

## EFEITOS DOS EXTRATOS AQUOSOS DE FOLHAS DE *Cymbopogon citratus* (DC.) STAPF (CAPIM-SANTO) E DE *Digitaria insularis* (L.) FEDDE (CAPIM-AÇU) SOBRE CULTIVOS DE LARVAS DE NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS DE CAPRINOS

MARIA ÂNGELA. O. DE ALMEIDA<sup>1</sup>; MARIANA B. BOTURA<sup>2</sup>; MÔNICA M. DOS SANTOS<sup>2</sup>; GISELE N. ALMEIDA<sup>2</sup>; LUCIANA F. DOMINGUES<sup>2</sup>; SILVIA L. COSTA<sup>3</sup>; MARIA JOSÉ M. BATATINHA<sup>2</sup>

**ABSTRACT:**- ALMEIDA, M.A.O. DE; BOTURA, M.B.; SANTOS, M.M.DOS; ALMEIDA, G.N.; DOMINGUES, L.F.; COSTA, S.L.; BATATINHA, M.J.M. [Effects of aqueous extracts of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf and *Digitaria insularis* (L.) Fedde leaves on larvae cultures of gastrointestinal nematodes of goats.] Efeitos dos extratos aquosos de folhas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (Capim-santo) e de *Digitaria insularis* (L.) Fedde (Capim-açu) sobre cultivos de larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 12, n. 3, p. 125-129, 2003. Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos, Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, Av. Ademar de Barros, 500, Ondina, Salvador, BA 40170-110, Brazil. E-mail: aornelas@ufba.br

Several plants with anthelmintic activity have been used in the folk veterinary medicine. The objective of this study was to evaluate *in vitro* the effects of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf and *Digitaria insularis* (L.) leaves on cultures of gastrointestinal nematodes of goats. Six concentrations (mg/ml) for the aqueous extract of *Cymbopogon citratus* (224; 140; 87.5; 54.69; 34.18 e 21.36) and for the aqueous extract of *Digitaria insularis* (355.2; 222; 138.75; 86.71; 54.19 e 33.87) were used to treat larvae cultures. Distilled water and doramectin were used to treat cultures considered to be negative and positive control, respectively. The results revealed a reduction of more than 95% of Strongyloidea larvae on the concentration of 224 mg/ml for the *Cymbopogon citratus* extract and between the concentrations of 355.2 and 138.75 mg/ml for the *Digitaria insularis* extract. These suggest that the extracts of *C. citratus* and *D. insularis* are effective *in vitro* on treatment of nematodes gastrintestinais of goats.

**KEY WORDS:** *Cymbopogon citratus*, *Digitaria insularis*, anthelmintic, goat.

### RESUMO

Diversas plantas com atividade anti-helmíntica vêm sendo utilizadas na medicina veterinária popular. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos *in vitro* dos extratos aquosos de *Cymbopogon citratus* (Capim-santo) e *Digitaria insularis* (Capim-açu) sobre culturas de larvas de nematóides gastrin-

testinais de caprinos. Seis concentrações (mg/ml) do extrato das folhas de Capim-santo (224; 140; 87,5; 54,69; 34,18 e 21,36) e do extrato das folhas de Capim-açu (355,2; 222; 138,75; 86,71; 54,19 e 33,87) foram utilizadas para o tratamento dos cultivos de larvas, realizados em triplicata. Como controle negativo e positivo foram utilizados água destilada e doramectina, respectivamente. Os resultados revelaram uma redução superior a 95% do número de larvas da superfamília Strongyloidea, na concentração de 224 mg/ml para o extrato de Capim-santo e entre 355,2 e 138,75 mg/ml para o extrato de Capim-açu. Estes resultados sugerem que os extratos aquosos das folhas de Capim-santo e Capim-açu são eficazes no tratamento *in vitro* de nematóides gastrintestinais de caprinos.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Cymbopogon citratus*, *Digitaria insularis*, anti-helmíntico, caprino.

<sup>1</sup>Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos, Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, Av. Ademar de Barros, 500, Ondina, Salvador, BA 40170-110. E-mail: aornelas@ufba.br

<sup>2</sup>Laboratório de Toxicologia, Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, Av. Ademar de Barros, 500, Ondina, Salvador, BA 41100-110.

