

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**JANAÚBA (*HIMATANTHUS* WILLD. Ex. SCHULT.) -
APOCYNACEAE NO CONTROLE DE NEMATÓDEOS
GASTRINTESTINAIS EM OVINOS**

Francisco Carneiro Lima
Médico Veterinário

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL
2011

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**JANAÚBA (*HIMANTHUS* WILLD. Ex. SCHULT.) -
APOCYNACEAE NO CONTROLE DE NEMATÓDEOS
GASTRINTESTINAIS EM OVINOS**

Francisco Carneiro Lima

**Orientador: Prof. Dr. Jeffrey Frederico Lui
Co-orientadora: Profa. Dra. Ana Clara Gomes dos Santos**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Zootecnia (Produção Animal).

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL

Dezembro – 2011

L732j Lima, Francisco Carneiro
Janaúba (*Himatanthus* Willd. Ex. Schult.) – Apocynaceae no controle de nematódeos gastrintestinais em ovinos / Francisco Carneiro Lima – Jaboticabal, 2011
xvi, 137 f. il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011

Orientador: Jeffrey Frederico Lui

Banca examinadora: Euclides Braga Malheiros, Leoman Almeida Couto, Ana Claudia Ruggieri, Daniel Prazeres Chaves.

Bibliografia

1. Fitoterápico. 2. Anti-helmíntico. 3. Controle alternativo. 4. *Himatanthus drasticus*.

I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.3:615.2

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

FRANCISCO CARNEIRO LIMA – nascido em São José dos Basílios (MA), em 27 de setembro de 1964, é filho de Edmundo Carneiro Lima e Rita da Silva Lima. Em julho de 1986 ingressou no curso de Medicina Veterinária pela Universidade Estadual do Maranhão, concluindo a graduação em dezembro de 1990. Em janeiro do ano seguinte, ingressou na Residência Veterinária pela Universidade Federal de Uberlândia (MG), obtendo o certificado de Especialização em Medicina Veterinária e Produção Animal em julho de 1992. Em agosto do mesmo ano, por meio do Departamento de Zootecnia, ingressou na Universidade Estadual do Maranhão ministrando a disciplina de Bovinocultura onde permaneceu até 1995. A partir de 1996 torna-se professor da disciplina Fundamentos de Zootecnia, onde permanece até os dias atuais, após efetivação em concurso público. No ano de 1997 ingressou no Mestrado em Agroecologia pela Universidade Estadual do Maranhão, obtendo o título de Mestre no ano de 1999. De 1998 a 2000 obteve o diploma de Especialização em Metodologia do Ensino de Terceiro Grau pela Universidade Estadual do Maranhão. Em março de 2008, iniciou o Doutorado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista – UNESP – Jaboticabal por meio do Programa de Doutorado Interinstitucional (DINTER) do convênio firmado entre a Unesp – Jaboticabal e UEMA – São Luís, com financiamento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, concluído em dezembro de 2011. Em seu currículo Lattes, os temas de atuação estão relacionados com manejo das criações e conservação de recursos genéticos animais.

Em tudo que realizamos com humildade, coragem, alegria e perseverança, existe a certeza de estarmos contribuindo para a grandeza humana.

Do autor

Ao Criador do Universo, que na sua magnitude e grandeza nos concedeu vida.

Aos meus pais, Edmundo Carneiro Lima e Rita da Silva Lima que me conduziram na construção de valores.

Aos meus irmãos, Sueli Lima, Celi Lima, Francisca Lima, Serlige Lima, Lúcio Carneiro e Antonio Carneiro, pelo carinho e união que tanto nos fortalece.

Aos meus avôs, José Sabino da Silva e Maria Rosa Sabino da Silva Sá; Zacarias Carneiro Lima e Inácia Maria Vieira, *in memória*.

Ao meu querido irmão Francisco Suelijo Carneiro Lima, *in memória*. Juntos compartilhamos a inocência, os prazeres e inconseqüências da infância, os sonhos da adolescência e momentos felizes na vida adulta. Na memória eterniza as lembranças, no peito a saudade e o vazio de um adeus.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao senhor Deus por estar em toda parte ao mesmo tempo, nos mostrando a descobrir a verdade que existe em todas as coisas e pessoas.

Ao Professor Jeffrey Frederico Lui, pela confiança, determinação, paciência e empenho na orientação. A nobreza do seu caráter não se restringe tão somente ao exercício do profissionalismo acadêmico, mas, sobretudo pelo carinho e respeito que dedica ao próximo, em especial aos animais. Obrigado mestre, pelo exemplo de sabedoria e humanidade.

O meu muito obrigado à professora Ana Clara Gomes dos Santos, pelo exemplo de profissionalismo e dignidade humana, amizade fraterna, paciência e perseverança ao transmitir com humildade sua sabedoria para a realização desse trabalho. Nas grandes conquistas do homem, algumas só foram possíveis graças às mudanças na direção dos ventos.

Ao Professor Euclides Braga Malheiros, a quem intitulo “Patrono” do DINTER - UEMA/UNESP, pelo caráter, humildade, determinação e amizade fraterna. Exemplo de um profissionalismo que nos faz refletir sobre as nossas condutas no cotidiano. A você mestre e a todos os seus familiares, minha eterna gratidão e que Deus preserve seus valores através de gerações.

Aos agricultores familiares da comunidade Sossego, Caxias – MA, em especial ao senhor Crespim Araújo, pelos conhecimentos em plantas de uso na medicina tradicional.

À Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) pela oportunidade concedida e apoio necessário para a realização deste trabalho.

À Universidade Estadual Paulista (UNESP) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia e

ao Departamento de Zootecnia, pela recepção e todo o apoio necessário para conclusão do trabalho.

À Coordenação do DINTER/UEMA, representada em dois momentos pelos professores Valene da Silva Amarante Júnior e José Ricardo Soares Telles de Souza, pela dedicação e comprometimento ao Programa.

À professora Francisca Neide Costa, pela iniciativa de busca e implantação do convênio firmado entre UEMA/UNESP, que resultou na consolidação do programa DINTER, possibilitando essa oportunidade única em nossas vidas.

À professora Nilva Kazue Sakomura pela determinação, exemplo de profissionalismo e acolhida fraterna.

À Coordenação de Pós-graduação da UNESP/Jaboticabal pela brilhante eficiência da equipe de funcionários e a todos os Professores Coordenadores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Renato Luis Furlan, Nilva Kazue Sakomura, Ana Claudia Ruggieri e Kleber Tomas de Resende que durante a gestão do programa DINTER, conduziram com responsabilidade e determinação os procedimentos necessários para a manutenção da integridade das instituições envolvidas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela promoção do Doutorado Interinstitucional (DINTER) e concessão de bolsa de estudos.

Aos professores da UNESP – Jaboticabal, solidários ao programa DINTER, Renato Luis Furlan, Jane Ezequiel, Elisabeth Gonzáles, Jorge Lucas, Ana Cláudia Ruggieri, Euclides Braga Malheiros, Imaculada Fonseca, José Gilberto, Nilva Sakomura e Ricardo Reis. A vocês mestres, o meu muito obrigado pela importante participação e contribuição na doação dos conhecimentos necessários para a consolidação dos nossos objetivos.

Aos professores membros da Banca do Exame de Qualificação, Américo Garcia da Silva Sobrinho, Euclides Braga Malheiros, Eduardo Custódio Gasparino e Gilson Oliveira Pereira, pelas valiosas contribuições ao trabalho.

