, jambu, jambul, azeitona-do-nordeste, ameixa-roxa, azeitona e murta. Esta árvore é originária da Indonésia, China e Antilhas, sendo cultivada em vários países, inclusive no Brasil (Lorenzi, 2008).



Figura 1.4 - Árvore de *Syzygium cumini*.  
Fonte: <http://commons.wikimedia.org>

Esta espécie apresenta várias sinonímias, dentre elas: *Myrtus cumini* L., *Eugenia cumini* (L.) Duce, *Eugenia jambolana* Lam., *Syzygium jambolanum* (Lam.) Dc.

(Lorenzi, 2008).

Migliato et al. (2006) relataram várias ações farmacológicas, tanto pelo uso popular como científico desta espécie. No uso tradicional, as folhas são utilizadas para combater diabetes e leucorreia, é usada como cataplasma em doenças da pele, para acalmar prurido, funciona como anti-inflamatório, tem ação hipotensiva, diurética e de obstipação, além de trazer grandes benefícios ao estômago.

A casca tem atividade antidiarreica, ação inibitória contra atividade da protease I do HIV, ação hipoglicemiante, disenteria e as sementes são usadas como anticonvulsivante, hipoglicemiante, anti-hemorragica, anti-inflamatória, bactericida, antidiarreica. Os frutos servem para hipoglicemia, tratamento gastrintestinal, são diuréticos, anti-inflamatórios, antipiréticos, entre outros, as flores são usadas como antibióticos, enquanto a raiz é utilizada como antiemético e para aumentar a lactação em lactantes.

O poder hipoglicemiante dos frutos é relatado na literatura farmacêutica mais antiga, que lista os nomes de antigos medicamentos para diabéticos comercializados sob os nomes de Antimellin e Diamina, produzidos na Europa, a partir de frutos secos importados do Brasil (Lorenzi, 2008).

## **2.6 Importância econômica da fitoterapia**

O uso das plantas medicinais no Brasil abrange zonas rurais, regiões desprovidas de assistência médica e centros urbanos, sendo usadas como forma alternativa ou complementar aos medicamentos convencionais. Esses conhecimentos vieram dos indígenas, escravos e imigrantes responsáveis pelo surgimento de uma medicina popular rica, aplicada tanto a humanos quanto a animais (Ferreira, 2006).

A população cada vez mais questiona os perigos do uso irracional dos medicamentos alopáticos associados aos altos custos, o que tem aumentado significativamente o consumo de fitoterápicos. Comprovações terapêuticas das plantas medicinais, associadas à insatisfação da população perante o sistema de saúde, têm favorecido esse consumo (Tomazzoni et al., 2006).

Por tratar-se de uma alternativa mais saudável, a demanda por medicamentos fitoterápicos vem crescendo nos países desenvolvidos. Nos países em desenvolvimento, esse crescimento se justifica pela dificuldade de acesso aos medicamentos alopáticos (Brasil,

2007).

Segundo a Associação Brasileira das Empresas do Setor Fitoterápico (2005), Suplemento Alimentar e de Promoção da Saúde (Abifisa), não existem dados oficiais da movimentação da indústria de fitoterápicos no Brasil, mas estima-se que seu giro financeiro esteja em torno de 1 bilhão de Reais/ano.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) (Brasil, 2009), 85 % da população mundial faz uso de medicamentos derivados de plantas medicinais. No Brasil, pesquisas demonstram que 91,9 % da população já fez uso de algumas dessas plantas, sendo que 46 % da população mantém um cultivo caseiro das mesmas (Abifisa, 2005).

O uso das plantas medicinais e dos seus respectivos extratos constitui um auxílio importante aos cuidados primários de saúde e um excelente complemento terapêutico para a maioria das especialidades, além de serem 35 % a 70 % mais baratas que os fármacos sintéticos. Além disso, é compatível com a medicina clássica alopática, porém necessitando ainda de controles de qualidade e garantia de segurança quanto aos efeitos tóxicos e colaterais (Ferro, 2008).

## **2.7 Taninos como anti-helmínticos**

Os fatores relatados acima têm proporcionado um forte impulso para a investigação atual em busca de soluções alternativas. Além da função conhecida das plantas na nutrição de herbívoros, elas também são fontes ricas de produtos bioativos que podem ser benéficos, ou não, para os animais em pastejo. Há evidências de potenciais efeitos benéficos de substâncias bioativas derivadas de plantas. Plantas ricas em taninos têm atraído mais atenção por seus efeitos em nematoides internos em ruminantes (Hoste et al., 2006).

As plantas em geral são constantemente submetidas a estresses causados por temperaturas, estresse hídrico, radiação solar e deficiência de nutrientes, que limitam a produção e a qualidade nutricional das mesmas. Sob condições de estresse, muitas plantas tropicais, possuem pré-disponibilidade genética para produzir metabólitos secundários como os taninos (Giner-Chaves, 1996).

Os taninos são polifenóis que podem proporcionar à planta características como gosto amargo, odor repulsivo e pode provocar intoxicações ou efeitos antinutricionais nos predadores (Giner-Chaves, 1996). A presença dessas substâncias nas plantas inibe o

ataque de predadores como insetos, aves, herbívoros, nematoides, fungos, bactérias, entre outros (Cenci et al., 2007).

Os taninos são classificados em taninos hidrolisáveis (TH) e taninos condensados (TC), conforme sua estrutura molecular. Os TH normalmente estão presentes em baixas concentrações nas plantas e podem sofrer facilmente hidrólise por bases, ácidos e esterases. Esses taninos são convertidos em metabólitos de baixo peso molecular pelo metabolismo microbiano e pela digestão. Em monogástricos, alguns desses metabólitos são tóxicos e estão associados a hemorragias gastro-entéricas e necrose do fígado e rins (Cannas, 2001). Quando metabolizados por bactérias ruminais, formam compostos potencialmente tóxicos também para ruminantes (Min & Hart, 2003).

Os TC são mais comumente encontrados em forrageiras, árvores e arbustos (Barry & McNabb, 1999) e são menos tóxicos que os TH (Cenci, 2006). Os TC não são susceptíveis de quebra por hidrólise e, como consequência, não são absorvidos pelo trato gastrointestinal (Cannas, 2001). Esses polímeros, quando em baixa concentração, tem a capacidade de proteger a proteína ingerida da degradação ruminal (*by pass*) e, quando em alta concentração na dieta (acima de 5 % da matéria-seca (MS)), apresentam importante ação antinutricional (Beelen et al., 2008) pois tem a capacidade de formar complexos insolúveis com proteínas (Jean-Bain, 1998). Assim, com a diminuição da degradabilidade ruminal, os taninos condensados aumentam a disponibilidade de proteína alimentar no duodeno (Mangan, 1988).

Devido à adstringência, que reduz a palatabilidade e conseqüentemente o consumo, os taninos geralmente induzem respostas negativas à nutrição de ruminantes. Esse efeito dos taninos sobre o consumo voluntário tem se mostrado variável na literatura (Beelen et al., 2008).

Entretanto, o consumo de taninos também tem sido relacionado a alguns efeitos positivos sobre a nutrição de ruminantes. Em concentrações em torno de 3 a 4 % de tanino na MS, dentre os efeitos positivos destaca-se a proteção da proteína alimentar contra a excessiva degradação ruminal, a diminuição do desperdício de amônia, o aumento da absorção de aminoácidos provenientes da dieta no intestino delgado, a prevenção do timpanismo e a redução da produção de gás metano no rúmen (Animut et al., 2008).

Segundo Barry et al. (2001) e Niezen et al. (2002), os TC também podem aumentar a resistência dos animais à infecção por parasitas gastrintestinais através do aumento da oferta de proteína. Nesse caso, as proteínas são priorizadas para a reparação de tecidos e resposta imunitária. O TC também se liga aos nutrientes, inibindo a disponibilidade

dos mesmos para o crescimento larval ou para diminuir o metabolismo dos parasitas através da inibição da fosforilação oxidativa, uma rota metabólica empregada para a geração de adenosina trifosfato (ATP), principal molécula utilizada como combustível animal. A inibição dessa rota pode causar paralisia e morte larval (Athanasiadou et al., 2001).

Várias pesquisas, em especial, pesquisas com leguminosas e árvores forrageiras, mostram o efeito de bioativos dessas plantas contra vários estágios da vida das populações de parasitas. A maioria dos trabalhos publicados tem por foco as leguminosas forrageiras (família Fabaceae) (Athanasiadou et al., 2005). Os efeitos variam com as espécies de plantas, parasitos e hospedeiros (Hoste et al., 2006).

## **2.8 Produção de ovinos no Brasil e no Distrito Federal**

O Brasil apresenta um enorme potencial de crescimento e expansão para diferentes ecossistemas com produção de carne, leite, pele, lã e seus derivados. A criação de ovinos é uma opção viável e rentável para pequenos produtores rurais e para as unidades de produção familiar, segundo a Confederação de Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA) (Barbosa, 2010).

A principal dificuldade do setor de caprinos e ovinos está no porte reduzido dos rebanhos, quase 10 vezes inferiores ao de bovinos. Isso se reflete em uma instabilidade na oferta de animais para abate, o que diminui o interesse dos frigoríficos que buscam escala. Atualmente, a carne de cordeiro pode custar entre 20 % e 50 % mais do que bovina (Camarotto, 2011).

Ainda assim, o rebanho ovino vem crescendo nos últimos anos e alguns frigoríficos especializados vislumbram melhorias. Entre 2002 e 2009, houve crescimento de 17,5 % no número de animais, segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa). A qualidade dos rebanhos também está melhorando, resultado da maior utilização da genética no setor, o que ainda é relativamente novo no Brasil (Camarotto, 2011).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), a ovinocultura tem se destacado no agronegócio brasileiro. O rebanho efetivo brasileiro, em 2011, era de 17.668.063 cabeças, enquanto na região Centro-Oeste era de 1.209.581. No Distrito Federal (DF), o rebanho efetivo de ovinos neste mesmo ano era de 10.500 cabeças, representando somente 0,05 % do rebanho total brasileiro, segundo o Instituto Brasileiro de

Geografia e Estatística (Ibge) (2010).

Segundo o Mapa, os brasileiros consomem entre 28 e 30 toneladas de carne ovina por mês, sendo 10 % produzidas no DF e 90 % provenientes da Bahia, Região Sul e Uruguai. A Associação dos Criadores de Caprinos e Ovinos de Brasília (ACCOB) afirma estar estimulando a criação de ovelhas, pois a demanda é aquecida e o mercado está em expansão.

Diante dos dados apresentados, observa-se uma grande demanda por produtos da ovinocultura no DF, tanto por parte dos consumidores, quanto dos abatedouros, sinalizando aos produtores locais um nicho de mercado a ser conquistado.

## **2.9 Resistência endoparasitária em ovinos**

Nos anos 1950, as estratégias de controle sanitário animal indicavam a utilização de produtos químicos apenas como medida preventiva (Chagas et al., 2009).

A verminose gastrointestinal é considerada, atualmente, um dos principais problemas sanitários enfrentado pelos criadores de ovinos. Este problema tem sido causado pela resistência aos anti-helmínticos nas últimas três décadas, principalmente pela maior frequência de tratamentos (Melo e Bevilaqua, 2005).

Segundo Molento (2009), a resistência parasitária é o fenômeno em que uma droga que apresentava redução da carga parasitária (OPG) acima de 99 %, passa a ter eficácia inferior à 80 % para dado organismo após certo período de tempo.

Buscando entender o porquê dos ovinos serem tão sensíveis às parasitoses é preciso relembrar suas origens. Os ovinos, juntamente com os caprinos, surgiram em regiões desérticas da Ásia Central e foram as primeiras espécies a serem domesticadas pelo homem. Nesta época, viviam em ambiente desfavorável aos parasitos, portanto não eram expostos aos vermes e isto determinou que os animais não desenvolvessem resposta imunitária (Sotomaior et al., 2009).

Outro fator a ser observado, é que na natureza, esses animais apresentavam comportamento migratório e dificilmente pastejavam no mesmo local. O que mudou completamente quando a criação passou a ser mais intensiva, onde os animais passaram a pastar nos mesmos locais, favorecendo, assim, os parasitos (Sotomaior et al., 2009).

O trato gastrointestinal dos ovinos é parasitado por várias espécies de helmintos

e de protozoários. Dentre as parasitoses, a verminose é a responsável pelos maiores prejuízos. Os principais agentes causadores da verminose nas condições brasileiras de criação de ovinos são *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus colubriformis* (Amarante et al., 2004).