<sup>3</sup>Laboratório de Neuroquímica e Biologia Celular, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Av. Reitor Miguel Calmon, s/n, Salvador, BA 41100-110.

## INTRODUÇÃO

O controle das parasitoses gastrintestinais de caprinos é realizado principalmente com o uso de anti-helmínticos comerciais. No entanto, a utilização incorreta e indiscriminada destes produtos tem provocado o surgimento de resistência de nematóides a estes medicamentos (VIEIRA; CAVALCANTE, 1998; BARRETO et al., 2002), e por este motivo têm-se procurado métodos alternativos, como a fitoterapia, para o controle de parasitos.

*Cymbopogon citratus* (Capim-santo) possui atividades anti-helmíntica (KOKATE; VARMA, 1971), antibacteriana (CIMANGA et al., 2002), antifúngica (SCHUCK et al., 2001), inseticida (RAJAPAKSE; VAN EMDEN, 1997), diurética (GÁLVEZ et al., 1998) e anticarcinogênica (PUATANA-CHOKCHAI et al., 2002), sendo estas propriedades atribuídas aos óleos voláteis  $\alpha$ -citrinal,  $\beta$ -citrinal e mirceno (FERREIRA; FONTELES, 1989). Sobre a *Digitaria insularis* (Capim-açu) não há relato científico de suas propriedades terapêuticas. Contudo, popularmente, no semi-árido baiano é utilizado como anti-helmíntico. Assim sendo, a avaliação do efeito *in vitro* dos extratos aquosos de Capim-santo e Capim-açu sobre larvas de terceiro estágio de nematóides gastrintestinais de caprinos, contribuirá para o esclarecimento de sua eficácia no controle de parasitos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Preparação dos extratos aquosos

As amostras vegetais foram identificadas e armazenadas no Laboratório de Botânica Antonio Nonato Marques (BAH) da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola, Salvador, Bahia, com registro de exicata nº 10.559 e 10.560 para Capim-santo e Capim-açu, respectivamente.

As folhas maduras de Capim-santo e Capim-açu foram coletadas nos municípios de Lauro de Freitas (BA) e Senhor do Bonfim (BA), respectivamente. As folhas previamente secas à temperatura ambiente e trituradas em aparelho mixer, foram submetidas, separadamente, a uma extração aquosa, sob homogeneização mecânica por um período de 24 horas, procedendo-se em seguida a filtração e liofilização. Os extratos foram acondicionados em frasco de vidro cor âmbar e mantidos sob congelamento até o momento da sua utilização.

As concentrações de 224 e 355,2 mg/ml dos extratos de Capim-santo e Capim-açu, respectivamente, foram as máximas obtidas no experimento piloto. Utilizando-se estas concentrações não foi observado o desenvolvimento de larvas nos cultivos, deste modo foi estabelecido o intervalo numérico fixo de 1.6 para obtenção de cinco menores concentrações, com o objetivo de determinar a concentração mínima efetiva. Para os testes anti-helmínticos utilizou-se às concentrações de: 224; 140; 87,5; 54,69; 34,18 e 21,36 mg/ml do extrato de Capim-santo e 355,2; 222; 138,75; 86,71; 54,19 e 33,87mg/ml do extrato de Capim-açu.

### Realização dos cultivos de larvas

As amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal de caprinos naturalmente infectados com helmintos gastrintestinais e mantidos na Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia. Estas amostras foram submetidas à contagem de ovos por grama de fezes (OPG) segundo Taira et al. (2003), e aquelas com OPG superior a 2000, formaram um único homogeneizado para a realização dos cultivos de larvas (UENO et al., 1997).

Para cada concentração dos extratos das plantas, foram realizados três cultivos de larvas, com 2 g de fezes, 2 g de serragem e 2 ml do extrato, sendo em seguida incubados durante sete dias em estufas a 34°C. Como controles positivo e negativo, cultivos de larvas foram tratados com doramectina (Dectomax) na concentração de 0,0625 mg/ml e água destilada, respectivamente. As larvas infectantes foram coletadas dos cultivos e identificadas por gênero (UENO; GONÇALVES, 1988). O delineamento experimental foi repetido três vezes para cada extrato.