Aos professores membros da Banca de Defesa, Ana Claudia Ruggieri, Daniel Prazeres Chaves, Euclides Braga Malheiros e Leoman Almeida Couto, que de forma humilde, porém precisa, doaram seus valiosos conhecimentos para o engrandecimento deste trabalho.

Aos Professores da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Adriana Leandro Câmara e Roberto Sigfrido Gallegos Olea pelos conhecimentos e tempo dedicados na preparação do fitoterápico e execução dos testes pré-clínicos que se constituíram no alicerce do trabalho.

Aos professores da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Ana Maria Maciel pela contribuição na identificação botânica da planta e Ferdinan Almeida Melo pela colaboração com as análises histopatológicas.

À médica veterinária, Zulmira da Silva Batista pela preciosa contribuição nas análises de Bioquímica e Eritrogramas, sobretudo pela solidez de carinho, respeito e amizade cultivados ao longo dos anos.

À Dra. Rachel Melo Ribeiro e ao Dr. Vicente Ferrer Pinheiro Neto, pela preciosa colaboração na execução dos ensaios farmacológicos.

À química, Kedma Rejane Gonçalves Machado (UFMA), pela grandiosa colaboração na elucidação dos compostos fitoquímicos da planta.

Aos Doutores, Whaubtyfran Cabral Teixeira, Francisco Borges e Sebastião Rollim pela contribuição com o desenvolvimento do trabalho.

Aos técnicos de Laboratório, Carlos Alberto Alves Bezerra Júnior, Dorgival Francisco Rocha (UEMA) e Denilson Amorim Vieira (UFMA), pela colaboração nas análises e processamentos do material vegetal.

Ao laboratório CERNITAS – CDV- Centro de Diagnóstico Veterinário, pela colaboração nas análises de Bioquímica e Eritrograma.

Aos professores da Universidade Estadual do Maranhão, Alana Lisleia, Antonia Santos, Adélia Waquim, Cristiane Miranda, Daniel Prazeres, Evaldo Monteiro, Hamilton Santos, Fernando Andrade, Francisca Costa, Itaan Pastor, José Ribamar Júnior, José dos Santos Pinheiro, Lúcia Coelho Alves, Luís Carlos Rego, Paulo Vasconcelos e Raimundo Barreto, pela amizade, apoio e disponibilidade para contribuir com este trabalho.

Aos nobres companheiros do DINTER que compartilharam dessa ilustre caminhada: Afrânio Gazolla, Gonçalo Mendes, Eleuza Tenório, Helder Luís Dias, João Soares Filho, Maria Inêz Carneiro, Maria do Socorro Nahuz, Osvaldo Serra, Roberto Veloso, Silvana de Menezes e Zinaldo Firmino da Silva. Parabens pela conquista e que esta não seja somente um instrumento da vaidade humana, mas de reflexão sobre as nossas reais possibilidades.

Aos alunos do curso de Zootecnia, Jackson Queiroz e Jorge Lucas, pela valiosa contribuição na condução dos trabalhos de campo.

À secretária do Núcleo de Biotecnologia (CCA/UEMA), Marione Jorge, pelo apoio, solidariedade e amizade fraterna.

Aos funcionários da Fazenda Escola de São Bento (UEMA), Ana Léia de Jesus Farias, Antonio Márcio Carvalho, Daniel Luis Barros, Dielson Carlos Melo Dulcinéia de Fátima Farias, Francisco de Assis Soares, Georlan Augusto Sousa, Jacenilson Borges Alves, José Ribamar Melo, Raimundo Barros Martins e Sergionaldo pela valiosa colaboração durante a execução dos trabalhos de campo.

Às verdadeiras amizades conquistadas no transcorrer dos tempos, pois em cada fase e momento de nossas vidas, pessoas partilham de forma amistosa do nosso convívio para nos fazer lembrar que viver é um ato supremo de querer e fazer bem ao próximo. Obrigado pelos votos de carinho, apoio e confiança.

Aos familiares: sobrinhos, tios e primos por todo apoio, força, carinho e companheirismo partilhados.

Por fim, a minha gratidão aos animais. A misericórdia de Deus está sobre todas as suas criaturas.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE ABREVIACES.....	x
RESUMO.....	xii
SUMMARY	xiii
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAES GERAIS	1
1. INTRODUO	1
1.1 Panorama da ovinocultura.....	4
1.2 Parasitoses gastrintestinais em ovinos.....	5
1.3 Controle e resistncia.....	8
1.4 Plantas medicinais com atividade anti-helmíntica	11
1.5 Família Apocynaceae.....	16
1.5.1 Gênero <i>Himatanthus</i> Willd. Ex. Schuld.....	17
1.5.2 <i>Himatanthus drasticus</i>	18
1.5.3 Aspectos botânicos da Janaúba.....	18
1.5.4 Aspectos fitoquímicos de <i>Himatanthus</i> spp.....	21
1.6 Uso medicinal de <i>Himatanthus</i> spp.	28
2. OBJETIVO GERAL	30
2.1 Objetivos específicos	30
REFERÊNCIAS.....	31
CAPÍTULO 2. BOTÂNICA, FITOQUÍMICA, TOXICIDADE E ATIVIDADE ANTI- HELMÍNTICA <i>IN VITRO</i> DE JANAÚBA.....	48
RESUMO.....	48
SUMMARY	50
1.INTRODUO	52

2. MATERIAL E MÉTODOS	54
2.1 Identificação botânica de <i>Himatanthus</i> spp. (Janaúba).....	55
2.2 Colheita e processamento da casca de janaúba para uso medicinal.....	55
2.3 Bromatologia e identificação fitoquímica dos compostos presentes na casca e no extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba.....	57
2.3.1 Análise da composição bromatológica	57
2.3.2 Preparação do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA).....	58
2.3.3 Prospecção dos compostos fitoquímicos	58
2.3.4 Particionamento do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) para obtenção dos subextratos.....	59
2.3.5 Prospecção dos metabólitos presentes no EBHA e nos Subextratos	59
2.4 Atividade farmacológica de janaúba: ensaios de toxicidade em camundongos (<i>Mus musculus</i>) e eritrócitos de ratos (<i>Rattus novvegicus</i>).....	62
2.4.1 Toxicidade hemolítica do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba em ratos (<i>Rattus novvegicus</i>)	62
2.4.2 Toxicidade aguda do EBHA de janaúba em camundongos (<i>Mus musculus</i>)	63
2.5 Teste de eclodibilidade <i>in vitro</i> de ovos de nematódeos gastrintestinais em ovinos tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba.....	65
2.5.1 Preparo do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba utilizado nos testes <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	65
2.5.2 Colheita das amostras fecais	65
2.5.3 Exames coproparasitológicos pré-tratamento	66
2.5.4 Delineamento experimental.....	66
2.5.5 Cultivo <i>in vitro</i>	67
2.5.6 Identificação e contagem de larvas de 3 ^o estágio	67
2.6 Avaliação da eficácia do teste <i>in vitro</i>	68
2.7 Análises estatísticas.....	68
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	68
3.1 Etnobotânica da Janaúba.....	68
3.2 Composição nutricional da casca de janaúba (<i>Himatanthus drasticus</i>)	69

