

EFEITOS DOS EXTRATOS AQUOSOS DE FOLHAS DE *Mentha piperita* L. E DE *Chenopodium ambrosioides* L. SOBRE CULTIVOS DE LARVAS INFECTANTES DE NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS DE CAPRINOS

MARIA ÂNGELA O. DE ALMEIDA¹; LUCIANA F. DOMINGUES²; GISELE N. ALMEIDA²; MÔNICA MATTOS DOS S. SIMAS²; MARIANA B. BOTURA²; ANA CARLA FERREIRA G. DA CRUZ²; ANA VALÉRIA ARAÚJO F. DA SILVA²; TAISE P. MENEZES²; MARIA JOSÉ M. BATATINHA²

ABSTRACT:- ALMEIDA, M.A.O. DE; DOMINGUES, L.F.; ALMEIDA, G.N.; SIMAS, M.M. DOS S.; BOTURA, M.B.; CRUZ, A.C.F.G. DA; SILVA, A.V.A.F. DA; MENEZES, T.P.; BATATINHA, M.J.M. [Effects of aqueous extracts of *Mentha piperita* L. and *Chenopodium ambrosioides* L. leaves in infective larvae cultures of gastrointestinal nematodes of goats.] Efeitos dos extratos aquosos de folhas de *Mentha piperita* L. e de *Chenopodium ambrosioides* L. sobre cultivos de larvas infectantes de nematóides gastrintestinais de caprinos. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 16, n.1, p. 57-59, 2007. 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

Phitotherapy has been frequently utilized in parasitism control for numerous animal species. The aim of this experiment was to evaluate the *in vitro* effects of aqueous extracts of *Mentha piperita* L. and *Chenopodium ambrosioides* L. leaves in larvae cultures of gastrointestinal nematodes of goats. Six different concentrations of *M. piperita* extracts (196; 150.7; 115.9; 89.1; 68.5 e 52.7 mg/mL) and *C. ambrosioides* extracts (110,6; 85; 65,3; 50,2; 38,6 e 29,6 mg/ml) were used for the treatment of larvae cultures, in triple assays. Distilled water and doramectin were used in larvae cultures as negative and positive controls, respectively. The results revealed a reduction of more than 95% of the infective larvae when *M. piperita* extracts were used in the concentrations of 115.9 and 196 mg/mL, and *C. ambrosioides* extract in the concentration of 110.6 mg/ml, supporting the effect of these extracts in the *in vitro* treatment of gastrointestinal nematodes of goats.

KEY WORDS: *Mentha piperita*, *Chenopodium ambrosioides*, anthelmintic, goats.

RESUMO

A fitoterapia vem sendo freqüentemente utilizada no controle das parasitoses de diversas espécies animais. O objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* os efeitos dos extratos aquosos das folhas da *Mentha piperita* L. (hortelã) e do *Chenopodium ambrosioides* L. (mastruz) sobre cultivos de larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos. Seis concentrações do extrato das folhas da hortelã (196; 150,7; 115,9; 89,1; 68,5 e 52,7 mg/ml) e do mastruz (110,6; 85; 65,3; 50,2; 38,6 e 29,6

mg/mL) foram utilizadas para o tratamento dos cultivos de larvas, realizados em triplicata. Como controle positivo e negativo foram utilizados doramectina e água destilada, respectivamente. Os resultados revelaram uma redução superior a 95% do número de larvas infectantes para os diferentes gêneros, nas concentrações de 115,9 a 196 mg/ml para o extrato da hortelã e 110,6 mg/mL para o extrato do mastruz, evidenciando o efeito dos mesmos no tratamento *in vitro* de nematóides gastrintestinais de caprinos.

PALAVRAS-CHAVE: *Mentha piperita*, *Chenopodium ambrosioides*, anti-helmíntico, caprinos.

O emprego de plantas, no tratamento das parasitoses, tem sido uma prática comum, na qual se destaca a hortelã (*Mentha piperita*) e mastruz (*Chenopodium ambrosioides*), cujas fo-

¹ 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

² Laboratório de Toxicologia, Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia.

lhas apresentam atividade anti-helmíntica (VIEIRA et al., 1999; MACDONALD et al., 2004). No presente estudo foram avaliados os extratos de folhas da hortelã e de mastruz sobre as larvas de terceiro estágio de nematóides gastrintestinais de caprinos.