### Análise dos Resultados

A eficácia dos extratos sobre larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos foi determinada através do teste de redução de larvas por grama de fezes (LPG), utilizando-se a seguinte fórmula:  $R = 100 (1 - T/C)$ , onde R é a redução calculada no LPG, T é a média geométrica dos LPG<sub>s</sub> (LPG + 10) dos cultivos tratados e C é a média geométrica dos LPG<sub>s</sub> (LPG + 10) dos cultivos não tratados (VIZARD; WALLACE, 1987). As diferenças entre as concentrações foram avaliadas pela análise de variância univariada, utilizando-se o programa estatístico SSPS (versão 10.0). Os valores do número de larvas foram transformados em logaritmos decimais para uniformização dos dados, através da equação:  $y = \log (x+25)$ , onde x corresponde ao valor absoluto do número de larvas e y ao logaritmo do número de larvas acrescido de um valor constante (25) (BOX; COX, 1964).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento de cultivos de larvas com o extrato aquoso das folhas de Capim-santo resultou na redução significativa ( $p < 0,05$ ) (Tabela 1) do número de larvas totais nas duas maiores concentrações utilizadas (140 e 224 mg/ml). O percentual de redução de larvas de nematóides gastrintestinais tratados com este extrato foi elevado na concentração de 224 mg/ml para a contagem total de larvas, e dos gêneros *Haemonchus* e *Oesophagostomum*, enquanto que nas demais concentrações, o percentual de redução foi inferior a 95% (Tabela 2). A eficácia de um anti-helmíntico é assegurada quando o percentual de redução do número de ovos gastrintestinais é superior a 95% (HORNER; BINCHIN, 1989).

Tabela 1. Média aritmética do número de larvas de Strongyloidea obtidas de cultivos de larvas de fezes de caprinos tratados com extrato aquoso de *Cymbopogon citratus* (Capim-santo).

Gênero de larvas	Doramectin (0,0625 mg/ml)	Concentrações (mg/ml)						Água destilada
		224	140	87,5	54,69	34,18	21,36	
<i>Haemonchus</i>	3,33 <sup>a</sup>	37,20 <sup>a</sup>	295,00 <sup>b</sup>	1020,57 <sup>cd</sup>	755,00 <sup>d</sup>	1252,23 <sup>c</sup>	1143,87 <sup>cd</sup>	1642,23 <sup>c</sup>
<i>Oesophagostomum</i>	0,00 <sup>a</sup>	1,10 <sup>a</sup>	81,13 <sup>b</sup>	412,80 <sup>c</sup>	416,67 <sup>c</sup>	441,63 <sup>c</sup>	438,87 <sup>c</sup>	463,87 <sup>c</sup>
<i>Trichostrongylus</i>	0,00 <sup>a</sup>	1,67 <sup>a</sup>	10,00 <sup>a</sup>	68,69 <sup>c</sup>	69,97 <sup>c</sup>	46,67 <sup>c</sup>	110,57 <sup>c</sup>	82,23 <sup>c</sup>
Total	3,33 <sup>a</sup>	40,00 <sup>a</sup>	386,13 <sup>b</sup>	1502,23 <sup>c</sup>	1241,70 <sup>c</sup>	1740,57 <sup>c</sup>	1693,33 <sup>c</sup>	2181,67 <sup>c</sup>

Letras comparam valores nas linhas (p<0,05).

Tabela 2. Percentual de redução do número de larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos após o tratamento de cultivos de larvas com extrato aquoso de *Cymbopogon citratus* (Capim-santo).

Concentração (mg/ml)	<i>Haemonchus</i>	<i>Oesophagostomum</i>	<i>Trichostrongylus</i>	Total
224	97,79	97,08	86,57	98,26
140	91,49	86,46	78,68	91,36
87,5	32,87	0	14,30	25,00
54,69	50,37	0	22,92	38,20
34,18	17,01	0	36,07	12,51
21,36	24,84	0	7,01	16,70
Doramectina (0,0625 mg/ml)	99,13	97,35	88,27	99,34
Água destilada	0	0	0	0

Tabela 3. Média aritmética do número de larvas de Strongyloidea obtidas de cultivos de larvas de fezes de caprinos tratados com extrato aquoso de *Digitaria insularis* (Capim-açu).