3.3 Características do EBHA e prospecção dos metabólitos identificados no extrato e subextratos de <i>H. drasticus</i>	70
3.4 Respostas da atividade toxicológica do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de <i>H. drasticus</i> sobre eritrócitos de ratos	72
3.5 Respostas da atividade toxicológica aguda do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de <i>H. drastius</i> em camundongos.....	73
3.6 Respostas da atividade ovicida <i>in vitro</i> do EBHA de <i>H. drasticus</i> sobre nematódeos gastrintestinais em ovinos	75
4. CONCLUSÕES	79
REFERÊNCIAS.....	81
CAPITULO 3. TESTE DE EFICÁCIA <i>IN VIVO</i> DO EXTRATO BRUTO HIDROALCOÓLICO (EBHA) DE JANAÚBA (<i>HIMATANTHUS DRASTICUS</i> MART. PLUMEL) SOBRE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS EM OVINOS NATURALMENTE INFECTADOS.....	89
RESUMO	89
SUMMARY	91
1. INTRODUÇÃO	93
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	95
2.1 Baixada Maranhense	95
2.2 Delineamento experimental.....	96
2.3 Triagem dos animais e estabelecimento dos tratamentos.....	97
2.4 Preparo do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de <i>H. drasticus</i>	98
2.5 Protocolo de administração.....	99
2.6 Alimentação, higiene do ambiente e registro do peso vivo.....	99
2.7 Colheitas de material para exames laboratoriais.....	100
2.8 Exames laboratoriais.....	101
2.8.1 Exames coproparasitológicos.....	101
2.8.2 Teste de redução da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) e larvas por gramas de fezes (LPG)	102
2.8.3 Bioquímica sérica	103
2.8.4 Eritrograma.....	103
2.8.5 Histopatologia.....	103

2.9 Análises estatísticas	104
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	104
3.1 Características do EBHA de <i>H. drasticus</i>	104
3.2 Exames coproparasitológicos.....	104
3.3 Percentual de redução de ovos por grama de fezes (OPG) nos tratamentos	105
3.4 Redução de larvas infectantes de terceiro estágio (L3) nos tratamentos.....	109
3.5 Eritrograma.....	115
3.6 Perfil bioquímico	117
3.6.1 Metabólitos	117
3.6.2 Enzimas.....	120
3.7 Variação do peso corporal.....	121
3.8 Exames necroscópico e histopatológico.....	122
4. CONCLUSÕES	125
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	125
REFERÊNCIAS.....	127

LISTA DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO 2. BOTÂNICA, FITOQUÍMICA, TOXICIDADE E ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA IN VITRO DE JANAÚBA.....	48
Tabela 1. Composição bromatológica da casca de janaúba (<i>H. drasticus</i>) colhida de plantas nativas do cerrado de Caxias, MA, expressa no percentual da matéria seca	69
Tabela 2. Classes de metabólitos identificados no extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) e nos Subextratos de janaúba (<i>H. drasticus</i>), conforme a polaridade	70
Tabela 3. Peso médio (g) dos órgãos de camundongos <i>Swiss albino</i> (<i>Mus musculus</i>), submetidos ao tratamento oral com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>)	74
Tabela 4. Valor médio da atividade sérica de AST/ALT e concentração sérica de Proteína total em camundongos <i>Swiss albino</i> (<i>Mus musculus</i>), submetidos ao tratamento oral com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>) em relação ao grupo controle (T ₁)	74
Tabela 5. Média do peso corporal (g) inicial (D0), intermediário (D7), final (D14) e variação do peso corporal (VPC) de camundongos <i>Swiss albino</i> (<i>Mus musculus</i>), submetidos ao tratamento oral com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>) em diferentes doses.....	75
Tabela 6. Redução na contagem média de larvas fecais (RCLF) <i>in vitro</i> com a utilização do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>) no LPG de nematódeos gastrintestinais de ovinos, em relação ao tratamento controle negativo (T ₁)	76
Tabela 7. Percentual de redução (PR) na contagem de larvas fecais (LPG) sobre gêneros de nematódeos gastrintestinais em ovinos após tratamento <i>in vitro</i> com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>), em relação ao tratamento controle negativo (T ₁)	77
Tabela 8. Valores da estatística (F), coeficiente de variação (CV) e médias obtidas na análise das variáveis nos tratamentos experimentais (T ₂ e T ₃) com a utilização do extrato hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>) em relação ao tratamento controle negativo (T ₁).....	78

CAPITULO 3. TESTE DE EFICÁCIA <i>IN VIVO</i> DO EXTRATO BRUTO HIDROALCOÓLICO (EBHA) DE JANAÚBA (<i>HIMATANTHUS DRASTICUS</i> MART. PLUMEL) SOBRE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS EM OVINOS NATURALMENTE INFECTADOS.....	89
Tabela 1 Redução na contagem média de ovos fecais (RCOF) com utilização do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>) no OPG final (D35) em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados, em relação ao grupo controle negativo (T ₁)	105
Tabela 2. Redução na contagem média de ovos fecais (RCOF), dos OPGs pré (D0) e pós (D35) tratamento em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>)	106
Tabela 3. Valor médio do OPG em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), infectados naturalmente por nematódeos gastrintestinais e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>).....	108
Tabela 4. Redução na contagem média de larvas fecais (RCLF) com utilização do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>) no LPG final (D35) em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados em relação ao grupo controle negativo (T ₁).....	109
Tabela 5. Redução na contagem média de larvas fecais (RCLF), nos LPGs pré (D0) e pós (D35), dentro do tratamento em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>)	110
Tabela 6. Número médio de larvas infectantes (L3) de <i>Haemonchus</i> sp. em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>).....	112
Tabela 7. Número médio de larvas infectantes (L3) de <i>Cooperia</i> sp. em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>)	113
Tabela 8. Número médio de larvas infectantes (L3) de <i>Oesophagostomum</i> sp. em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>)	114
Tabela 9. Número médio de larvas infectantes (L3) de <i>Trichostrongylus</i> sp. em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>)	114

Tabela 10. Valor médio do volume globular (%) em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>).....	115
Tabela 11. Valor médio da concentração sérica de uréia (mg/dL) em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>)	117
Tabela 12. Valor médio da concentração sérica de creatinina (mg/dL) em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>)	118
Tabela 13. Valor médio da concentração sérica de proteína total (g/dL) em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>)	119
Tabela 14. Valor médio da atividade sérica de aspartato aminotransferase AST (U/L) em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>).....	120
Tabela 15. Valor médio da atividade sérica de aspartato alanina aminotransferase - ALT (U/L) em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>).....	121
Tabela 16. Média do peso corporal inicial (D0), intermediário (D14) e final (D35), seguidos da variação média do peso corporal (VPC) de ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>).....	122