Amarante (2001) afirmou que praticamente 100% dos animais criados a campo são portadores de uma ou mais espécie de endoparasitas. A infecção é geralmente de natureza mista, e juntamente com a sanidade e o manejo inadequados dos animais culmina em consideráveis perdas econômicas (Cenci et al., 2007).

As moléstias parasitárias em ovinos são responsáveis por síndromes clínicas graves e por importantes perdas na produção. Os indivíduos mais sensíveis a estas moléstias são os animais jovens, ovelhas parturientes e animais subnutridos (Smith, 1993).

A principal consequência dessas infecções são os prejuízos econômicos devidos à redução na produtividade, à mortalidade e às despesas com mão-de-obra e com a aquisição de antiparasitários (Amarante, 2001). O parasitismo no abomaso e no intestino de pequenos ruminantes causa ainda extensivas perdas de proteínas no trato digestório das ovelhas (Kimambo et al., 1998).

## **2.10 *Haemonchus contortus***

A elevada prevalência, associada à grande patogenicidade, faz de *Haemonchus contortus* a principal espécie endoparasita de ovinos no Brasil (Amarante, 2001). Estudos revelam que mais de 80 % da carga parasitária de ovinos são compostos por esse parasita, que está presente no abomaso e se alimenta de sangue (Leal, 2012).

Altas infecções de *H. contortus* resultam em hipoproteïnemia e anemia com desenvolvimento de “papeira” (edema subcutâneo na região ventral da mandíbula), fraqueza ou fadiga após exercício e diarreia (Carlton et al., 1998).

O ciclo biológico deste parasita é direto: os ovos são eliminados junto com as fezes e evoluem rapidamente para larvas infectantes (Smith, 1993). O ciclo evolutivo desse gênero pode ser dividido em fase pré-parasitária e parasitária. A fase pré-parasitária inicia-se com a postura de ovos blastomerados (Figura 1.5) pelas fêmeas presentes no trato gastrintestinal.



Figura 1.5 - Ovo blastomerado de *Haemonchus contortus* (visto em microscópio invertido com aumento de 200x). Fonte: Arquivo próprio.

Nos ovinos, as fezes eliminadas correspondem a 5% do peso vivo do animal e, nos bovinos, correspondem a 10% (Amarante, 2011).

Em condições ideais de temperatura, umidade e oxigênio, os ovos evoluem para ovos larvados (Figura 1.6) em primeiro estágio de desenvolvimento larval (L1). Após algumas horas, os ovos eclodem e liberam as larvas rabditóides. Livres, essas larvas prosseguem o desenvolvimento, passando pela fase L2 e culminando com uma larva de terceiro estágio (L3) que corresponde à fase infectante.



Figura 1.6 - Ovo larvado de *Haemonchus contortus* (visto em microscópio invertido com aumento de 200x). Fonte: Arquivo próprio.

As larvas L1 e L2 apresentam esôfago rabditoide, alimentam-se no ambiente de microrganismos e assim, acumulam reservas nas células intestinais. Já a larva infectante L3 apresenta esôfago filarioide e, necessariamente, se alimenta do sangue do hospedeiro. Além disso, a larva L3 apresenta dupla cutícula para proteção e resistência às intempéries ambientais; e quando no ambiente, não se alimenta, consumindo as reservas acumuladas nas células intestinais (Figura 1.7). Amarante (2011) relatou que o período aproximado para este ciclo, se em temperatura de 25° C, tem duração de 7 dias.



Figura 1.7 - Larva L3 de *Haemonchus contortus*/corada com lugol (visto em microscópio invertido com aumento de 100x).Fonte: Arquivo próprio.

Depois de formada, a larva infectante L3 resiste às condições adversas do ambiente por até 6 meses, exceto no verão, quando em altas temperaturas e alta umidade, as larvas se movimentam mais, gastando suas reservas, durando assim, aproximadamente 1 mês (Amarante, 2011).

Este ciclo é continuado quando o hospedeiro ingere a larva L3 do ambiente, iniciando a fase parasitária. A partir dessa ingestão, as larvas são hematófagas e perdem sua cutícula externa. A L3 penetra na mucosa do intestino e desenvolve outra cutícula, dando origem, após 4 dias, à larva L4. Esta sofre novamente a perda da cutícula, formando a L5 inicial (Figura 1.8), culminando na maturação sexual das larvas. Após 25 dias da infecção, já se tem ovos eliminados nas fezes (Amarante, 2011).



Figura 1.8 - Larva L5 de *Haemonchus contortus* e sua cutícula que foi perdida (visto em microscópio invertido com aumento de 200x). Fonte: Arquivo próprio.

### 2.11 Fatores que afetam a resistência dos ovinos às verminoses

A imunidade dos animais desempenha papel muito importante na resistência à verminose (Amarante, 2004). Outros fatores também interferem na resposta do hospedeiro, tais como idade, variações individuais e condição fisiológica (Amarante, 2008).

Os animais, até a puberdade, apresentam grande susceptibilidade à verminose, de maneira geral. Na recria desses animais, medidas efetivas de controle de verminoses são indispensáveis para evitar a mortalidade e a redução no ganho em peso. Animais bem alimentados podem apresentar aumento da habilidade para enfrentar as condições adversas do parasitismo. Podem também apresentar aumento na resistência, limitando o estabelecimento de larvas infectantes, o desenvolvimento e a fecundidade dos nematódeos. Por último, o alimento pode afetar diretamente os helmintos ao conter compostos antiparasitários, como os taninos condensados (Coop e Kyriazakis, 2001).

A capacidade dos ovinos de adquirirem e expressarem imunidade contra os nematoides gastrintestinais é transmitida aos seus descendentes geneticamente, variando entre as diferentes raças, bem como entre os indivíduos de uma mesma raça (Stear e Murray, 1994). Entretanto, o melhoramento genético feito nos últimos 40 anos selecionou apenas melhorias de características ligadas à produtividade dos animais, tais como produção e lã, deixando de lado o melhoramento da resistência aos parasitas (Amarante, 2008).

A suplementação de proteína tem proporcionado o aumento da resistência das ovelhas ao *H. contortus* (Wallace et al., 1996), propiciando melhora na resposta imunológica, especialmente daquelas raças que já são naturalmente mais resistentes à hemoncose, tal como cordeiros da raça Santa Inês (Bricarello et al., 2005).

A nutrição do hospedeiro é importante na modulação do processo de infecção do verme. Segundo Louvandini et al. (2006), na época da seca, com a redução da qualidade do pasto e quando as infecções por vermes se tornam mais severas, há um aumento no OPG (ovos por grama de fezes) dos animais, independente da concentração proteica na dieta. No entanto, os animais com suplementação baixa de proteína têm seu sistema de produção comprometido, observando-se um grande número de ovos nas fezes desses animais, aumentando assim a contaminação da pastagem.

As ovelhas se tornam mais susceptíveis às infecções por nematoides gastrintestinais no período do parto, provocando um aumento do número de ovos eliminados nas fezes, o que consequentemente aumenta também a contaminação da pastagem. Após a desmama dos cordeiros, a resposta imunológica se restabelece e a contagem de OPG reduz (Amarante et al., 1992). Assim, as ovelhas no final da gestação e durante a lactação necessitam de uma dieta com elevado teor de proteína metabolizável para reduzir a dependência do uso de anti-helmínticos para o controle da verminose.

Esse problema se deve também à grande frequência de tratamentos, que é capaz de selecionar os parasitas mais resistentes, diminuindo, assim, a vida útil dos fármacos. O aparecimento das cepas resistentes pode ser explicado pela teoria da evolução, vez que a seleção natural permite que os mais adaptados sobrevivam e se reproduzam (Melo e Bevilaqua, 2005).

## **2.12 Alternativas de controle da verminose em ovinos**

As helmintíases gastrintestinais ocupam lugar de destaque nos fatores que interferem no desenvolvimento pleno da atividade pecuária. Dentre os prejuízos causados estão o retardo na produção, custos com tratamentos profiláticos e curativos e, em casos extremos, à morte dos animais (Araújo, 2008).

Segundo Cezar (2000), levantamentos realizados no Brasil, demonstraram que apenas 30 % dos produtores utilizam os tratamentos antiparasitários de acordo com as

recomendações. Como resultado de uma superutilização, o controle químico das parasitoses está à beira do colapso, trazendo como consequência grande quantidade de carrapatos e helmintos resistentes à maioria das drogas (Echevarria e Pinheiro, 1999).

Como alternativa, alguns métodos têm sido amplamente estudados por diversos grupos de pesquisa a fim de se evitar as doenças ou sua propagação. Destaca-se aqui o pastejo alternado entre ovinos e bovinos, no qual se sugere a utilização de bovinos com mais de 2 anos de idade; administração de anti-helmíntico na dose correta; utilização dos grupos de anti-helmínticos em esquema de rodízio anual; avaliação periódica da presença de nematoides resistentes através de OPG; melhoramento genético do rebanho; controle biológico com a utilização de fungos nematófagos; utilização de homeopatia; e, utilização de fitoterapia (Amarante, 2011).

## **CAPÍTULO 2**

### **USO DE PLANTAS MEDICINAIS COMO ALTERNATIVA PARA O CONTROLE DE *Haemonchus contortus* EM OVINOS: TESTES *IN VITRO* E *IN VIVO***

Oliveira, L. D. R.<sup>1</sup>, Miranda, J. P. H. V.<sup>2</sup>, Gomes, E. F.<sup>3</sup>, Katiki, L. M.<sup>4</sup>, Melo, F. R.<sup>2</sup>,  
Louvandini, H.<sup>3</sup>.

Universidade de Brasília – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária<sup>1</sup>

União Pioneira de Integração Social<sup>2</sup>

Centro de Energia Nuclear na Agricultura – Universidade de São Paulo<sup>3</sup>

Instituto de Zootecnia<sup>4</sup>

**MARÇO/2013**

## RESUMO

**USO DE PLANTAS MEDICINAIS COMO ALTERNATIVA PARA O CONTROLE DE *Haemonchus contortus* EM OVINOS: TESTES *IN VITRO* E *IN VIVO*.** Luciana Dinato Rosa de Oliveira. Orientador: Helder Louvandini, PhD, São Paulo, SP.

Objetivou-se com este trabalho avaliar a eficácia *in vitro* e *in vivo* de quatro plantas medicinais com uso das folhas de cajuzinho-do-cerrado (*Anacardium humile*), jamelão (*Syzygium cumini*), jenipapo (*Genipa americana*) e lobeira (*Solanum lycocarpum*), como alternativa para o controle de *Haemonchus contortus*. O teste *in vitro* utilizado foi de eclodibilidade de ovos (TEO) utilizando-se concentrações crescentes (3,12 mg/mL, 6,25 mg/mL, 12,5 mg/mL, 25 mg/mL, 50 mg/mL e 100 mg/mL) de extrato aquoso (EA) das plantas sobre os ovos de *H. contortus*. O EA de *A. humile* apresentou o menor valor da CL<sub>50</sub> (concentração letal) de 4,14 mg/mL, seguido por 12,35 mg/mL do *S. cumini*. No TEO do *S. lycocarpum*, na concentração máxima testada, houve inibição de 14,20 % na eclodibilidade, e da *G. americana*, inibição de 18,27 %, assim a CL<sub>50</sub> destas plantas foi muito superior às demais. Para os testes *in vivo*, 30 animais borregos, machos e fêmeas, mestiços Santa Inês, naturalmente infectados, foram divididos em 5 tratamentos, sendo um controle negativo (sem uso de planta), e outros quatro que receberam 30 g das respectivas plantas secas e moídas a saber: tratamento caju (folha de cajuzinho-do-cerrado), tratamento jenipapo (folha de jenipapo), tratamento lobeira (folha de lobeira) e tratamento jamelão (folha de jamelão). O período experimental foi de 28 dias: 7 de adaptação ao confinamento, 14 de fornecimento das plantas e 7 de período residual. Após os 7 dias de adaptação, nos dias 0, 7, 14 e 21, foram feitas as pesagens dos animais, coletas de sangue para contagem de eosinófilos e de fezes para contagem de ovos por grama de fezes (OPG). Após 14 dias de tratamento, foi observada redução de 25,55 % do OPG no tratamento controle, de 66,04 % no tratamento caju, de 66,18 % no tratamento jenipapo, de 53,53 % no tratamento lobeira e de 67,73 % no tratamento jamelão. No período residual (21 dias), o tratamento caju apresentou 47,84 % na redução no OPG, seguido da lobeira com 39,48 %, e do jenipapo com 30,20 %. Neste período, houve aumento de 27,98 % no OPG dos animais tratados com jamelão e de 139,72 % nos animais do grupo controle. Durante o período de tratamento, também foi observado ganho em peso entre 4,9 e 16,04 %, em todos os tratamentos e a contagem de eosinófilos apresentou redução de 43 % no controle e 17 % no tratamento caju, sendo que nos demais houve aumento de 5 % no tratamento jenipapo, de 43 % no tratamento lobeira e de 12 % no tratamento jamelão. Conclui-se que no teste *in vitro*, o *A. humile* apresentou a melhor atividade na inibição da eclosão dos ovos, e no teste *in vivo*, o *S. cumini* foi responsável pela melhor atividade após o tratamento e o *A. humile*, o melhor resultado no período residual, contra a verminose ovina.