Folhas de *M. piperita*, obtidas de um mesmo estabelecimento comercial da CEASA (Centro de abastecimento de Salvador) localizado no município de Salvador, Estado da Bahia, e de *C. ambrosioides* coletadas no município de Senhor do Bonfim, Estado da Bahia, foram identificadas botanicamente, sendo as exsicatas depositadas sob os n^{os} 548 e 549, respectivamente, para mastruz e hortelã no Herbário Antonio Nonato Marques, da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola, Salvador, Bahia. Na preparação dos extratos, as folhas secas, à temperatura ambiente, foram trituradas em aparelho de mixer e a seguir foram submetidas à extração aquosa, sob homogeneização mecânica, por um período de 24 horas. O material obtido foi filtrado, acondicionado em frasco de vidro âmbar, liofilizado e mantido sob congelamento (-20°C) até o momento da realização dos testes.

A determinação das concentrações dos extratos foi baseada nos resultados obtidos dos experimentos pilotos, nos quais, as concentrações de 196 e 110,6 mg/ml dos extratos de hortelã e mastruz, respectivamente, inibiram o desenvolvimento dos ovos. O intervalo numérico fixo de 1,3 foi estabelecido para manter-se um intervalo regular entre as concentrações até a obtenção da menor concentração efetiva dos extratos. Foram utilizadas cinco concentrações para o extrato da hortelã: 196; 150,7; 115,9; 89,1; 68,5 e 52,7 mg/ml, e para o extrato do mastruz: 110,6; 85; 65,3; 50,2; 38,6 e 29,6 mg/ml.

As amostras de fezes foram coletadas, diretamente da ampola retal, de caprinos naturalmente infectados com helmintos gastrintestinais, mantidos na Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, para contagem de ovos por grama de fezes (OPG) (TAIRA et al., 2003). As amostras com OPG superior a 2000 foram misturadas formando um único homogeneizado para a realização dos cultivos de larvas.

As diferentes concentrações dos extratos foram testadas, em triplicata, nos cultivos de larvas constituídos de 2 g de fezes, 2 g de serragem e 2 ml do extrato, sendo incubadas durante sete dias em estufas a 34°C. Cultivos de larvas também foram tratados com doramectina (Dectomax) e água destilada, representando os controles positivo e negativo, respectivamente. As larvas infectantes coletadas dos cultivos foram identificadas por gênero (UENO; GONÇALVES, 1998). O delineamento experimental foi repetido três vezes para assegurar a validação dos resultados.

O efeito de cada concentração dos extratos sobre as larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos foi determinado pelo cálculo dos percentuais pelo teste de redução de larvas por grama de fezes (VIZARD; WALLACE, 1987).

As diferenças entre as concentrações dos extratos foram avaliadas pelo Teste de Variância Univariada do programa estatístico SPSS (versão 10.0). Devido à variação do número

de larvas infectantes observados nas diferentes concentrações testadas, os valores foram submetidos à transformação logarítmica, empregando-se a equação: $y = \log(x + 25)$ (BOX; COX, 1964).

A fitoterapia vem sendo freqüentemente utilizada no controle das parasitoses de diversas espécies animais, contudo, existem poucos trabalhos sobre a atividade anti-helmíntica de *M. piperita* e *C. ambrosioides*, apesar do uso popular destas plantas no tratamento de várias enfermidades. Nos cultivos de fezes de caprinos tratados com extrato aquoso das folhas de *M. piperita* houve redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) do número total de larvas infectantes quando comparados ao controle negativo. Na análise por gênero, observam-se melhores resultados nas duas, três e quatro maiores concentrações, respectivamente, para *Haemonchus*, *Oesophagostomum* e *Trichostrongylus*, o qual se confirma, em parte, com o teste de redução, cujo percentual foi superior a 95% nas concentrações igual ou maior a 115,9 mg/ml para *Haemonchus* e *Trichostrongylus*, enquanto para o gênero *Oesophagostomum* o efeito anti-helmíntico foi mantido até a concentração de 89,1 mg/mL. O efeito anti-helmíntico, segundo Horner e Bianchin (1989), é assegurado quando o percentual de redução do número de larvas é superior a 95%.