LISTA DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
Figura 1. Aspectos de morfologia da janaúba: A) estrutura da copa de árvore adulta; B) folhas e flores; C) frutos; D) sementes aderidas à casca do fruto; E) córtex e exsudação do látex; F) poro lacitífero (seta).	20
CAPÍTULO 2. BOTÂNICA, FITOQUÍMICA, TOXICIDADE E ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA <i>IN VITRO</i> DE JANAÚBA.....	48
Figura 1. Material para identificação botânica da Janaúba: A) folhas; B) flores; C) frutos; D) sementes inseridas na casca do fruto.....	56
Figura 2. Colheita do material vegetal (córtex) de janaúba: A) Exposição do córtex para extração; B) Extração do córtex.	57
Figura 3. Fluxograma do processo de maceração da casca de janaúba (<i>Himatanthus</i> spp.) em mistura hidroalcoólica (70:30 v:v) para a obtenção do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA).	58
Figura 4. Fluxograma do particionamento do extrato bruto hidroalcoólico de (EBHA) de janaúba (<i>Himatanthus</i> spp.) com solventes orgânicos (Hexano, acetato de etila e butanol).	59
Figura 5. Percentual de hemólise em eritrócitos de ratos nos modelos experimentais com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (<i>H. drasticus</i>) em relação ao modelo experimental controle positivo (Triton X).	72
CAPITULO 3. TESTE DE EFICÁCIA <i>IN VIVO</i> DO EXTRATO BRUTO HIDROALCOÓLICO (EBHA) DE JANAÚBA (<i>HIMATANTHUS DRASTICUS</i> MART. PLUMEL) SOBRE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS EM OVINOS NATURALMENTE INFECTADOS.	89
Figura 1. Mapa geográfico do Estado do Maranhão: Localização do município de São Bento na microrregião da Baixada Maranhense. Fonte: Oliveira Filho & Tsuji (2008).	96

- Figura 2. Vista panorâmica das instalações e distribuição dos grupos nas unidades experimentais, por tratamento.97
- Figura 3. Infecção por protozoários em ovinos experimentais. A) Esfregaço sanguíneo em que as setas indicam *Trypanosoma* spp.; B) Exame coprológico com resultados positivo para *Eimeria* spp. (setas).116
- Figura 4. Fotomicrografias de seções histológicas em fígados de ovinos experimentais: A) animal do grupo T₁, sem alterações das células do parênquima hepático; B) animal do grupo T₅, em que a direção das setas de cor preta indica processo de degeneração hidrópica nos hepatócitos e a seta de cor branca indica infiltrado inflamatório periportal; C) animal do grupo T₄, em que as setas de cor preta indicam degeneração hidrópica nos hepatócitos (H&E, 200X).124

LISTA DE ABREVIações

CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CN	Controle Negativo
CP	Controle Positivo
CV	Coeficiente de variação
DINTER	Doutorado Interinstitucional
EBHA	Extrato Bruto Hidroalcoólico
EE	Extrato Etéreo
EM	Energia Metabolizável
ENN	Extrato não nitrogenado
FAO	Fundação das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
FCAV	Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
FB	Fibra bruta
FDN	Fibra em detergente neutro
FDA	Fibra em detergente ácido
g	Gravidade
Kg	Quilograma
L3	Larvas de 3º estágio
LPG	Larvas por grama de fezes
mM	Massa molar
MM	Matéria mineral
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria seca
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPG	Ovos por grama de fezes
PB	Proteína bruta
PC	Peso corporal
RCLF	Redução na contagem de larvas fecais
S. Ac.	Subextrato acetato de etila

S. Bu.	Subextrato butanólico
S.He.	Subextrato hexânico
SPRD	Sem padrão racial definido
T ₁	Tratamento controle negativo
T ₂	Tratamento 250 mg EBHA de janaúba
T ₃	Tratamento 500 mg EBHA de janaúba
T ₄	Tratamento 1000 mg EBHA de janaúba
T ₅	Tratamento controle positivo
UEMA	Universidade Estadual do Maranhão
UNESP	Universidade Estadual Paulista

**JANAÚBA (*HIMATANTHUS* WILLD. Ex SCHULT.) – APOCYNACEAE NO
CONTROLE DE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS EM OVINOS.**

RESUMO – Janaúba é a denominação popular mais difundida para as espécies do gênero *Himatanthus* que ocorrem no Estado do Maranhão. A planta é membro da família Apocynaceae, nativa do Brasil e tem ampla distribuição na região Nordeste, com várias indicações de uso popular, que vai desde o tratamento de inflamações uterinas e gastrites até o tratamento de verminoses. Para avaliar o efeito anti-helmíntico de *Himatanthus* ssp., contemplando os requisitos de eficácia e segurança para fitoterápicos e tendo em vista a crescente demanda por produtos agropecuários livres de resíduos químicos e a ocorrência de cepas de nematódeos resistentes aos quimioterápicos convencionais, o estudo objetivou contribuir com a investigação de tratamentos anti-helmínticos alternativos com possibilidade de uso na redução da verminose ovina. Inicialmente foi realizada a identificação botânica do vegetal, a produção do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA), caracterização fitoquímica, ensaios de toxicidade e atividade ovicida *in vitro* do EBHA de janaúba sobre nematódeos gastrintestinais em ovinos. O vegetal foi classificado como *Himatanthus drasticus*. O extrato apresentou compostos nitrogenados, glicosídeos e fenólicos e não foi verificada registros de toxicidade. Houve atividade ovicida ($p < 0,05$) *in vitro* sobre a emergência de larvas de nematódeos gastrintestinais nas concentrações testadas. Essas observações possibilitam a indicação da planta para testes anti-helmínticos em pequenos ruminantes. Prosseguiu-se experimentação *in vivo* por trinta dias com ovinos naturalmente infectados por nematódeos gastrintestinais, tendo sido avaliado o efeito do EBHA de *H. drasticus* sobre a redução do OPG e LPG, bem como as implicações de uso do extrato sobre as atividades e funções orgânicas dos animais tratados. Verificou-se redução ($p < 0,05$) de ovos e larvas fecais no período e as funções hepática e renal não foram influenciadas pelos tratamentos. A janaúba poderá integrar a relação de espécies vegetais com atividade anti-helmíntica, com possibilidades de utilização em tratamentos alternativos das helmintoses gastrintestinais em pequenos ruminantes.

Palavras-chave: Fitoterápico, controle alternativo, helmintoses, *Himatanthus drasticus*.

THE USE OF JANAUBA (*HIMATANTHUS* WILLD. Ex. SCHULT.) – APOCYNACEAE TO CONTROL GASTROINTESTINAL NEMATODES IN SHEEP

Summary – Janauba the common name of Plumeria (*Himatanthus* Willd), is the most common species of this genus found in Maranhão state. This plant, widely distributed in the Northeastern, belongs to the Apocynaceae family, is native to Brazil and other warm, tropical countries. Its use in popular medicine ranges from uterine inflammation, gastritis to worm treatment. The anthelmintic effect of *Himatanthus* ssp. is the focus of this study that aimed at evaluating an alternative anthelmintic treatment with potential use to reduce nematode parasites in sheep. Initially, we performed plant botanical identification, crude hydroalcoholic extract production (EBHA), phytochemical characterization, toxicity testing and *in vitro* ovicidal activity of Janaúba EBHA on gastrointestinal nematodes found in sheep. The plant was classified as *Himatanthus drasticus*. The extract presented nitrogen compounds and phenolic glycosides, with no record of toxicity. *In vitro* ovicidal activity ($p < 0.05$) was observed on the emergence of gastrointestinal nematode larvae at the concentrations tested. These results seemed to indicate the plant potential to be used as anthelmintics in small ruminants. Therefore, *in vivo* tests continued for thirty days with sheep naturally infected with gastrointestinal nematodes. These trials evaluated the effect of *H. drasticus* EBHA on EPG and LPG, as well as the implications of using the extract on the activities and bodily functions of treated animals. A reduction ($p < 0.05$) of fecal eggs and larvae was observed in the period; however, liver and kidneys were not influenced by the treatment. The janauba can join the list of plant species with anthelmintic activity, with potential uses in alternative treatments of gastrointestinal helminthiasis in small ruminants.