Gênero de larvas	Doramectin (0,0625 mg/ml)	Concentrações (mg/ml)						Água destilada
		355,2	222	138,75	86,71	54,19	33,87	
<i>Haemonchus</i>	0,60 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	8,89 <sup>a</sup>	709,40 <sup>b</sup>	721,11 <sup>b</sup>	1040,00 <sup>b</sup>	1817,80 <sup>c</sup>
<i>Oesophagostomum</i>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	111,10 <sup>b</sup>	251,10 <sup>b</sup>	367,20 <sup>bc</sup>	504,40 <sup>c</sup>
<i>Trichostrongylus</i>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	2,22 <sup>a</sup>	63,30 <sup>b</sup>	83,30 <sup>b</sup>	100,56 <sup>b</sup>	171,70 <sup>c</sup>
Total	0,60 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	11,11 <sup>a</sup>	883,90 <sup>b</sup>	1055,56 <sup>b</sup>	1507,80 <sup>b</sup>	2493,90 <sup>c</sup>

Letras comparam valores nas linhas (p<0,05).

Tabela 4. Percentual de redução do número de larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos após o tratamento de cultivos de larvas com extrato aquoso de *Digitaria insularis* (Capim-açu).

Concentração (mg/ml)	<i>Haemonchus</i>	<i>Oesophagostomum</i>	<i>Trichostrongylus</i>	Total
355,2	99,38	97,38	93,17	99,53
222	99,38	97,38	93,17	99,53
138,75	98,94	97,38	91,90	99,15
86,71	58,73	78,76	54,42	61,37
54,19	59,31	62,01	47,34	57,93
33,87	46,99	54,29	39,38	46,67
Doramectina (0,0625 mg/ml)	99,35	97,38	93,17	99,51
Água destilada	0	0	0	0

Os óleos voláteis, encontrados nas folhas desta planta, conferiram alta eficácia anti-helmíntica *in vitro* sobre minhocas (KOKATE; VARMA, 1971). Estes óleos apresentam também atividade contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (SCHUCK et al., 2001; ONAWUNMI et al., 1984) e *Candida albicans* (SCHUCK et al., 2001). Os componentes a e b-citral do óleo são, provavelmente, responsáveis por esta atividade antibacteriana (ONAWUNMI et al., 1984), a qual também foi observada no extrato aquoso (infuso) das folhas secas (SCHUCK et al., 2001). No entanto, nenhuma inferência tem sido feita em relação à constituição química dos componentes ativos presentes no extrato aquoso da forma como tem sido descrito para o óleo.

Em relação ao Capim-açu, houve redução significativa ( $p < 0,05$ ) do número de larvas de Strongyloidea nos cultivos tratados com o extrato aquoso em todas as concentrações testadas quando comparadas ao grupo controle negativo (Tabela 3). Entretanto, a eficácia terapêutica deste extrato foi observada apenas nas três maiores concentrações para o número total de larvas, e para os gêneros *Haemonchus* e *Oesophagostomum* (Tabela 4).

Percentuais baixos de redução de larvas do gênero *Trichostrongylus* foram constatados nos testes com os extratos de ambas as plantas. Este fato pode ser atribuído a uma limitação do teste de avaliação do percentual de redução, que impõe um limite mínimo de 200 ovos presentes no grupo controle negativo; caso contrário, o teste sempre acusará um percentual de redução inferior a 95% (HORNER; BIANCHIN, 1989). Os caprinos deste experimento apresentaram baixos níveis de infecção por *Trichostrongylus* spp., sendo esta uma situação comum na criação de caprinos neste Estado (BARRETO et al., 2002).