Em estudos com camundongos tratados com um mililitro do extrato aquoso das folhas da hortelã a 5% p/v, durante três dias consecutivos, observou-se baixo percentual (10,6) de redução de oxiurídeos (AMORIM et al., 1987), e em caprinos tratados por via oral, com dose única de 0,5 g/kg de folhas da hortelã, sob a forma de suco, a redução foi de 72% do número de larvas de *Haemonchus contortus* (VIEIRA et al., 1999).

As diferenças entre os resultados de estudos *in vitro* e *in vivo* podem ser explicadas pela toxicocinética dos constituintes da planta relacionada ao metabolismo ruminal nos poligástricos (VANDAMME; ELLIS, 2004) ou no estômago nos monogástricos (FLORIO, 2002). Uma outra explicação está relacionada à preparação dos extratos, a concentração do produto e duração do tratamento.

O número total de larvas infectantes das culturas tratadas com o extrato aquoso das folhas de *C. ambrosioides* diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) apenas nas três maiores concentrações (65,3 a 110,6 mg/ml) quando comparado ao controle negativo, enquanto o percentual de redução foi superior a 95%, somente, na maior concentração (110,6 mg/ml) para todos os gêneros de larvas.

Em cultivos de larvas de *H. contortus*, com fezes de caprinos, tratados com o óleo essencial do mastruz, nas concentrações de 3,3 e 1,33 µl/mL, houve inibição (100%) do desenvolvimento larval (KETZIS et al., 2002). Entretanto nesta espécie animal, o uso de 750mg/kg de folhas e sementes desta planta sob a forma de suco, dose única, via oral, reduziu em apenas 33,6% das larvas deste nematóide (VIEIRA et al., 1999), sendo provável que *C. ambrosioides*, como demonstrado no presente estudo, tenha atividade anti-nematóides em altas concentrações, quando usado como extrato aquoso. O ascaridol, constituinte do óleo essencial, é referido como o

componente químico mais diretamente relacionado ao efeito anti-helmíntico, porém um componente hidrofílico, obtido de infusões desta planta, sem ascaridol, reduziu a infecção por *Caenorhabditis elegans* (MACDONALD et al., 2004).

Os extratos aquosos das folhas de hortelã e de mastruz têm efeito anti-helmíntico *in vitro* sobre larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de caprinos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMORIM, A.; BORBA, H.R.; SILVA, W.J. Ação anti-helmíntica de plantas. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 68, p. 64-70, 1987.
- BOX, G.E.P.; COX, D.R. An analysis of transformations. *Journal of the Royal Statistical Society*, B26, p. 211-243, 1964.
- FLORIO, J.C. Absorção, distribuição, biotransformação e eliminação. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária*. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.25-40.
- HONER, M.B.; BIANCHIN, I. *Teste para quantificar a resistência de nematódeos contra produtos anti-helmínticos*. Campo Grande: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária -CNPQ, 1989. 5 p. (Comunicado Técnico, nº 32).
- KETZIS, J.K.; TAILOR, A.; BOWMAN, D.D.; BROWN, D.L.; WARNICK, L.D.; ERB, H.N. *Chenopodium ambrosioides* and its essential oil as treatments for *Haemonchus contortus* and mixed adult-nematode infections in goats. *Small Ruminant Research*, v. 44, n. 3, p.193-200, 2002.
- MACDONALD, D.; VANCNEY, K.; HARRISON, P.; RANGACHARI, P.K.; ROSENFELD, J.; WARREN, C.; SORGER, G. Ascaridole-less infusions of *Chenopodium ambrosioides* contain a nematocide(s) that is(are) not toxic to mammalian smooth muscle. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 92, n. 2-3, p. 215-221, 2004.
- 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.
- UENO, H.; GONÇALVES, P.C. *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes*. 4ª ed. Tokyo : Japan International Cooperation Agency. 1998. 150p.
- VANDAMME, T. F.; ELLIS, K.J. Issues and challenges in developing ruminal drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 56, n. 10, p. 1415-1436, 2004.
- 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 Médecine Vétérinaire*, v. 150, n. 5, p. 447-452, 1999.
- 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 16 de março de 2006.

Aceito para publicação em 15 de janeiro de 2007.