Keywords: Herbal, helminthiasis, *Himatanthus drasticus*, alternative control.

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais no tratamento e controle de enfermidades tem sido uma atividade do cotidiano humano e faz parte do processo evolutivo até os dias atuais, sobretudo em países onde a renda *per capita* da população é insuficiente para suprir necessidades imediatas como alimentação e saúde adequadas. Desse modo, o emprego de plantas medicinais na recuperação da saúde tem evoluído ao longo dos tempos desde as formas mais simples de tratamento até a fabricação industrial da atualidade, pois a manipulação de plantas com posterior recomendação de segurança para administração sob forma de mistura complexa como nos chás, garrafadas, tinturas, infusão, suco ou transformadas em comprimidos, pomadas, cápsulas e xaropes tem a propriedade de provocar reações benéficas no organismo. Seus efeitos podem resultar na recuperação da saúde, graças à atuação do princípio ativo, seja ele constituído de uma única substância ou de uma associação que atua sinergicamente, chamada de complexo fitoterápico (LORENZI & MATOS, 2002).

A Organização Mundial de Saúde (OMS), visando diminuir o número de excluídos dos sistemas governamentais de saúde, recomenda aos órgãos de saúde pública de cada país que: a) executem levantamentos regionais das plantas usadas na medicina popular tradicional e identifique-as botanicamente; b) estimulem e recomendem o uso daquelas que tiverem comprovadas sua eficácia e segurança terapêuticas; c) desaconselhem o emprego de práticas da medicina popular consideradas inúteis ou prejudiciais; d) desenvolvam programas que permitam cultivar e utilizar as plantas selecionadas na forma de preparações dotadas de eficácia, segurança e qualidade (LORENZI & MATOS, 2008).

No Brasil, o livro intitulado “Systema Materiae Medicae Vegetabilis Brasiliensis”, publicado em 1843, de autoria do botânico alemão Karl Friedrich Philipp Von Martius é

considerado a primeira publicação que relata as virtudes das plantas medicinais brasileiras. Porém, deve-se considerar que as primeiras observações do “poder de cura” das plantas originárias do Brasil foram registradas pelos colonizadores europeus, quando registraram o intenso uso de ervas medicinais pelos pajés das inúmeras tribos indígenas espalhadas pelo país e que tiveram uso aprimorado por meio de gerações. Posteriormente os escravos africanos deram sua contribuição, na medida em que plantas trazidas da África eram utilizadas em rituais religiosos, bem como pelas suas propriedades medicinais empiricamente utilizadas. Assim, o uso de plantas medicinais é antigo e por séculos foram às principais fontes de drogas disponíveis para a humanidade (LORENZI & MATOS, 2008).

A revolução industrial provocou um substancial avanço na indústria farmacêutica com a descoberta de muitas moléculas e componentes ativos que determinou o surgimento de produtos industrializados com mais eficácia e segurança no combate a diversas enfermidades. Com o advento dos fármacos sintéticos, o uso das plantas medicinais foi relegado ao segundo plano, principalmente em países ou comunidades desenvolvidas com maior poder aquisitivo. É notório que apesar da grande evolução da medicina alopática a partir da segunda metade do século XX, existem obstáculos básicos na sua utilização pelas populações carentes, que vão do acesso aos centros de atendimentos hospitalares à obtenção de exames e os elevados preços dos medicamentos da indústria farmacêutica. Esses elementos, aliados a facilidade de obtenção e a tradição do uso de plantas medicinais, contribuem para sua utilização pelas populações dos países em desenvolvimento, pois a OMS estima que 80% da população em todo o mundo, em especial nos países em desenvolvimento, fazem uso de plantas medicinais para atender as necessidades básicas de saúde. Deve-se considerar que além da questão social, a pesquisa de novos fármacos de origem natural também atende a uma mudança que gradativamente vem ocorrendo no comportamento da sociedade, no qual os consumidores têm preferido as substâncias naturais às sintéticas, seja como tratamento prioritário ou como auxiliar (FRANÇA et al. 2000; RATES, 2001; VEIGA-JUNIOR et al. 2005; GURIB-FAKIM, 2006).

Existem várias restrições quanto ao uso dos medicamentos alopáticos devido aos riscos de contaminação ao meio ambiente, sobretudo em relação aos compostos químicos com ação vermícida administrados aos animais domésticos que ao serem eliminados nas excreções, contaminam o meio ambiente. Outras implicações de uso dizem respeito aos resíduos incorporados nos alimentos de origem animal e vegetal, além da resistência desenvolvida pelos agentes causadores de enfermidades (vírus, bactérias, fungos, protozoários, ecto e endoparasitos) às moléculas dos produtos químicos utilizadas para as diversas recomendações terapêuticas (JACKSON, 1993; HERD, 1995; HAMMOND et al.1997; VIEIRA et al.1999).

Nas últimas décadas, em diferentes partes do mundo, a retomada de pesquisas com plantas medicinais tem se tornado objeto de estudo no controle de enfermidades, tanto na medicina humana quanto veterinária. A substituição de produtos químicos pelas plantas medicinais possibilita a extração de substâncias bioativas em quantidades suficientes para utilização nas mais variadas aplicações, sejam elas científicas, tecnológicas e comerciais. Nesse particular, as nematodioses gastrintestinais têm merecido atenção especial devido aos prejuízos que ocasionam sobre a produção animal. Na Austrália, país expoente na ovinocultura mundial, estima-se que as helmintoses promovam um impacto sobre a produção ovina da ordem de 222 milhões de dólares anuais (BALANDRIN et al. 1985; McLEOD, 1995; FOX, 1997).

A produção pecuária mundial tem buscado através de pesquisas, alternativas sustentáveis para reduzir os impactos promovidos pelas helmintoses gastrintestinais em animais de criação, tanto do ponto de vista dos custos com anti-helmínticos convencionais, quanto das questões relacionadas à resistência, a geração de resíduos ao ambiente e a saúde humana. Porém, tal qual acontece com os quimioterápicos, à aceitação de produtos fitoterápicos pela medicina científica só poderá ocorrer quando estes tiverem a sua eficácia avaliada e confirmada com a garantia de que sua administração não implicará em riscos à saúde do organismo tratado (RATES, 2001). Neste sentido, a utilização de plantas medicinais com propriedades anti-helmínticas emerge como possibilidade real para suprimir parte dos problemas sanitários da criação animal.

1.1 Panorama da ovinocultura

A ovinocultura é atividade explorada em todos os continentes habitáveis pelo homem, e apresenta uma população estimada de 1,03 bilhões de animais. Austrália, China e Nova Zelândia concentram os maiores efetivos dessa espécie. (FAO, 2008).

Dados do IBGE (2009) estimaram o rebanho ovino brasileiro em 16.800.000 de animais com um aumento de 1,1% sobre o registro ocorrido em 2008, com os seguintes efetivos regionais: 9.559.200 (56,90%) está reunido no Nordeste; 4.468.800 (28,60%) no Sul; 1.125.600 (6,70%) no Centro-Oeste; 761.040 (4,53%) na região Sudeste e 549.360 (3,27%) concentra-se na região Norte. O Maranhão com 235.200 animais tem participação de 1,4% do efetivo total.