**Palavras-chaves:** *Anacardium humile*. Anti-helmíntico. *Genipa americana*. Helmintos. Ruminantes. *Solanum lycocarpum*. *Syzygium cumini*.

## ABSTRACT

**USE OF MEDICINAL PLANTS AS AN ALTERNATIVE FOR CONTROLLING *Haemonchus contortus* IN SHEEP: IN VITRO AND IN VIVO TESTS.** Luciana Dinato Rosa de Oliveira. Orientador: Helder Louvandini, PhD, São Paulo, SP.

The objective of this study was to evaluate the *in vitro* and *in vivo* efficacy of four medicinal plants using *Anacardium humile*, *Syzygium cumini*, *Genipa americana* and *Solanum lycocarpum* leaves as an alternative for the control of *Haemonchus contortus*. The *in vitro* test used was hatchability of eggs (EHT) using increasing concentrations (3,12 mg/mL, 6,25 mg/mL, 12,5 mg/mL, 25 mg/mL, 50 mg/mL and 100 mg/mL) of aqueous extract (AE) of plants on *H. contortus* eggs. *A. humile* AE showed the lowest LC<sub>50</sub> (lethal concentration) value of 4,14 mg/mL, followed by *S. cumini* 12,35 mg/mL. In *S. lycocarpum* EHT, the highest concentration tested (100 mg/mL) had at an inhibition rate of 14,20 % of hatchability, and in *G. americana*, there was an inhibition rate of 18,27 %, so the LC<sub>50</sub> of these plants was much higher than the others. For *in vivo* tests, 30 lambs, males and females, Santa Ines (crossbred), naturally-infected were divided into 5 treatments: a negative control (no use of medicinal plant), and four others that received 30 g of the following plants dried and milled: *A. humile*, *G. Americana*, *S. lycocarpum* and *S. cumini*. The experimental period was 28 days: 7 days of confinement adaptation, 14 days for the treatment with plants and 7 days for the residual period. After 7 days of adaptation, at 0, 7, 14 and 21days, body weights, blood samples for eosinophil count and fecal egg counts per gram of feces (EPG) were taken. The following reductions in EPG were observed in 14 day: a 25,55 % reduction in the control, 66,04 % in the *A. humile* treatment, 66,18 % in the *G. americana* treatment, 53,53 % in the *S. lycocarpum* treatment and 67,73 % in the *S. cumini* treatment. In residual period (21 day), in *A. humile* treatment showed reduction of 47,84 % in OPG, following for 39,48 % in *S. lycocarpum* treatment e 30,20 % in *G. Americana* treatment. In this period, there was an increase of 27,98 % in OPG in the animals treated with *S. cumini* and 139,72 % in the control group. During the treatment period, an increased rate of weight gain from 4,9 to 16,04 % was also observed in all treatments, and the eosinophil count was reduced 43 % in the control, 17 % in the *A. humile* treatment, compared with a 5 % increase in the *G. americana* treatment, 43 % in the *S. lycocarpum* treatment and 12 % in the *S. cumini* treatment. This study concluded that the *in vitro* test the *A. humile* showed the best activity in inhibiting the eggs hacht, and in the *in vivo* test *S. cumini* was responsible for the best activity after the treatment and *A. humile* showed the best result in the residual period against the nematode parasites of sheep.

**Keywords:** *Anacardium humile*. Anthelmintic. *Genipa Americana*. Helminthis. *Solanum lycocarpum*. Ruminants. *Syzygium cumini*.

## 2.1. INTRODUÇÃO

O parasitismo gastrointestinal é um problema sério na produção de pequenos ruminantes, devido à alta morbidade e alta mortalidade causada por *Haemonchus contortus* e nematoides relacionados. Este problema tem sido agravado pelos crescentes relatos mundiais de parasitas gastrointestinais multi-resistentes (Jachson & Coop, 2000).

O *H. contortus*, parasita altamente patogênico de pequenos ruminantes, é o responsável pelas maiores perdas econômicas na ovinocultura mundialmente. A infecção por nematoides gastrointestinais continua sendo uma das principais causas de queda na produção de leite, no desempenho e no ganho em peso, nos rendimentos de carcaça, nos custos com medicamentos e da alta mortalidade de animais jovens e debilitados (Chagas et al., 2009).

O controle das helmintíases é realizado através da utilização de anti-helmínticos sintéticos, no entanto já existem algumas desvantagens: o desenvolvimento de populações resistentes, o que resulta em baixa eficácia do tratamento; alto custo dos vermífugos; risco de poluição ambiental e de resíduos nos alimentos (Melo et al., 2003).

Em função do uso indiscriminado das drogas anti-helmínticas nas criações de ovinos em todo o país, preocupações devem ser abordadas: resíduos nos produtos de origem animal, como na carne, no leite e nos seus derivados, além do impacto ambiental da presença dos anti-helmínticos nas fezes dos animais no ecossistema pastoril (Universidade Federal do Paraná (UFPR), 2010).

Segundo Edwards et al. (2001), o principal impacto das avermectinas sobre o ambiente, excretadas através das fezes, é que essas podem afetar a população de espécies de invertebrados, insetos na sua maioria. Sabe-se que quando as fezes contendo ivermectina, são misturadas ao solo, essa droga tende a ser fortemente ligada à matéria orgânica das fezes e pode persistir no solo e no meio orgânico por vários meses, ou possivelmente por anos, particularmente em condições anaeróbicas.

A obrigação da constância na oferta dos produtos e a tentativa de aumentar o ganho econômico da atividade, através da maior venda de cordeiros, leva, muitas vezes, o produtor ao uso inadequado dos anti-helmínticos, embora se espere que os criadores e técnicos não extrapolem os limites máximos de resíduos permitidos (UFPR, 2010).

Diante desses fatos, tem-se despertado grande interesse de tornar os sistemas de produção mais sustentáveis, buscando alternativas de baixo custo, gerando produtos livres de resíduos químicos, assim, menos prejudiciais à saúde humana e ao ambiente. (Leal, 2012).

Dentre essas alternativas, a fitoterapia pode contribuir para aumentar os lucros da criação, uma vez que pode reduzir o uso de anti-helmínticos convencionais, além de estender a vida útil dos produtos químicos disponíveis (Vieira et al., 1999).

A maior parte das plantas, na sua quase totalidade, pode ter algum efeito medicinal desconhecido por nós. As plantas medicinais são capazes de produzir princípios ativos que podem alterar o funcionamento de órgãos e sistemas, restaurando o equilíbrio orgânico ou homeostasia nos casos de enfermidades (Ferro, 2008).

Em vários países, há inúmeros relatos de indicações terapêuticas, embasadas na medicina popular e tradicional, necessitando de estudos científicos para comprovação da eficácia e segurança dessas plantas (Ferro, 2008).

Como modo alternativo para o controle de parasitos, diversas plantas medicinais vêm sendo estudadas, *in vitro* e *in vivo*, contra nematoides gastrintestinais de ruminantes (Carvalho, 2012; Peneluc et al., 2009; Hussain et al., 2011; Kamaraj & Rahuman, 2011).

Para o presente trabalho foram escolhidas plantas do Cerrado, usadas tradicionalmente com ação anti-helmíntica ou antidiarreica. Visto que a presença de parasitas na mucosa do animal desencadeia reação inflamatória, causando contração da musculatura lisa, vasodilatação, aumento da secreção de muco, lesões vasculares e epiteliais, má absorção de nutrientes e diarreia (Meeusen, 1999). Objetivou-se com este experimento avaliar *in vitro* e *in vivo* a eficácia dos extratos das folhas das plantas cajuzinho-do-cerrado (*Anacardium humile*), jamelão (*Syzygium cumini*), jenipapo (*Genipa americana*) e lobeira (*Solanum lycocarpum*) como alternativa para o controle de *Haemonchus contortus* em ovinos.

## 2.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1 Obtenção das folhas

As folhas de *A. humile*, *G. americana*, *S. lycocarpum* e *S. cumini*, foram colhidas manualmente e com o uso de ferramentas cortantes, na Fazenda Lagoa Bonita, localizada em Planaltina-DF, entre os dias 23 de agosto a 23 de setembro de 2011. Procurou-se colher as folhas novas, das pontas, sem presença de insetos, doenças e com coloração uniforme.

Durante o período de colheita, verificou-se que a precipitação pluviométrica foi de 0 (zero) mm, a temperatura máxima foi de 30,7 °C, a mínima de 16,7 °C e a umidade relativa foi de 28,93 % (Inmet, 2012).

O local de coleta está situado na latitude de 15°34'S e na longitude de 47°43'O e à 978 m de altitude (Google Earth, 2012).

### 2.2.2 Processamento do material vegetal

As folhas selecionadas, foram colocadas em estufa de secagem com circulação e renovação de ar a 36 °C durante 48 horas. Depois de secas, as folhas foram moídas (Figura 2.1) em moinho de facas tipo Willey (Modelo TE-650 da Tecnal), utilizando-se peneira com a malha de 0,59 mm.

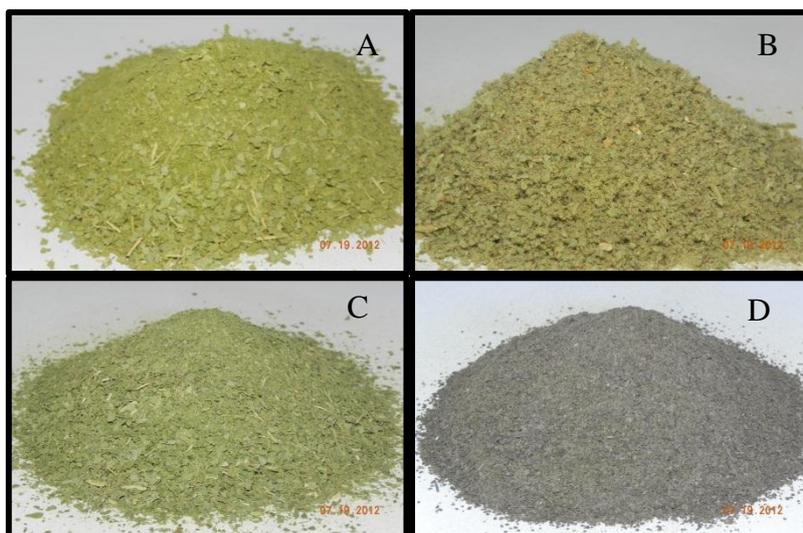


Figura 2.1- Farinha das folhas: A – Cajuzinho-do-cerrado; B – Lobeira; C – Jamelão; D – Jenipapo.

Fonte: Arquivo próprio.

O material moído foi armazenado em sacos plásticos com 30 g cada um, selados com seladora elétrica, devidamente identificada com o nome da planta e armazenada à temperatura ambiente em local escuro.

### 2.2.3 Estudo bromatológico do material vegetal e da dieta oferecida aos animais

Os resultados das análises bromatológicas encontram-se na Tabela 2.1. A matéria seca (MS), matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) elignina (LIG), foram realizadas conforme procedimentos descritos pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (1990). A fibra em detergente neutro (FDN) e a fibra em detergente ácido (FDA), foram determinadas seguindo as recomendações de Van Soest et al. (1991).

Tabela 2.1 - Análise bromatológica das folhas das plantas e do concentrado expressos em g/kg de matéria seca.

	<i>A. humile</i>	<i>G. americana</i>	<i>S. cumini</i>	<i>S. lycocarpum</i>	Concentrado
MS 100 °C	941,23	940,65	936,41	944,94	913,23
MM *	33,87	50,65	45,80	55,36	57,36
MO *	966,13	949,35	954,20	944,64	942,64
PB *	92,59	150,56	90,97	215,37	216,15
FDN *	682,94	525,01	642,02	691,75	423,46
FDA *	594,97	412,72	553,11	560,64	106,68
Lignina *	296,17	334,96	323,73	362,84	41,58

#### 2.2.4 Determinação de fenóis totais, taninos totais e taninos condensados

Para a determinação de fenóis totais e taninos totais foi usada a metodologia de acordo com Makkar et al. (1993). Para a determinação dos taninos condensados foi usada a metodologia de Porter et al. (1986). Os resultados da análise dos taninos são apresentados na Tabela 2.2.