A concentração do extrato de folhas de Capim-açu necessária para promover atividade anti-helmíntica contra larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos foi menor quando comparado com o extrato de Capim-santo, revelando, um melhor potencial para seu uso como fitoterápico.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo sugerem que o extrato aquoso das folhas de Capim-santo e Capim-açu são eficazes no tratamento *in vitro* de nematóides gastrintestinais de caprinos. No entanto, estudos *in vivo* são necessários para validar o seu uso no controle alternativo das parasitoses nos animais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARRETO, M.A.; ALMEIDA, M.A.O.; SILVA, A.; REBOUÇAS, I.; MENDONÇA, L.R. Resistência anti-helmíntica em rebanhos caprinos no Estado da Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA (CONBRAVET), 29, 2002, Gramado. *Anais ... Gramado: SBMV/SOVERGS*, 2002. 1 CD-ROM.
- BOX, G.E.P.; COX, D.R. An analysis of transformations. *Journal of the Royal Statistical Society*, v. B 26, p. 211-243, 1964.
- CIMANGA, K.; KAMBU, K.; TONA, L.; APERS, S.; BRUYNE, T.; HERMANS, N.; TOTTE, J.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A.J. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 79, n. 2, p. 213-220, 2002.
- FERREIRA, M.S.C.; FONTELES, M.C. Aspectos etnobotânicos e farmacológicos do *Cymbopogon citratus* Stapf (capim limão). *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 70, n. 4, p. 94-97, 1989.
- GÁLVEZ, J.L.H.; TORRES, I.P.; AGUILAR, O.E.A.; LARA, M.L. Estudio del efecto diurético de la hoja de *Cymbopogon citratus* en modelo de ratas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, v. 3, n. 2, p. 79-82, 1998.
- HIRAZAWA, N.; OHTAKA, T.; HATA, K. Challenge trials on the anthelmintic effect of drugs and natural agents against the monogenean *Heterobothrium okamotoi* in the tiger puffer *Takifugu rubripes*. *Aquaculture*, v. 188, n. 1-2, p. 1-13, 2000.
- HORNER, M.R.; BIANCHIN, I. *Teste para quantificar a resistência de nematóides contra produtos antihelmínticos*. Campo Grande: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1989. 5 p. (Comunicado Técnico, 32).
- KOKATE, D.K.; VARMA, K.C. Anthelmintic activity of some essential oils. *Indian Journal of Hospital Pharmacy*, v. 8, p. 150-151, 1971.
- ONAWUNMI, G.O.; YISAK, W.; OGUNLANA, E.O. Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 12, n. 3, p. 279-286, 1984.
- PUATANACHOKCHAI, R.; KISHIDA, H.; DENDA, A.; MURATA, N.; KONISHI, Y.; VINITKUMNUEN, U.; NAKAE, D. Inhibitory effects of lemon grass (*Cymbopogon citratus*, Stapf) extract on the early phase of hepatocarcinogenesis after initiation with diethylnitrosamine in male Fisher 344 rats. *Cancer Letters*, v. 183, n. 1, p. 9-15, 2002.
- RAJAPAKSE, R.; VAN EMDEN, H.F. Potential of four vegetable oils and ten botanicals powers for reducing infestation of cowpeas by *Callosobruchus maculatus*, *C. chinensis* and *C. rhodesianus*. *Journal of Stored Products Research*, v. 33, n. 1, p. 59-68, 1997.
- SCHUCK, V.J.A.; FRATINI, M.; RAUBER, C.S.; HENRIQUES, A.; SCHAPOVAL, E.E.S. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus*. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 37, n. 1, p. 45-49, 2001.

- TAIRA, N.; ANDO, Y.; WILLIAMS, J.C. Supplemental photographs, sketches and laboratory techniques. In: \_\_\_\_\_. *A color atlas of clinical helminthology of domestic animals*. Amsterdam: Elsevier, 2003. Cap. 3. p.114-118, 161p.
- UENO, H.; ARAUJO, F.R.; BORGES, C.C.L.; D'ALMEIDA, V.A.D. *Coprocultura quantitativa para larvas de Strongyloidea em nematóides gastrintestinais de caprinos*. Salvador: JICA, 1997. 19 p.
- UENO, H.; GONÇALVES, P.C. *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes*. 2ª ed. Republica Dominicana : Universidade Autonoma de Santo Domingo. 1988. 50p.
- VIEIRA, L.S.; CAVALCANTE, A.C.R. Resistência anti-helmíntica em nematóides gastrintestinais de caprinos. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 20, n. 3, p. 112-117, 1998.
- VIZARD, A.L.; WALLACE, R.J. A simplified egg count reduction test. *Australian Veterinary Journal*, v. 64, n. 4, p. 109-111, 1987.

Recebido em 4 de novembro de 2003.

Aceito para publicação em 29 de dezembro de 2003.