O Brasil possui número expressivo de ovinos, porém apresenta baixa taxa de desfrute nessa atividade, determinada, sobretudo por sistemas de criação que na grande maioria são de subsistência. Desse modo, a produção de carne ovina é insuficiente para atender ao consumo interno, sendo necessária a importação do produto, principalmente do Uruguai, Argentina e Nova Zelândia para suprir a demanda (NOGUEIRA FILHO, 2003; SEBRAE, 2005).

O consumo mundial de carne ovina está estimado em 2 kg *per capita*/ano. Países como Mongólia, Nova Zelândia e Islândia atingem 39, 24 e 22 kg *per capita*/ano, respectivamente. Em nosso país, é difícil precisar o consumo de carne ovina, em função do nível elevado de auto-consumo nas propriedades rurais. Estimativas indicam que a utilização de carne ovina no país seja equivalente a 0,70kg/habitante/ano (FAO, 2008; CONAB, 2008). Considerando esse indicador, PINHEIRO et al. (2008) relataram a possibilidade de crescimento na demanda pela carne ovina no Brasil, pois o aumento do consumo interno promove a expansão da atividade, ao mesmo tempo em que aumentam as exigências dos consumidores por produtos de melhor qualidade. Assim, RESENDE et al. (2010) destacaram crescimento no mercado consumidor no segmento da ovinocaprino-cultura na ordem de 10% ao ano na região Nordeste, atribuindo esse crescimento ao aumento da produtividade dos sistemas de produção que na última década tem recebido apoio substancial de melhores tecnologias e políticas públicas.

Conforme análise da EMBRAPA (2010), em consequência da maior participação da atividade ovinocaprinocultura no agronegócio brasileiro, vem ocorrendo mudanças significativas na expansão da cadeia produtiva com destaque nas pesquisas relacionadas ao melhoramento genético, nutrição e sanidade dos rebanhos. Relatório da FAO (2008) destaca que o Brasil é a principal fronteira agropecuária do planeta e enfrentará o desafio de maximizar a produtividade animal com custos acessíveis à população mundial, sem esquecer-se da segurança alimentar e de não comprometer o ecossistema, minimizando o impacto ambiental, gerando bem-estar social dentro dos padrões de conforto animal e garantindo retorno econômico para a atividade.

1.2 Parasitoses gastrintestinais em ovinos

A helmintíase gastrintestinal representa importância econômica na exploração de pequenos ruminantes uma vez que compromete a rentabilidade dos sistemas de produção pecuários, produzindo impactos econômicos pelas perdas clínicas e sub-clínicas fazendo com que o controle dessas infecções tornem-se imprescindível para a viabilidade da atividade pecuária (FORBES, 2002; MOTA, 2003).

As consequências das infecções helmínticas sobre a saúde dos ovinos pode ser caracterizada de duas formas clínicas: aguda e crônica. A primeira é manifestada pela inapetência, anemia, diarreia, desidratação, perda de peso, pêlos arrepiados e sem brilho seguido de morte no decorrer de poucos dias, principalmente entre os animais jovens que são mais susceptíveis. Na forma crônica, as manifestações clínicas mais evidenciadas estão relacionadas ao surgimento de edema submandibular, hipoproteinemia, debilidade orgânica geral, redução de desempenho e morte (FORTES, 1997).

As condições ambientais que predisõem a infecção são determinadas pela temperatura, precipitação pluvial e umidade relativa elevadas, seguidas de menor incidência de radiação solar que, em ação conjunta, vão favorecer a eclodibilidade dos ovos e a sobrevivência das larvas no ambiente. Dentre estes elementos, a elevação da precipitação pluviométrica é o fator mais determinante na epidemiologia das

nematodioses gastrintestinais (VIEIRA, 1991). A contaminação das pastagens é mantida pelos animais adultos com infecções subclínicas, que continuamente eliminam ovos nas fezes durante a fase parasitária (ALMEIDA et al. 2007).

A espécie ovina é parasitada com mais frequência por nematódeos gastrintestinais pertencentes à família Trichostrongylidae e o efeito do parasitismo se manifesta conforme a espécie de nematódeo, a intensidade da infecção e a categoria e/ou estado fisiológico e nutricional do hospedeiro (VIEIRA, 2008). Nesse sentido, os Trichostrongylideos são vermes pequenos e frequentemente capilariformes, as espécies estão distribuídas dentro dos gêneros *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Nematodirus* e *Cooperia*. Esses gêneros apresentam ciclo evolutivos semelhantes e estão divididos nas fases: pré-parasitária e parasitária, com duração média de duas semanas.

De acordo com FERNANDES et al. (2004), *Haemonchus contortus* é considerado o principal estrongilídeo que parasita os ovinos, sendo também o de maior predominância nas diferentes regiões do Brasil. Porém, na etiologia das nematodioses em ovinos devem ser consideradas a espécie *Trichostrongylus axei* que associado ao *H. contortus* é encontrado parasitando o abomaso. *Trichostrongylus colubriformis*, *Strongyloides papillosus*, *Cooperia punctata*, *Cooperia pectinata* e *Bunostomum trigonocephalum* no intestino delgado, enquanto o *Oesophagostomum colubianum*, *Trichuris ovis*, *Trichuris globulosa* e *Skirjabinema* spp. no intestino grosso.

Vários estudos descrevem *H. contortus*, *T. colubriformis*, *S. papillosus* e *O. colubianum* como os gêneros de helmintos de maior prevalência e importância econômica para a exploração de pequenos ruminantes devido a anemia produzida, sendo comum a infecção mista por esses nematódeos. Nesse particular, o gênero *Hemonchus* é predominante em diversas regiões do Brasil e tem prevalência em mais de 80% da carga parasitária em função de sua elevada capacidade de resistência e biótica, cujas fêmeas apresentam postura média diária de 5.000 ovos sendo o endoparasito que promove os maiores prejuízos na cadeia produtiva dos pequenos ruminantes, dada a intensidade da infecção relacionada à hematofagia (ADANS, 1981;

COSTA & VIEIRA, 1984; GIRÃO et al. 1992; AROSEMENA et al. 1999; FERNANDES et al. 2004).

WALLER (2003) considera as alterações do ambiente, sobretudo o aumento da densidade populacional dos animais domésticos, atrelada a uma redução da movimentação dos rebanhos como fatores predisponentes que afetam o equilíbrio natural da interação parasito/hospedeiro. Além disso, a seleção dos animais priorizando somente as características produtivas tem sido favorável ao aumento da população de parasitos.

Nas atividades agropecuárias de todo o mundo, o controle das parasitoses dos ruminantes domésticos ainda é predominantemente químico, com o uso de drogas que liberam resíduos tóxicos no animal, no ambiente e nos alimentos, além de elevarem o custo de produção com mão de obra e aquisição de drogas antiparasitárias (VIEIRA, 2003; MELO et al. 2003). Devido a essas circunstâncias, CEZAR et al. (2008) defendem que o controle das nematodioses se torna mais eficiente quando baseado em conhecimentos epidemiológicos básicos, particularidades regionais e/ou locais e do tipo de sistema de produção. Pois os equívocos no uso de quimioterápicos têm levado a resultados abaixo do esperado, com aumento dos custos de produção e ampliação dos efeitos nocivos, tendo em vista que, o controle estratégico das nematodioses gastrintestinais deve levar em consideração as condições edafoclimáticas de cada região e a epidemiologia dos parasitos. Na região Nordeste do Brasil, as pesquisas indicam que o controle dos nematódeos deve ser concentrado no período seco do ano, uma vez que nessa estação, as condições ambientais não favorecem o desenvolvimento de vida livre dos parasitos, sendo o sistema gastrintestinal dos animais o único local viável para a sobrevivência dos helmintos. Dessa forma, fazendo-se o tratamento antiparasitário no animal, o ambiente torna-se um importante aliado na epidemiologia dos nematódeos (COSTA JÚNIOR et al. 2005; VIEIRA, 2008).