Tabela 2.2 - Análise de fenóis totais, taninos totais e taninos condensados das folhas das plantas e do concentrado.

Amostra	Fenóis totais (%)	Taninos totais (%)	Tan. Condensados (%)
<i>A. humile</i>	18,51	14,18	9,33
<i>G. americana</i>	0,66	0,51	0,36
<i>S. cumini</i>	15,61	11,16	2,63
<i>S. lycocarpum</i>	3,04	2,43	0,03
Concentrado	0,47	0,31	0,08

#### 2.2.5 Ensaio de atividade *in vitro* do extrato aquoso do material vegetal

O extrato aquoso (EA), na concentração de 100 mg/mL, foi obtido sob pressão.

Em frascos Schott, foram colocadas 200 g da folha moída e acrescentados 2.000 mL de água deionizada. Os frascos tampados foram colocados em autoclave a 110 °C, por uma hora. Logo após, foram filtrados a quente, com auxílio de papel filtro (Figura 2.2).

Segundo Torquato et al. (2010), há um aumento no teor de taninos condensados de folhas, quando a extração aquosa é feita sob pressão.

O processo de extração de taninos condensados da casca de cajueiro foi avaliado por Sousa & Brito (2012), e esses afirmaram que a elevação da temperatura e o período de tempo na faixa de 80 a 140 minutos favorecem essa extração.



Figura 2.2 - Extratos aquosos obtidos. Da esquerda para a direita: EA de jamelão, EA de lobeira, EA de cajuzinho-do-cerrado e EA de jenipapo.

Fonte: Arquivo próprio.

## 2.2.6 Teste da eclodibilidade de ovos - TEO

O teste da eclodibilidade de ovos é o teste mais simples para o uso em primeira instância, embora vários outros tipos de ensaios possam ser utilizados como uma triagem primária (Jackson & Gordon, 2008 apud Katiki, 2011).

As fezes foram coletadas diretamente do reto do animal, com OPG de aproximadamente 23.000 ovos/grama de fezes. Procedeu-se a recuperação dos ovos segundo a metodologia descrita por Bizimenyera et al. (2006), que é uma adaptação de Coles et al. (1992). As fezes foram homogeneizadas em água morna ( $\pm 40$  °C) e filtradas em um conjunto de peneiras, com as seguintes reticulações: 1 mm, 106  $\mu$ m, 53  $\mu$ m e 25  $\mu$ m.

Na peneira de 25  $\mu$ m os ovos foram retidos, lavados com água destilada e centrifugados por 5 min a 3.000 rpm, em tubos de 50 mL completados com água. O

sobrenadante foi descartado e solução salina saturada foi adicionada para a ressuspensão do sedimento.

Após nova centrifugação nas mesmas condições, o sobrenadante foi lavado na peneira de 25  $\mu\text{m}$  e os ovos coletados foram colocados em cálice para sedimentação. Os ovos foram sifonados e se realizou a contagem dos mesmos em 5 alíquotas de 50  $\mu\text{L}$ . Foram preparados aproximadamente 110 ovos/vol. para serem utilizados em até 1 h.

Aproximadamente 110 ovos/vol. foram colocados em cada poço (placa com 24 poços): 6 concentrações (100 mg/mL, 50 mg/mL, 25 mg/mL, 12,5 mg/mL, 6,25 mg/mL e 3,125 mg/mL) de cada substância teste, controle negativo (água destilada) e controle positivo (0,78 mg/mL de Tiabendazol) em 6 repetições.

As placas (Figura 2.3) foram homogeneizadas manualmente e acondicionadas em B.O.D. (27 °C) por 24 horas. Após este período, os ovos e as larvas L1 eclodidas foram quantificadas para o cálculo da porcentagem de inibição da eclodibilidade larvar.

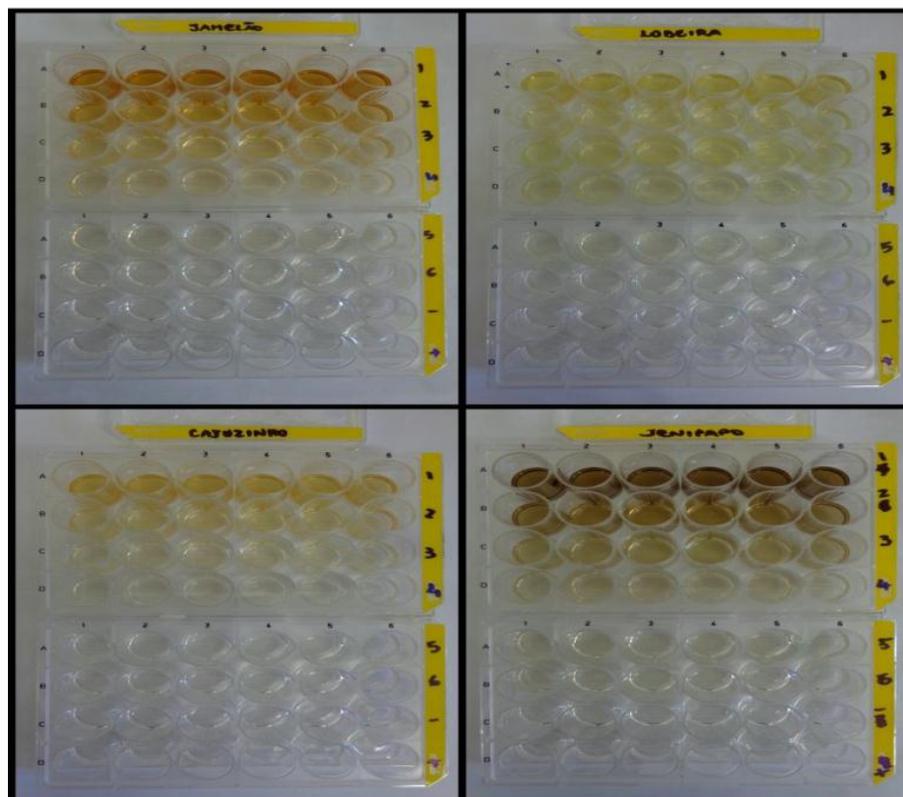


Figura 2.3 - Placas utilizadas no TEO com 24 poços. Ao lado de cada placa a numeração equivale à concentração: 1=100 mg/mL; 2=50 mg/mL; 3=25 mg/mL; 4=12,5 mg/mL; 5=6,25 mg/mL; 6=3,125 mg/mL; (-)=controle negativo; (+)= controle positivo.

Fonte: Arquivo próprio

### 2.2.7 Avaliação do Projeto pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Upis (CEUA-- Upis)

O projeto foi avaliado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Upis (CEUA – Upis) para análise de metodologia empregada nos experimentos onde animais foram submetidos a tratamentos diversos. O protocolo de número 070/11 concedido pela comissão foi favorável à realização do projeto.

### 2.2.8 Animais utilizados no experimento

Foram utilizados 30 borregos mestiços da raça Santa Inês de ambos os sexos, entre 5 a 10 meses de idade, com peso médio de  $23,12 \pm 5,01$  kg, oriundos da Fazenda Lagoa Bonita. Animais estes que foram alojados dentro das instalações das Faculdades Integradas Upis, em Planaltina - DF. Os animais foram separados em 5 baias de 30 m<sup>2</sup>, contendo 6 animais, recebendo condições adequadas de luz, temperatura e água *ad libitum*. As baias possuíam bebedouro de madeira com volume nivelado por boia, cocho de sal com capacidade para 15 kg e cocho de alimentação com capacidade para 50 kg (Figura 2.4).



Figura 2.4 - Baias onde foram confinados os animais para o experimento.  
Fonte: Arquivo próprio.

O período de duração do experimento foi de 28 dias: 7 de adaptação, 14 de fornecimento da planta e 7 de período residual.

### **2.2.9 Confinamento e adaptação dos animais**

Durante os sete dias iniciais foi feita adaptação dos animais ao confinamento, pois esses estavam sendo criados extensivamente. A dieta dos ovinos foi composta de silagem de milho *ad libitum* e 300 g do concentrado Confiagro Ração Ovinos 18 % Mult<sup>®</sup> por animal uma vez por dia, no período da tarde.

### **2.2.10 Tratamento dos ovinos com o material vegetal**

A mesma dieta do período de adaptação foi utilizada durante o período experimental, com exceção dos tratamentos que receberam as 30 g das plantas em substituição às 30 g do concentrado fornecido. Em média, a dose de 1,3 g do pó de cada planta para cada Kg do animal foi administrada diariamente.

Os tratamentos foram diferenciados de acordo com a planta fornecida na dieta e foram: controle (apenas o concentrado), tratamento caju (concentrado + folha de cajuzinho-do-cerrado), tratamento jenipapo (concentrado + folha de jenipapo), tratamento lobeira (concentrado + folha de lobeira) e tratamento jamelão (concentrado + folha de jamelão).

### **2.2.11 Pesagem dos animais**

Foram feitas três pesagens dos animais durante o experimento, uma no dia 0 (início do tratamento com as plantas), uma no dia 7 (meio do tratamento) e outra no dia 14 (último dia de tratamento). Todos os animais foram pesados, individualmente, em balança digital da marca Filizola, utilizando para isso, caixa de pesagem de madeira para contenção dos animais.

### **2.2.12 Coleta de sangue e de fezes dos animais**

Os animais foram contidos manualmente e a coleta de sangue e fezes foi realizada simultaneamente, utilizando para isso seringas descartáveis e luvas cirúrgicas para retirada direta das fezes do reto do animal.

Após coleta, o sangue foi transferido para tubos com EDTA-k<sup>3</sup> (anticoagulante) da marca Vacuette e as fezes foram acondicionadas em frascos de plástico estéreis e logo submetidos a análise. Amostras foram obtidas de todos os animais nos dias 0, 7, 14 e 21.

### **2.2.13 Contagem de eosinófilos e do OPG (contagem de ovos por gramas de fezes).**

A contagem diferencial de leucócitos foi realizada no Hospital Veterinário da Upis, Campus Planaltina.

O OPG foi determinado pelo método de McMaster modificada por Gordon e Whitlock (Ueno e Gonçalves, 1998).

Para a determinação da porcentagem da redução do OPG (ROPG), utilizou-se a fórmula descrita por Jabbar et al. (2007):

$$\text{ROPG (\%)} = \frac{(\text{OPG inicial} - \text{OPG final})}{\text{OPG inicial}} \times 100$$

### **2.2.14 Análise estatística**

No teste in vitro foi determinada a concentração letal de 50 % dos ovos (CL50) das diferentes plantas avaliadas com as variáveis independentes (dose) transformadas por logaritmo natural (log dose) utilizando-se regressão com distribuição normal e logística, sendo que a estimativa dos parâmetros dessas equações foram obtidas com o máximo de verossimilhança por meio do SAS ® pelo Probit.

No teste in vivo, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e seis repetições (animais). Os resultados também foram analisados

por meio do SAS ®. As variáveis OPG transformada em  $\text{Log}(x+10)$  e o peso dos animais foram avaliadas por meio de regressão de cada animal e feita a comparação entre os coeficientes angulares das equações. Para a contagem de eosinófilos foi feita avaliação de medidas repetidas no tempo pelo Proc Mixed. Foi adotando o nível de significância de 5%.

## 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.3.1 Resultados do Teste da Eclodibilidade de Ovos

O EA de *A. humile* e de *S. cumini* mostraram atividades anti-helmínticas pronunciadas *in vitro*, no teste de eclosão dos ovos. O controle positivo (tiabendazol) inibiu a eclosão dos ovos em 97,78 % e o negativo (água) em 12,08 %.

O EA de *A. humile* inibiu a eclosão dos ovos numa  $CL_{50}$  de 4,14 mg/mL, a qual foi a menor concentração inibitória observada, entre todos os extratos testados (Figura 2.5), seguido pelo EA de *S. cumini* que apresentou  $CL_{50}$  de 12,35 mg/mL (Figura 2.6).

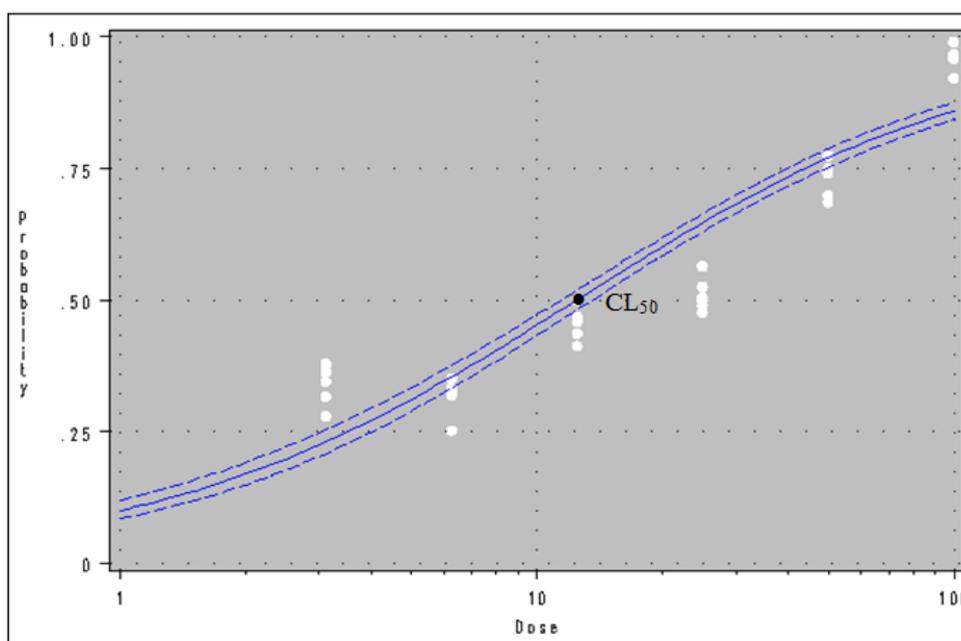


Figura 2.5 - Gráfico dose x resposta do *A. humile*.

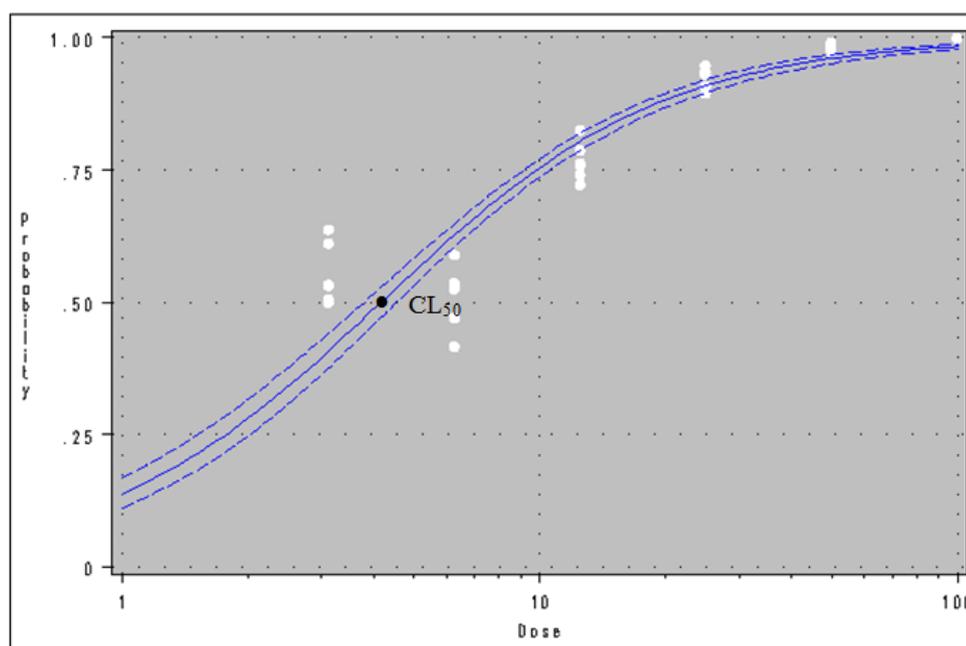


Figura 2.6 - Gráfico dose x resposta do *S. cumini*.

Para o ensaio de desenvolvimento larvar, utilizando também extrato aquoso de *A. humile*, Nery et al. (2010) encontraram uma  $CL_{50}$  de 10,14 mg/mL, onde o EA na concentração de 100 mg/mL teve eficácia de 90,9 %, mostrando que o *A. humile* também foi eficiente na inibição do desenvolvimento de larvas de *H. contortus*.

A análise fitoquímica das folhas de *A. humile* confirmou a presença de taninos, indicando a predominância dos taninos condensados e em concentração superior a das outras plantas analisadas. Segundo Nery et al. (2010), a análise fitoquímica do extrato aquoso de *A. humile* mostrou, além dos taninos, a presença de flavonoides e alcaloides. Os resultados obtidos no TEO sugerem que a presença dos taninos condensados pode ter influenciado na eclodibilidade dos ovos, apesar de outros estudos também demostrem que mesmo os taninos hidrolisáveis (Katiki et al., 2011) ou outros compostos fitoquímicos, tais como fenóis, alcaloides, esteroides e terpenos (Waterman et al., 2010), podem contribuir para a atividade anti-helmíntica.

Em contraste, a  $CL_{50}$  para as demais plantas na concentração máxima testada (100 mg/mL) foi alta, pois a inibição de eclodibilidade, nessa concentração, foi de 14,20 % para o *S. lycocarpum* e de 18,27 % para a *G. americana* (Tabela 2.3). Concentrações maiores que 100 mg/mL não foram testadas pois a matéria sólida superava a líquida, impedindo, assim, a produção do extrato aquoso.

Tabela 2.3 - Porcentagem de inibição da eclodibilidade dos ovos e CL<sub>50</sub> (mg/mL) nas diferentes plantas avaliadas.

Concentrações (mg/mL)	<i>A. humile</i> (%)	<i>G. americana</i> (%)	<i>S. cumini</i> (%)	<i>S. lycocarpum</i> (%)
3,125	55,34	-	34,37	-
6,25	51,18	-	31,98	-
12,5	76,65	-	45,67	-
25	92,11	-	51,05	15,35
50	98,23	13,51	73,25	14,81
100	100	18,27	96,17	14,20
CL <sub>50</sub>	4,14	2.821	12,35	4,66 x 10 <sup>15</sup>

O extrato hidroalcoólico de *G. americana* na concentração de 50,1 mg/mL, também foi testado por TEO (Krychak-Furtado, 2006). A análise fitoquímica da folha, casca, fruto e raiz de *Genipa americana* mostrou a presença de iridóides, taninos, ácido geniposídico, geniposídeo, gardenosídeo, genipina-gentiobiosídeo, genipacetal, genipaol (Erbano, 2010). Após o teste descrito acima, notou-se uma inibição do desenvolvimento de ovos de trichostrongilídeos de 100 %. Com este resultado, podemos inferir que há diferenças entre a extração aquosa e a extração hidroalcoólica de *G. americana* na inibição da eclosão de ovos.

Além disso, os resultados mostram que a atividade dos EAs das plantas estudadas foi diretamente proporcional à dose, ou seja, quanto maior a concentração do EA, maior foi a inibição da eclosão dos ovos, exceto na concentração de 6,25 mg/mL do *A. humile*, onde a concentração inferior foi mais efetiva.

No Kênia, Gathuma et al. (2004) observaram a eficácia de 77 % do EA (24 mg/mL) de folhas e frutos de tamujo (*Myrsine africana*), em testes *in vitro*, sobre vários nematóides de ovinos. Já Alawa et al. (2003), relataram que o EA de araticum-da-areia (*Annona senegalensis*) na concentração 7,1 mg/mL, reduziu a eclodibilidade dos ovos em 88,5 %. O EA de erva lombrigueira (*Spigelia anthelmia*) também foi testado sobre a eclosão de ovos de *H. contortus*, na concentração de 0,17 mg/mL, obtendo inibição de 50 % dos ovos (Batista et al., 1999). Esses relatos demonstram que diferentes plantas podem apresentar atividade anti-helmíntica e que essa atividade pode ser dependente do tipo da planta e concentração dos extratos utilizados.

### 2.3.2 Análise da eficácia na redução do OPG dos animais durante os 14 dias de tratamento

Nesse caso, as OPGs foram determinadas não apenas para *H. contortus*, mas para todos os tipos de helmintos infectantes. Lembrando, entretanto, que a maior parte da infestação encontrada em animais da região estudada é de *H. contortus* (Leal, 2012).

As folhas das plantas adicionadas ao concentrado dos animais na proporção de 10 %, em média 1,3 g/kg de peso vivo, apresentou redução do OPG em todos os tratamentos: de 66,04 % no tratamento *A. humile* (ração + folha de cajuzinho-do-cerrado), de 66,18 % no tratamento *G. americana* (ração + folha de jenipapo), de 67,73 % no tratamento *S. cumini* (ração + folha de jamelão) e de 53,53 % no tratamento *S. lycocarpum* (ração + folha de lobeira) (Tabela 2.4). Após os 14 dias de tratamento, houve diferença estatística entre o controle e os tratamentos com *A. humile*, *G. americana* e *S. cumini*.

No período residual, o tratamento com *S. cumini* foi igual estatisticamente ao controle negativo, mostrando que as folhas desta planta não tiveram efeito no OPG após o término do tratamento, ao contrário das outras plantas. (Tabela 2.4).

Tabela 2.4 – Eficácia dos tratamentos durante os 14 dias de experimento e no período residual (dia 21); Redução de ovos/dia, durante os 21 dias de experimento, em cada tratamento.

Tratamentos	Eficácia do tratamento (%)		Ovos/dia
	Dia 14	Dia 21	Coefficiente angular da regressão
<i>A. humile</i>	66,04 <sup>b</sup>	47,84 <sup>b</sup>	-19,34 <sup>b</sup>
<i>G. americana</i>	66,18 <sup>b</sup>	30,20 <sup>b</sup>	-12,02 <sup>b</sup>
<i>S. cumini</i>	67,73 <sup>b</sup>	-27,98 <sup>ab</sup>	-4,28 <sup>ab</sup>
<i>S. lycocarpum</i>	53,53 <sup>ab</sup>	39,48 <sup>b</sup>	-13,75 <sup>b</sup>
Controle negativo	25,55 <sup>a</sup>	-139,72 <sup>a</sup>	12,36 <sup>a</sup>
Erro padrão da média	14,49	44,50	6,38

Nota: <sup>a,b</sup> letras diferentes na coluna apresentam diferença significativa P<0,05.

No controle negativo também houve redução do OPG em 25,55 %, o que pode

ser explicado que após o confinamento a infecção tendeu a diminuir, possivelmente, devido ao bom aporte nutricional dos animais e ao fato dos mesmos não entrarem em contato com o pasto e com fezes contaminadas. O que corrobora com Almeida et al. (2012), que comprovou este fato após confinar animais por 75 dias e comprovar esta redução no OPG, após confinamento.

Apesar de o *A. humile* ter apresentado os melhores resultados no TEO, no teste *in vivo*, foi pouco efetivo. Diferenças entre os percentuais de redução de parasitas entre testes *in vitro* e *in vivo* têm sido registradas. Esta variação entre resultados de testes anti-helmínticos pode ser justificada pela variação ambiental e pela duração no tratamento (Martin et al., 2001). Esta ausência de efeitos no teste *in vivo* pode ser explicada através da baixa concentração utilizada comparativamente à dose efetiva nos testes *in vitro*, além dos extratos utilizados no teste *in vitro* estarem em contato direto com os parasitos, o que não ocorre nos testes *in vivo* (Peneluc et al., 2009). Além disso, como relatado anteriormente, nos testes *in vitro*, utilizou-se somente ovos de *H. contortus*, enquanto que na OPG calculada, foram considerados todos os tipos de ovos de helmintos infestantes.

A inibição da OPG causada pelo uso do *S. cumini* na dieta dos animais testados está de acordo com o resultado apresentado por Michelin et al. (2005), os quais relatam a ocorrência de 80,02 % de eliminação parasitária em ratos, o que corrobora com os resultados apresentados *in vitro* nesse estudo.

As folhas de *S. lycocarpum* causaram resultados similares *in vitro* e *in vivo*, não apresentando efetividade em nenhum dos dois testes quando se comparado às outras plantas testadas. Os resultados mostram que o tratamento com as folhas de *S. lycocarpum* não apresentou diferença estatística com o controle negativo.

No Paquistão, Hussain et al. (2011) observaram que no 15º dia após tratamento com pó das folhas de *Trianthema portulacastrum* L., houve redução de 46,6 % do OPG e com folhas de *Musa paradisiaca* L. redução de 40,54 %, na dose de 1 g/kg de peso vivo. A dose utilizada no estudo Paquistânês pode ser comparada à dose utilizada no presente estudo (média de 1,3 g/kg de peso vivo), evidenciando a diferença entre as dosagens necessárias de cada planta para se verificar atividade anti-helmíntica.