O controle das helmintoses em pequenos ruminantes domésticos com a utilização massiva de anti-helmínticos convencionais tem aumentado o desenvolvimento da resistência dos helmintos aos diferentes compostos químicos. Essa resistência antiparasitária tem sido frequente e abrange várias moléculas químicas com

propriedades anti-helmínticas, com destaque, para os compostos benzimidiazóis e levamizóis (GOPAL et al. 1999).

1.3 Controle e resistência

A resistência dos nematódeos aos anti-helmínticos é uma preocupação de caráter mundial, sendo um importante problema, principalmente em ovinos e caprinos (GOPAL et al. 1999). As nematodioses têm sido controladas com o uso de produtos químicos de forma rotineira e sem critérios pelos criadores. A utilização dessa prática, em parte é responsável pelo aumento da produtividade dos rebanhos. No entanto, a falta de conhecimentos dos criadores e técnicos sobre a biologia e epidemiologia dos endoparasitas gastrintestinais, associado à ausência de alternância dos compostos químicos geraram como consequência a seleção de populações de helmintos com resistência às diferentes moléculas químicas utilizadas nos tratamentos dos rebanhos, sendo os compostos benzimidiazóis e levamisoles os primeiros a sofrerem esse processo (AMARANTE et al. 1992; GOPAL et al. 1999; VIEIRA, 2008).

A resistência anti-helmíntica deve ser entendida quando um número significativo de espécimes em uma dada população é capaz de suportar doses de um composto químico que outrora apresentavam sensibilidade. Assim, indivíduos que manifestam multirresistência dentro de uma população podem transmitir seu genótipo para as gerações futuras (VIEIRA, 2003; VIEIRA, 2008), pois o fenômeno da multirresistência às drogas anti-helmínticas está associado à expressão de glicoproteínas de membranas que reduzem a concentração intracelular das drogas antiparasitárias (MOLENTO & PRICHARD, 2001). O diagnóstico é positivo para a resistência quando uma droga anti-helmíntica que apresentava redução da carga parasitária acima de 95% decresce a nível inferior a este valor contra os mesmo organismos depois de determinado período (CONDER & CAMPBELL, 1995).

Diversas causas são apontadas para o surgimento de resistência dos nematódeos aos compostos anti-helmínticos, dentre elas, o curto intervalo entre tratamentos, a utilização de uma mesma classe de anti-helmíntico por longos períodos,

as sub-dosagens, a rápida alternância entre os princípios ativos dos vermífugos, deslocamento dos rebanhos tratados para pastos contaminados, uso de medicamentos de longa persistência e por fim a aquisição de animais contaminados com cepas resistentes (MOLENTO et al. 2004; BESIER, 2006 citado por DOMINGUES, 2008).

THOMAZ-SOCCOL (1999) acrescenta que o controle dos endoparasitos é, usualmente, realizado com anti-helmínticos sintéticos, visando reduzir os níveis de infecção dos animais e promover a descontaminação das pastagens. No entanto, este procedimento acarreta sérias implicações devido à resistência dos parasitos a vários princípios ativos quando estes são utilizados de forma contínua nos rebanhos. PEDROSA et al. (2003) avaliaram os aspectos epidemiológicos e sanitários dos sistemas de criação de caprinos no noroeste do Estado do Rio Grande do Norte e constataram que 73% das propriedades estudadas faziam uso exclusivo do composto albendazole para controlar as verminoses dos rebanhos. Diante desses fatos, ALMEIDA et al. (2004), sugerem que a alternância entre os grupos químicos com propriedades anti-helmínticas deva ser precedida por cautela.

No Brasil, o primeiro relato de resistência aos benzimidazóis por *H. controtus* em ovinos foi registrado por SANTOS & GONÇALVES (1967) no Rio Grande do Sul. A partir de então, há uma vasta literatura relatando sobre resistência anti-helmíntica às diferentes bases químicas utilizadas nos tratamentos de pequenos ruminantes, sobretudo naquelas regiões detentoras dos maiores rebanhos.

Na região Sul, ECHEVARRIA et al. (1996) atribuíram a prevalência de resistência anti-helmíntica nos rebanhos ovinos de: 90% para os benzimidazóis, 84% para os levamisóis, 20% ao closantel e 13% para ivermectina. CUNHA FILHO et al. (1998) verificaram a resistência anti-helmíntica em ovinos na região de Londrina - PR de 100% para o composto químico albendazole, 80% para o ivermectin e 20% para o moxidectina, destacando também que o *Haemonchus* spp. foi o gênero mais freqüente e, possivelmente, o principal responsável pela resistência às drogas testadas. Do mesmo modo, RAMOS et al. (2002) em Santa Catarina destacaram que cerca de 60 e 90% dos ovinos tratados com ivermectina e benzimidazóis não responderam com eficácia aos tratamentos. Também foi observado por THOMAZ-SOCCOL et al. (2004) o

comportamento de resposta a diferentes compostos químicos em rebanhos ovinos no Paraná, tendo sido constatada resistência anti-helmíntica na maioria das regiões do Estado, com indicadores de 88,1; 78,6; 56,4 e 38%, respectivamente, para os anti-helmínticos oxfendazole, ivermectina, closantel e levamisole.

EURICO et al. (2010) estudaram a resistência anti-helmíntica de nematódeos gastrintestinais em ovinos no estado do Mato Grosso do Sul e concluíram que as formulações contendo albendazole e ivermectina não apresentaram eficácia na redução de OPG dos rebanhos testados, as médias foram de 0,7 e -19,6%, respectivamente. No mesmo estudo os compostos levamisole, closantel, moxidectina tiveram eficácia de 26,8; 28,7 e 65%, respectivamente. Enquanto a associação das drogas albendazole, ivermectina e levamisole apresentou eficácia de apenas 55,8%. Quando foram relacionados os gêneros de nematódeos resistentes em ordem decrescente, *Haemonchus* spp. (86,9%); *Trichostrongylus* spp. (47,5%); *Strongyloides* spp. (33,6%); *Oesophagostomum* spp. (21,4%) e *Cooperia* spp. com 19,7%.

Na região Nordeste, os levantamentos de VIEIRA et al. (1992) e MELO et al. (2003), destacaram resistência do *H. contortus* ao ivermectin e netomibin em ovinos provenientes do Paraná e Rio Grande do Sul, bem como para os compostos oxifendazole, levamisole e ivermectina em caprinos e ovinos no Estado do Ceará. Essa acentuada resistência anti-helmíntica em pequenos ruminantes tem sido registrada em outros estados da região como Bahia e Pernambuco (CHARLES et al. 1989; BARRETO et al. 2006; LIMA et al. 2010).