Pela análise de regressão dos dados no tratamento controle houve uma taxa de aumento de 12,36 ovos/dia, durante os 21 dias do experimento. Os outros tratamentos apresentaram redução com taxa de: -19,34 ovos/dia no tratamento *A. humile*, -4,28 ovos/dia no tratamento *S. cumini*, -12,02 ovos/dia no tratamento *G. americana* e -13,75 ovos/dia no tratamento *S. lycocarpum* ( $p < 0,05$ ). Houve diferença estatística entre o controle e os

tratamentos com *A. humile*, *G. americana* e *S. lycocarpum* ( $p < 0,05$ ). O tratamento *S. cumini* não apresentou diferença estatística com o controle e as outras plantas ( $p < 0,05$ ).

O gráfico das retas de regressão mostra o comportamento do OPG nos períodos de tempo do experimento e tempo residual (Figura 2.7). Onde podemos afirmar que a tendência de aumento do OPG, durante os 21 dias, acontece somente no grupo controle negativo. Esses resultados mostram que os tratamentos foram eficientes, e que mesmo 7 dias após administração foi possível observar um relativo controle na OPG.

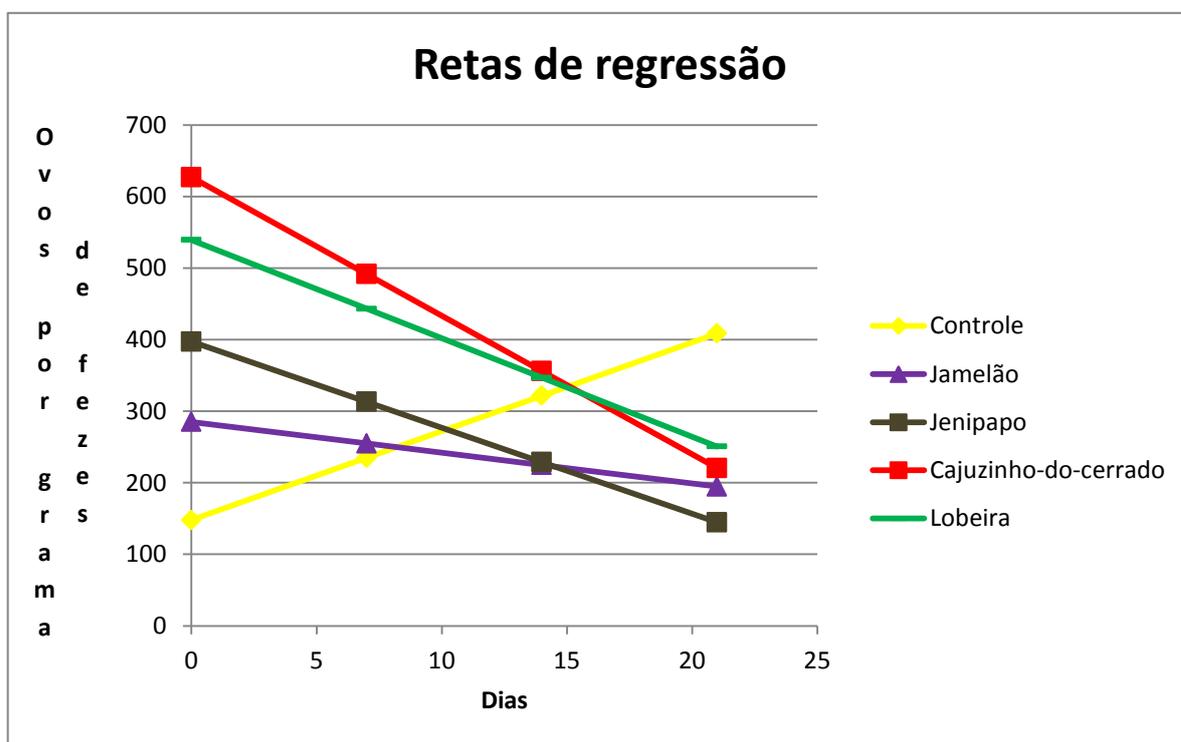


Figura 2.7 – Retas de regressão da relação entre os dias de pós tratamento com as plantas e ovos eliminados nas fezes.

A eficácia destas plantas como anti-helmínticos pode ser explicada por algumas hipóteses: na hipótese direta, onde os taninos condensados interagem com as proteínas na cutícula, na cavidade oral, no esôfago, na cloaca e na vulva dos nematoides, modificando as propriedades químicas e físicas. Ou a hipótese indireta, que envolve a capacidade dos taninos condensados se ligarem a proteínas na dieta, protegendo-as da degradação ruminal, aumentando assim o fluxo de proteínas e a absorção de aminoácidos no intestino delgado, o que favorece a resposta imunitária contra os vermes (Hoste et al., 2006).

Além disso, Thompson & Geary (1995) sugerem que o modo de ação dos

taninos interfere com geração de energia em parasitas helmintos pelo desacoplamento da fosforilação oxidativa e podem também se ligar a glicoproteínas na cutícula do parasita, podendo assim causar a morte.

Segundo a classificação do índice de eficácia proposta pela *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology* (WAAVP) para parasitas adultos, um produto sintético é considerado efetivo quando promover acima de 90 % de ação anti-helmíntica, moderadamente efetivo quando atuar entre 80 a 90 %, pouco efetivo quando a ação for entre 60 e 80 % e não efetivo em níveis abaixo de 60 % (Powers et al., 1982).

Os dados apresentados, quando comparados à classificação da WAAVP, indicam que os tratamentos com *G. americana*, *A. humile* e *S. cumini* foram pouco efetivos, enquanto *S. lycocarpum* não foi efetivo no presente estudo *in vivo*. Entretanto, futuros trabalhos de campo poderão contribuir para a verificação do benefício do uso dessa terapia como um coadjuvante aos tratamentos convencionais.

### **2.3.3 Análise do peso dos animais durante os 14 dias de tratamento**

Em qualquer tratamento realizado é necessária a avaliação de possíveis efeitos negativos no desempenho dos animais, os quais podem ser provocados por fatores antinutricionais do fitoterápico (Ketzis et al., 2006). Neste experimento, todos os animais que participaram do experimento apresentaram sinais clínicos (alimentação, atividade motora, ruminação e excreção) normais.

A análise estatística do ganho em peso (Tabela 2.5) mostrou que em todos os tratamentos houve aumento do peso após os 14 dias de tratamento: 72,11 g/dia no tratamento controle, 87,98 g/dia no tratamento *A. humile*, 150,11 g/dia no tratamento *S. cumini*, 260,83 g/dia no tratamento *G. americana* e 190,16 g/dia no tratamento *S. lycocarpum*. Entretanto, houve diferença estatística somente entre o controle e o tratamento *G. americana* ( $p < 0,05$ ).

Tabela 2.5 Pesos médios dos ovinos (kg) nos dias 0, 7 e 14 dias experimentais e ganho em peso médio diário (g/dia).

Tratamentos	Dia 0 (kg)	Dia 7 (kg)	Dia 14 (kg)	Ganho em peso diário (g/dia)
<i>A. humile</i>	22, 48	22, 78	23, 71	87,98 <sup>a</sup>
<i>G. americana</i>	22, 81	25, 25	26, 47	260,83 <sup>b</sup>
<i>S. cumini</i>	24, 57	25, 68	26, 65	150,11 <sup>a</sup>
<i>S. lycocarpum</i>	25, 16	26, 62	27, 83	190,16 <sup>a</sup>
Controle negativo	20, 57	20, 73	21, 58	72,11 <sup>a</sup>
Erro padrão da média	2,07	2,03	2,01	54,94

Nota: <sup>a,b</sup> letras diferentes na coluna apresentam diferença significativa  $P < 0,05$ .

Segundo Carvalho (2012), os tratamentos com pequi (*Caryocar brasiliense*) e cagaita (*Eugenia dysenterica*), tanto quando administrados separadamente ou em conjunto, como anti-helmínticos para ovinos, na dosagem média de 1,2 g/kg de peso vivo, também não apresentaram diferença significativa com o controle no peso dos animais, corroborando com os resultados aqui encontrados. Esse ganho de peso pode ser explicado pelo fato de os animais estarem em confinamento, alimentando-se de silagem e concentrado condições nutricionais melhores que em situação de pastejo.

#### 2.3.4 Resultado da contagem de eosinófilos durante os 21 dias de tratamento

Objetivou-se com a realização desse teste, o acompanhamento do número de eosinófilos nos animais durante os tratamentos e no pós-tratamento. Isso porque, um aumento do nível dessas células pode ser um indicativo de resposta à infecção que os helmintos podem causar. Desta forma, observou-se que após 14 dias, os animais dos grupos controle negativo reduziram em 42,86 % o número de eosinófilos e os do tratamento com cajuzinho-do-cerrado 17,5 %; enquanto que nos outros tratamentos houve aumento deste número (Tabela 2.6).

Tabela. 2.6 - Média e variação da contagem de eosinófilos em relação ao total de leucócitos, durante os 14 dias de experimento e no período residual (dia 21).

Tratamentos	Contagem de eosinófilos				Varição de eosinófilos após 14 dias	Varição de eosinófilos após 21 dias
	Dia 0 (%)	Dia 7 (%)	Dia 14 (%)	Dia 21 (%)	(%)	(%)
<i>A. humile</i>	4,00	2,7	3,3	4,3	17,5 <sup>a</sup>	-7,5
<i>S. cumini</i>	4,17	3,3	4,7	6,2	-12,71 <sup>a</sup>	-48,68
<i>G. americana</i>	3,67	4,2	3,8	6,5	-3,54 <sup>a</sup>	-77,11
<i>S. lycocarpum</i>	1,17	3,5	1,7	3,2	-45,30 <sup>a</sup>	-173,50
Controle negativo	3,50	6,5	2,0	4,2	42,86 <sup>a</sup>	-20,00

Nota: <sup>a,b</sup> letras diferentes na coluna apresentam diferença significativa  $P < 0,05$ .

Os resultados encontrados contradizem com os encontrados por Carvalho (2012), que observaram diminuição dos eosinófilos nos tratamentos com pequi (*Caryocar brasiliense*) e cagaita (*Eugenia dysenterica*), tanto quando administrados separadamente ou em conjunto, na dosagem média de 1,2 g/kg de peso vivo para ovinos.

A análise estatística da contagem de eosinófilos não apresentou diferença estatística entre os tratamentos.

## 2.4 CONCLUSÕES

Este trabalho gerou dados importantes para o estudo de plantas medicinais do Cerrado visando o controle de *H. contortus*, tanto em testes *in vitro* como *in vivo*. Os tópicos abaixo descrevem os dados conclusivos deste trabalho:

- No teste *in vitro* de inibição da eclodibilidade dos ovos, o EA de *A. humile* mostrou a maior atividade inibitória da eclosão dos ovos de *H. contortus*, seguido pelo EA de *S. cumini*, já a *G. americana* e de *S. lycocarpum* a dose seria muito alta.
- No teste *in vivo*, o tratamento com folhas de *S. cumini*, *G. americana* e *A. humile* foram capazes de reduzir o OPG dos ovinos de maneira significativa em relação ao controle.
- Após sete dias do término dos tratamentos, os tratamentos com *A. humile*, *S. lycocarpum* e *G. americana* mostraram efeito significativo na redução do OPG quando se comparado ao controle.
- Apenas o tratamento com *G. americana* demonstrou melhorar o desempenho de ganho em peso dos ovinos.

## **CAPÍTULO 3**

### **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Este trabalho pode servir como referência para outros trabalhos que visem obter alternativas anti-helmínticas sustentáveis, bem como para validação do efeito das plantas aqui estudadas através de novas metodologias, tais como o uso de extrato aquoso *in vivo*, além do estudo dos compostos fitoquímicos presentes neste extrato e testes a campo simulando o manejo extensivo, visto que as plantas mostram ser alternativas para controle de helmintos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIFISA. Perguntas mais frequentes, 2005. Disponível em: <<http://abifisa.org.br/faq.asp#T4>>. Acesso em: 18 nov. 2012.
- ADEMOLA, I.O.; FAGBEMI, B.O.; IDOWU, S.O. Anthelmintic activity of extracts of *Spondias mombin* against gastrointestinal nematodes of sheep: studies *in vitro* and *in vivo*. **Tropical Animal Health and Production**, v. 37, n. 3, p. 223-35, 2005.
- ADEMOLA, I.O.; FAGBEMI, B.O.; IDOWU, S.O. Anthelmintic activity of *Spigelia anthelmia* extract against gastrointestinal nematodes of sheep. **Parasitology Research**, v. 101, p. 63-9, 2007.
- ALAWA, C.B.I. et al. *In vitro* screening of two Nigerian medicinal plants (*Vernonia amygdalina* and *Annona senegalensis*) for anthelmintic activity. **Veterinary Parasitology**, v. 113, p. 73-81, 2003.
- ALMEIDA, F. A.; SOBRINHO, A. G. S.; ENDO, V. Infecção por nematóides gastrintestinais em cordeiros Ile de France confinados. In: XVII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2012, São Luis, MA. **Anais...** Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, São Luis, 2012.
- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; Ribeiro, J. F. **Cerrado**: espécies vegetais úteis. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados, Ministério da Agricultura, Planaltina, 1998. 464p.
- AMARANTE, A. F. T.; BARBOSA, M. A.; OLIVEIRA, M. R.; SIQUEIRA, E. R. Eliminação de ovos de nematódeos gastrintestinais por ovelhas de quatro raças durante diferentes fases reprodutivas. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 27, p. 47-51, 1992.
- \_\_\_\_\_, A.F.T. **Controle de endoparasitoses dos ovinos**. 2001. Disponível em: <<http://www.fmvz.unesp.br/ovinos/repman4.htm>>. Acesso em 03 de fev de 2013.
- \_\_\_\_\_, A.F.T. Fatores que afetam a resistência dos ovinos à verminose. In: VERÍSSIMO, C.J. **Alternativas de controle da verminose em pequenos ruminantes**. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 2008. p. 15-21.
- \_\_\_\_\_, A.F.T. **Profilaxia da verminose em ruminantes**: aula ministrada. [15 de

agosto, 2011]. Piracicaba, São Paulo.

- \_\_\_\_\_, A.F.T.; BRICARELLO, P.A.; ROCHA, R.A.; GENNARI, S.M. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France lambs to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v. 120, p. 91-106, 2004.
- ANDRADE FILHO, N. N.; ROEL, A. R.; PORTO, K. R. A.; SOUZA, R. O.; COELHO, R. M.; PORTELA, A. Toxicidade do extrato aquoso das folhas de *Anacardium humile* para *Bemisia tuberculata*. **Ciência Rural**, v. 40, n. 8, p. 1689-1694, 2010.
- ANIMUT, G. PUCHALA; R. GOETSCH, A.L.; PATRA, A.K.; SAHLU, T.; VAREL, V.H.; WELLS J. Methane emission by goats consuming different sources of condensed tannins. **Anim. Feed Sci. Techn.**, In Press. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/journal/03778401>. Acesso em: 28 mar 2013.
- AOAC Interantional. **Official methods of analysis**. 15.ed. Washington: AOAC, 1990.
- ARAÚJO, J.V. de. Debate sobre alternativas de controle da verminose em ovinos e caprinos. Homeopatia, fitoterapia, fungos nematófagos e plantas com taninos. In: VERÍSSIMO, C.J. **Alternativas de controle da verminose em pequenos ruminantes**. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 2008. p. 117-119.
- ATHANASIADOU, S.; KYRIAZAKIS, I.; JACKSON, F.; COOP, R. L. Direct anthelmintic effects of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: in vitro and in vivostudies. **Veterinary Parasitology**, v. 99, p. 205–219, 2001.
- \_\_\_\_\_, S.; TZAMALOUKAS, O.; KYRIAZAKIS, I.; JACKSON, F.; COOP, R. L. Testing for direct anthelmintic effects of bioactive forages against *Trichostrongylus colubriformis* different in grazing sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 127, p. 233–243, 2005.
- BARBOSA, H. Criação de ovinos e caprinos é alternativa para produtores. **Diário do Nordeste**. 27 set. 2010. In: CNA. Disponível em: <<http://www.canaldoprodutor.com.br/comunicacao/noticias/criacao-de-ovinos-e-caprinos-e-alternativa-para-produtores>>. Acesso em: 20 nov. 2012.
- BARRY, T.N.; MCNABB, W.C. The implication of condensed tannins on the nutritive value of temperature forages fed to ruminants. **British Journal of Nutrition**, v. 81, p. 263-272, 1999.
- BARRY, T.N.; McNEILL, D.M.; McNABB, W.C. Plant secondary compounds: their impact on forage nutritive value and upon animal production. In: **International Grassland Congress**, 2001, São Pedro. Proceedings... Piracicaba: FEALQ, 2001. p.445-52.
- BATISTA, L.M. et al. Atividade ovicida e larvicida *in vitro* de *Spigelia anthelmia* e *Momordica charantia* contra o nematódeo *Haemonchus contortus*. **Ciência Animal**, v. 9, p. 67-3, 1999.
- BEELEN, P. M. G.; PEREIRA FILHO, J. M.; BEELEN, R. N. Avaliação de Taninos Condensados em Plantas Forrageiras. In: Zootec, João Pessoa, Paraíba, 2008. **Anais...** João Pessoa, Paraíba, 2008.

- BIZIMENYERA, E. S.; GITHIORI, J. B.; ELOFF, J. N.; SWAN, G. E. *In vitro* activity of *Peltophorum africanum* Sond. (Fabacea) extracts on the egg hatching and larval development of the parasitic nematode *Trichostrongylus colubriformis*. **Veterinary Parasitology**, v. 142, p. 336-343, 2006.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília, 2009. 136 p.
- BRICARELLO, P. A.; AMARANTE, A. F. T.; ROCHA, R. A.; CABRAL FILHO, S. L.; HUNTLEY, J. F.; HOUDIJK, J. G. M.; ABDALLA, A. L.; GENNARI, S. M. Influence of dietary protein supply on resistance to experimental infections with *Haemonchus contortus* in Ile de France and Santa Ines lambs. **Veterinary Parasitology**, v. 134, p. 99-109, 2005.
- CALIXTO, J. B. Medicamentos Fitoterápicos. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais: sob a ótica da Química Medicinal Moderna**. Chapecó: Argos, 2001, 500p.
- CAMAROTTO, M. Bons ventos para ovinos e caprinos no Brasil. **Valor Econômico**. 24 jan. 2011. In: CNA. Disponível em: <<http://www.canaldoprodutor.com.br/comunicacao/noticias/bons-ventos-para-ovinos-e-caprinos-no-brasil>>. Acesso em: 20 nov. 2012.
- CANNAS, A. **Tannin main page**. Cornell, 2001. Disponível em: <<http://www.sheepgoatmarketing.org/plants/toxicagents/tannin>>. Acesso em: 15 mar 2013.
- CARLTON, W. W.; MCGAVIN, M. D. **Patologia veterinária especial de Thomson**. 2 ed. Porto Alegre: ArtMed, 1998, 672 p.
- CARVALHO, T. A. G. **Atividade anti-helmíntica das folhas de pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess.) e cagaita (*Eugenia dysenterica* Mart. Ex DC) em ovelhas mestiças no Distrito Federal**. Brasília, 2012. 61p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Departamento de pós-graduação em Medicina Veterinária, União Pioneira de Integração Social.
- CENCI, F. B. **Efeitos do tanino condensado sobre os helmintos de ovinos infectados naturalmente**. Brasília, 2006. 62p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília.
- \_\_\_\_\_, F. B.; LOUVANDINI, H.; MCMANUS, C. M.; DELL'PORTO, A.; COSTA, D. M.; ARAUJO, S. C.; MINHO, A. P.; ABDALLA, A. L. Effects of condensed tannin from *Acacia mearnsii* on sheep infected naturally with gastrointestinal helminthes. **Veterinary Parasitology**, v. 144, p. 132-137, 2007.
- CHAGAS, A. C. S. Resíduos de anti-helmínticos no leite de caprinos. In: CAVALCANTE, A. C. R.; VIEIRA, L. S. et al. **Doenças parasitárias de caprinos e ovinos: epidemiologia e controle**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009, 603p.
- CHAGAS, A. C. S. **IV Curso Metodologias *in vitro* para avaliação de substâncias com potencial antiparasitário sobre nematoides gastrintestinais de ruminantes**. Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP, 2012.

- COLES, G. C.; BAUER, C.; BORGSTEEDE, F. H. M.; KLEI, T. R.; TAYLOR, M. A.; WALLER, P. J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v. 44, p. 35-44, 1992.
- COOP, R. L.; KYRIAZAKIS, I. Influence of host nutrition on the development and consequences of nematode parasitism in ruminants. **Trends Parasitol.**, v. 17, p. 325-330, 2001.
- CORREIA, S. J.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 29, n. 6, 2006.
- ECHEVARRIA, F. A. M.; PINHEIRO, A. C. Eficiência de anti-helmínticos em bovinos. In: 11º Seminário Brasileiro de parasitologia Veterinária, 2º Seminário de Parasitologia Veterinária dos Países do Mercosul, 1999, Salvador, BA. **Anais...** Ilhéus: Universidade Estadual de Santa Cruz, 1999. p. 150.
- EDWARDS, C. A; ATIYEH, R. M; ROMBTE, J. Environm Impact of Avermectins. **Rev. Environ Contam Toxicol**, v. 171, p. 111-137, 2001.
- ELOFF, J. N.; MCGAW, L. J. Methods for Evaluating Efficacy of Ethnoveterinary Medicinal Plants. In: KATERERE, D. R.; LUSEBA, D. **Ethnoveterinary botanical medicine: herbal medicine for animal health**. CRC Press, 2010, 450p.
- EMBRAPA. Sistema de Produção de Caprinos e Ovinos de Corte para o Nordeste Brasileiro. Embrapa Caprinos e Ovinos, 2013. Disponível em: <[http://www.cnpq.embrapa.br/?pg=orientacoes\\_tecnicas&uiui=mercado](http://www.cnpq.embrapa.br/?pg=orientacoes_tecnicas&uiui=mercado)>. Acesso em: 08 abr. 2013.
- ERBANO, M. **Morfoanatomia de folha e caule das espécies *Centrolobium tomentosum* Guillemín ex Benth. (Fabaceae), *Genipa americana* L. e *Randia armata* (Sw) DC. (Rubiaceae)**. Curitiba, 2010. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Setor de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Insumos, Medicamentos e Correlatos, Universidade Federal do Paraná.
- FERREIRA, M. G. R. Aspectos sociais da fitoterapia. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Rondônia, Porto Velho, 2006, 14 p. Disponível em: <[http://www.cpafrp.embrapa.br/media/arquivos/publicacoes/doc102\\_fitoterapia\\_.pdf](http://www.cpafrp.embrapa.br/media/arquivos/publicacoes/doc102_fitoterapia_.pdf)>. Acesso em: 05 dez. 2012.
- FERRO, D. **Fitoterapia: conceitos clínicos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008, 502p.
- GATHUMA, J.M. et al. Efficacy of *Myrsine africana*, *Albizia anthelmintica* and *Hilderbrandtia sepalosa* herbal remedies against mixed natural sheep helminthosis in Samburu district, Kenya. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, p. 7-12, 2004.
- GINER-CHAVES, B. I. **Condensed tannins in tropical forages**. 1996. 196 f. Tese (Doutorado em Filosofia) - Cornell University, Ithaca, 1996.
- GRACEY, J. F.; COLLINS, D. S.; HUEY, R. J. **Meat Hygiene**, 3 ed. London: W.B. Saunders Company Ltd, 1999, p. 669-678.

- HOSTE, H.; JACKSON, F.; ATHANASIADOU, S.; THAMSBORG, S.M.; HOSKIN, S.O. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. **Trends in Parasitology**, v. 22, p. 253–261, 2006.
- HUSSAIN, A.; KHAN, M. N.; IGBAL, Z.; SAJID, M. S.; KHAN, M. K. Anthelmintic activity of *Trianthema portulacastrum* L. and *Musa paradisiaca* L. against gastrointestinal nematodes of sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 179, p. 92-99, 2011.
- IBGE. **Produção da Pecuária Municipal**, Rio de Janeiro, v. 38, p.1-65, 2010
- INMET. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/>>. Acesso em: 10 out. 2011.
- JABBAR, A.; ZAMAN, M.A.; IQBAL, Z.; YASSEN, M.; SHAMIM, A. Anthelmintic activity of *Chenopodium album* (L.) and *Caesalpinia crista* (L.) against Trichostrongylid nematodes of sheep. **J. Ethnopharmacol.**, v. 114, p. 86–91, 2007.
- JACKSON, F.; COOP, R. L. The development of anthelmintic resistance in sheep nematodes. **Parasitology**, v. 120, p. 95-107, 2000.
- JACKSON, F.; HOSTE, H. *In vitro* methods for the primary screening of plant products for direct activity against ruminant gastrointestinal nematodes. In: *In vitro* screening of plant resources for extra- nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies. **Springer Netherlands**, p. 25-45, 2010.
- JEAN-BAIN, C. Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins. **Revue Méd. Vet.**, v. 149, n. 10, p. 911-920, 1998.
- KAMARAJ, C.; RAHUMAN, A. A. Efficacy of anthelmintic properties of medicinal plant extracts against *Haemonchus contortus*. **Research in Veterinary Science**, v. 91, p. 400-404, 2011.
- KATIKI, L. M. **Atividade anti-helmíntica in vitro e in vivo de compostos fitoquímicos para o controle de nematoides gastrintestinais de ovinos**. Botucatu, 2011. 135p. Tese (doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.
- \_\_\_\_\_, L. M.; CHAGAS, A. C. S.; BIZZO, H. R.; FERREIRA, J. F. S.; AMARANTE, A. F. T. Anthelmintic activity of *Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon schoenanthus* and *Mentha piperita* essential oils evaluated in four different in vitro tests. **Veterinary Parasitology**, v. 183, p. 103-108, 2011.
- KETZIS, J.K. et al. *Chenopodium ambrosioides* and its essential oil as treatments for *Haemonchus contortus* and mixed adult-nematode infections in goats. **Small Ruminantes Research**, v. 44, p. 193-200, 2006.
- KIMAMBO, A. E.; MACRAE, J. C.; WALKER, A.; WATT, C. F.; COOP, R. L. Effect of prolonged subclinical infection with *Trichostrongylus colubriformis* on the performance and nitrogen metabolism of growing lambs. **Veterinary Parasitology**, v. 28, p. 191–203, 1998.
- KRYCHAK-FURTADO, S. **Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no estado do Paraná: testes in vitro e in vivo**. 2006. 147f. Tese (Doutorado em Ciências)

- Curso de Pós-graduação em Agronomia, Área de Produção Vegetal, Universidade Federal do Paraná, PR.

- LEAL, T. M. A redução de anti-helmínticos no controle da verminose em caprinos e ovinos. **Portal dia de campo**. Disponível em: <[http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=24184&secao=Artigos %20Especiais](http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=24184&secao=Artigos%20Especiais)>. Acesso em: 21 set. 2012.
- LEITE, J. P. V. **Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas**. São Paulo: Editora Atheneu, 2009. 328 p.
- LÓPEZ-NARANJO, H.; PERNÍA, N. E. Anatomia y ecología de los organos subterranos de *Anacardium humile* A. St.-Hil. (Anacardiaceae). **Revista Forestal Venezolana**, v. 24, p. 55-76, 1990.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas**. 2. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008. 544 p.
- LOUVANDINI, H.; VELOSO, C. F. M.; PALUDO, G. R.; DELL'PORTO, A.; GENNARI, S. M.; MCMANUS, C. M. Influence of protein supplementation on the resistance and resilience on young hair sheep naturally infected with gastrointestinal nematodes during rainy and dry seasons. **Veterinary Parasitology**, v. 137, p. 103-111, 2006.
- MAKKAR, H. P. S.; BLUEMMEL, M.; BOROWY, N. K.; BECKER, K. Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. **J. Sci. Food Agric**, v. 61, p. 161-165, 1993.
- MALI, R. G.; METHA, A. A. A review on anthelmintic plants. **Natural Product Radiance**. India, v. 7, p. 466-475, 2008.
- MANGAN, J. L. Nutritional effects of tannins in animal feeds. **Nutr. Res. Rev.**, v. 1, p. 209-231, 1988.
- MARTIN, M.; MCORKLE, C. M.; MATHIAS, E. An Annotated Bibliography of Community Animal Healthcare. **Ethnoveterinary Medicine**. London: Intermediate Technology Development Group Publishing, p. 1379-1384, 2001.
- MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C. et al. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: UFV, 2003. 220 p.
- MATHIUS-MUNDY, E., McCORKLE, C. M. **Ethnoveterinary medicine: NA annotated bibliography**. Bibliography in Technology and Social Change Ames: Iowa State University, Technology and Social Change Program, n. 6. 1989.
- MEEUSEN, E. N. T. Immunology of helminth infections, with special reference to immunopathology. **Veterinary Parasitology**, v. 84, p. 259-273, 1999.
- MELO, A. C. F. L.; BEVILAQUA, C. M. L. Abordagem genética da resistência anti-helmíntica em *Haemonchus contortus*. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 100, p. 141-146, 2005.
- MELO, A. C. F. L.; REIS, I. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; VIEIRA, L. S.; ECHEVARRIA, F.

- M.; MELO, L. M. Nematodeos resistentes a anti-helminticos em rebanhos de ovinos e caprinos do estado do Ceará, Brasil. **Ciencia Rural**, v. 33, p. 339-344, 2003.
- MENDONÇA, R. C.; FELFINI, J. M.; WALTER, B. M. T. Flora vascular do cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. **Cerrado, ambiente e flora**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados, Planaltina, p. 289-556, 1998. **Saúde Rev.**, vol. 7, p. 7-10, 2005.
- MICHELIN, D. C.; MORESCHI, P. E.; LIMA, A. C.; NASCIMENTO, G. G. F.; PAGANELLI, M. O.; CHAUD, M. V. Avaliação da atividade anti-helmíntica de extratos vegetais. *Rev Bras Farmacogn*, v. 15, p. 316-320, 2005.
- MIGLIATO, K. F.; BABY, A. R.; ZAGUE, V.; VELASCO, M. V. R.; CORRÊA, M. A.; SACRAMENTO, L. V. S.; SALGADO, H. R. N. Ação farmacológica de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 25, p. 310-314, 2006.
- MIN, B.R.; HART, S.P. Tannins for suppression of internal parasites. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 102-109, 2003.
- MOLENTO, M. B. Resistência Parasitária. In: CAVALCANTE, A. C. R.; VIEIRA, L. S. et al. **Doenças parasitárias de caprinos e ovinos: epidemiologia e controle**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009, 603p.
- NERY, P. S.; DUARTE, E. R.; MARTINS, E. R. Eficácia de plantas para o controle de nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes: revisão de estudos publicados. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v. 11, n. 3, p. 330-338, 2009.
- NERY, P. S.; NOGUEIRA, F. A.; MARTINS, E. R.; DUARTE, E. R. Effects of Anacardium humile leaf extracts on the development of gastrointestinal nematode larvae of sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 171, p. 361-364, 2010.
- NIEZEN, J. H. CHARLESTON, W. A.; ROBERTSON, H. A.; SHELTON, D.; WAGHORN, G. C.; GREEN, R. The effect of feeding sulla (*Hedysarum coronarium*) or lucerne (*Medicago sativa*) on Lamb parasite burdens and immunity to gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 105, p. 229-45, 2002.
- PADILHA, T.; MARTINEZ, M.L.; GASBARRE, L.; VIEIRA, L.S. Genética: a nova arma no controle de doenças. **Balde Branco**, v. 36, n. 229, p. 58, jul. 2000.
- PENELUC, T.; DOMINGUES, L. F.; ALMEIDA, G. N. et. al. Atividade anti-helmíntica do extrato aquoso das folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. (Rutaceae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, supl. 1, p. 43-48, 2009.
- PORTER, L. J.; HRSTICH, L. N.; CHAN, B. G. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyaniding and delphinidin. **Phytochemistry**, v. 25, p. 223-230, 1986.
- POWERS, K.G. et al. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine and ovine). **Veterinary Parasitology**, v. 10, n. 4, p. 265-84, 1982.
- RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, p 603-613, 2001.

- RIBEIRO, C. **Sistema de criação de ovinos nos ambientes ecológicos do sul do Rio Grande do Sul.** Embrapa Pecuária Sul, 2008. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Ovinos/CriacaoOvinosAmbientesEcologicosSulRioGrandeSul/importancia.htm>>. Acesso em: 10 abr. 2013.
- RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. **Plantas medicinais no domínio dos cerrados.** Lavras: Ed.UFLA, 2001. 180p.
- SANTOS, V. T.; GONÇALVES, P. C. O aparecimento de *Haemonchus contortus* resistente ao radical benzimidazole em Uruguaiana. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE PARASITOLOGIA, 1., 1967, Santiago, Chile. **Anais...** Santiago: Federation Latino Americana de Parasitólogos, 1967. p. 105.
- SILVA, L. Fitoterápicos no Controle de Endoparasitoses de Caprinos e Ovinos. **Rev. Brás. Hig. San. Anim.**, v. 1, n. 2, p. 37-43, 2007.
- SILVEIRA, E. K. P. O lobo-guara (*Chrysocyon brachyurus*) - possível ação inibidora de certas solanáceas sobre o nematoide renal. **Vellozia**, v. 7, p. 1-4, 1969.
- SIMONI, I. C. Plantas com poder curativo na saúde animal. **Instituto Biológico**, São Paulo, n. 155, 19 abr. 2011. Disponível em: <[http://www.biológico.sp.gov.br/artigos\\_ok.php?id\\_artigo=155](http://www.biológico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=155)>. Acesso em 5 out. 2012.
- SMITH, B. P. **Tratado de medicina veterinária interna de grandes animais:** moléstias de equinos, bovinos, ovinos e caprinos. São Paulo: Manole, 1993, vol. 2, 1738 p.
- SOTOMAIOR, C. S.; MORAES, F. P. S.; SOUZA, F. P.; MILCZEWSKI, V.; PASQUALIN, C. A. **Parasitoses gastrintestinais dos Ovinos e Caprinos:** alternativas de controle. Curitiba, PR: Instituto Emater, 2009, 36p.
- STEAR, M. J.; MURRAY, M. Genetic resistance to parasitic disease: particularly of resistance in ruminants to gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 54, p. 161-176, 1994.
- SOUSA, A. D.; BRITO, E. S. Otimização da extração de taninos da casca do cajueiro. **52º Congresso Brasileiro de Química**, Recife, 2012.
- SOUZA, D. A. **O mercado doméstico da carne ovina em 2012.** Disponível em: <<http://www.farmpoint.com.br/cadeia-produtiva/conjuntura-de-mercado/o-mercado-domestico-da-carne-ovina-em-2012-83144n.aspx#comentarios>>. Acesso em: 30 mar 2013.
- THOMPSON, D. P. & GEARY, T. G. The structure and function of helminth surfaces. In: J. MARR. **Biochemistry and Molecular Biology of Parasites.** Academic Press, 1995, p. 203-232.
- TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B.; CENTA, M. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto Contexto Enfermagem**, Florianópolis, v. 15, n. 1, p. 115-21, 2006.
- TORQUATO, P. R.; ROSSI, T.; VISMARA, E. S.; BRITO, J. O. Influência do uso de pressão na extração de taninos condensados de folhas e ramos de eucalipto (*Corymbia citriodora*). **18º Simpósio Internacional de Iniciação Científica**, Universidade de São Paulo, 2010.

- UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 4.ed. Tokyo, Japan, Japan International Cooperation Agency, 1998. 143p.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, Quantificação de resíduos de medicamento anti-helmíntico nas fezes e nos tecidos de cordeiros produzidos em ambiente pastoril, 2010. Disponível em: < <http://painel.ubis.com.br/clientes/lapoc/imagens/downloads/1051.pdf>>. Acesso em: 18 mar 2103.
- VAN SOEST, P. J., ROBERTSON, J. B., LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p. 3583-3597, 1991.
- VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R.; PEREIRA, M. F; DANTAS, L. B.; XIMENES, L. J. F. Evaluation of anthelmintic efficacy of plants available in Ceará State, North-east Brazil, for the control of goat gastrointestinal nematodes. **Revue de Medecine Veterinaire**, Toulouse, v. 150, n. 5, p. 447-452, 1999.
- VIEIRA, L. S. Métodos alternativos de controle de nematoides gastrintestinais em caprinos e ovinos. **Tecnol. & Ciên. Agropec.**, João Pessoa, v. 2, n. 2, p. 49-56, 2008.
- WALLACE, D. S.; BAIRDEN, K.; DUNCAN, J. L.; FISHWICK, G.; GILL, M.; HOLMS, P. H.; McKELLAR, Q. A.; MURRAY, M.; PARKINS, J. J.; STEAR, M. Influence of soybean meal supplementation on the resistance of Scottish black face lambs to *Haemonchosis*. **Res. Vet. Sci.**, v. 60, p. 138-143, 1996.
- WATERMAN, C; SMITH, R.A.; PONTIGGIA, L.; DERMARDEROSIAN, A. Anthelmintic screening of Sub-Saharan African plants used in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 127 (2010), p.755-759
- WYNN, S. G.; FOUGÈRE, B. **Veterinary herbal medicine**. Elsevier Health Sciences, 2007, 714p.