RODRIGUES et al. (2007) estudaram a sensibilidade de nematódeos gastrintestinais com anti-helmínticos convencionais na mesorregião do Sertão Paraibano e constataram que os compostos químicos não manifestaram a eficácia desejada sobre os nematódeos gastrintestinais. A efetividade para os produtos testados foi: moxidectina 93%; levamisole 94%; albendazole 72,3% e ivermectina 67,7%, tendo o gênero *Haemonchus* persistido em todos os grupos tratados. O mesmo comportamento foi verificado por AHID et al. (2007) que avaliaram a eficácia anti-helmíntica dos compostos químicos albendazole, ivermectina e moxidectina em rebanho caprino do Estado de Alagoas, verificando eficiência de 83,03; 91,34 e 91,96%, respectivamente,

com prevalência de 95% de *H. contotus*, revelando resistência desse gênero de nematódeos às drogas testadas.

1.4 Plantas medicinais com atividade anti-helmíntica

Planta medicinal, também denominada fitoterápica é aquela que contém um ou mais princípios ativos que conferem atividade terapêutica quando administrada na forma de extratos preparados da planta fresca ou por meio de um solvente apropriado seguido de sua evaporação total ou parcial e ajuste da concentração a padrões previamente determinados (CHAGAS, 2004).

O Brasil é considerado como um dos países com maiores perspectivas para a exploração econômica da biodiversidade do planeta, pois apresenta a maior variedade em relação às espécies animal e vegetal do mundo, estimada entre 10% e 20% do total já catalogado. A maioria das plantas existentes no planeta terra é encontrada nos países tropicais e estima-se que 25% das espécies vegetais ocorram originalmente no Brasil. Aproximadamente 25 mil espécies de plantas são usadas em todo o mundo para a produção de medicamentos, incluindo não somente aqueles obtidos por síntese a partir de produtos naturais, mas também os produtos comercializados como fitoterápicos. Das espécies vegetais nativas do Brasil, estima-se que não mais de 1% foi objeto de pesquisas quanto ao seu potencial uso bioeconômico. Calcula-se que no mercado mundial de medicamentos, estimado em mais de 300 bilhões de dólares anuais, aproximadamente 40% dos remédios são oriundos direta ou indiretamente de fontes naturais (sendo 75% de origem vegetal e 25% de animal e micro-organismos). Assim, as pesquisas com plantas medicinais no Brasil deveriam receber maior apoio do poder público, pois além do fator econômico, há que se destacar a importância para a segurança nacional e a preservação dos biomas, haja vista que pelo menos 300 espécies medicinais fazem parte do arsenal terapêutico da população brasileira (ALBUQUERQUE, 1989; GIULIETTI & FORERO, 1990; DIAS, 1995; RODRIGUES et al. 2008).

A procura por soluções menos impactantes para minimizar o parasitismo gastrointestinal em ruminantes nos estabelecimentos agropecuários têm se tornado o centro das discussões envolvendo a cadeia produtiva do agronegócio em todo o mundo. Horário de pastejo, rotação de piquetes, seleção de animais resistentes, cultivo de plantas menos propícia ao desenvolvimento da fase pré-parasitária e melhoria das condições nutricionais, se confirmam como as práticas mais difundidas pela pesquisa na tentativa de obter um maior êxito sanitário dos rebanhos (THOMAZ-SOCCOL, 1999). Com o mesmo propósito, têm sido apresentadas outras formas alternativas para o controle dos nematódeos gastrointestinais, como a homeopatia, o método Famacha e a fitoterapia. Essas alternativas têm gerado discussões quanto suas validações e eficácias (BALANDRIN et al. 1985; VIEIRA, 2008).

Muitas plantas são, tradicionalmente, conhecidas como possuidoras de atividade anti-helmíntica, necessitando, entretanto, que suas eficácias sejam cientificamente comprovadas. No Brasil e especialmente no Nordeste, o interesse por anti-helmínticos naturais é crescente e o efeito anti-parasitário de diversas plantas tem sido testado *in vitro* e *in vivo*, porém os resultados têm demonstrado baixa eficácia anti-helmíntica das plantas testadas e imprecisão quanto aos metabólitos secundários responsáveis pelos efeitos antiparasitários (COSTA et al. 2011).

FURTADO (2006) realizou ampla revisão sobre as espécies vegetais com atividade anti-helmíntica e enumerou 106 espécies, abrangendo 83 gêneros e 40 famílias, tendo a família das asteráceas apresentado o maior número de espécies. Nesse estudo, as partes das plantas com maiores citações de uso foram: folhas (23,6%), frutos (10,4%) e sementes com 9,4%. Plantas citadas exclusivamente como anti-helmínticas representaram 48,1% do universo registrado, dessa parcela somente 17,9% tiveram suas indicações para o tratamento das parasitoses dos animais, sendo que 16,03% apresentaram registro de comprovação clínica experimental eficaz. O estudo também mencionou que 59,4% das espécies vegetais consideradas de ação vermífida tinham relatos de toxicidade tanto de uso popular quanto experimental.

No estado do Piauí, GIRÃO (1996), baseado em informações de produtores de caprinos listou 14 espécies de plantas como possuidoras de atividade anti-helmíntica.

As espécies relacionadas foram: *Marmodica charantia* Linn. (Melão de são caetano); *Operculina hamiltonii* (G.) Dom. (Batata-de-purga); *Cucurbita pepo* Linn. (Abóbora); *Luffa operculata* Linn. (Bucha paulista); *Heliotropium indicum* Linn. (Crista de galo); *Mentha arvensis* Linn. (Hortelã); *Carica papaya* Linn. (Mamoeiro), *Chenopodium ambrosioides* Linn. (Mastruço); *Himatanthus sucuuba* Spruce. Wood. (Pau de leite e/ou Janguba); *Jatropha curcas* Linn. (Pinhão branco); *Scopalaria dulcis* Linn. (Vassourinha); *Croton* spp. (Velame); *Musa* spp. (Bananeira) e *Aristolochia triangularis* Cham. (Milome).

A fitoterapia no controle das verminoses é uma alternativa que poderá reduzir o uso de anti-helmínticos convencionais nos animais e até mesmo prolongar a vida útil dos produtos químicos disponíveis. Entretanto, ao contrário do que ocorre na Medicina Humana, estudos envolvendo a eficácia dos produtos fitoterápicos para o controle de enfermidades nos animais ainda são considerados escassos na Medicina Veterinária (VIEIRA, 2008).

OLIVEIRA et al. (1997) observaram redução da carga parasitária por nematódeos gastrintestinais em caprinos que receberam, diariamente, folhas de bananeiras (*Musa* spp.) por um período de 25 dias, quando comparados com o grupo controle. A eficácia foi de 57,1% para os gêneros *Haemonchus* spp.; 70,4% para *Oesophagostomum* spp.; 65,4% para *Trichostrongylus* spp. e de 59,5% para *Cooperia* spp.

ALMEIDA et al. (2007) avaliaram a eficácia *in vivo* do uso das folhas de *M. charantia*, do farelo de *O. hamiltonii* e do farelo da semente de *C. pepo* em infecções helmínticas de caprinos naturalmente parasitados e encontraram após 30 dias dos tratamentos redução do percentual de ovos por gramas de fezes da ordem de 94,17; 85,79 e 96,95%, respectivamente para cada grupo experimental.

RODRIGUES et al. (2007) pesquisaram sobre a sensibilidade *in vivo* de nematódeos gastrintestinais de caprinos diante de anti-helmínticos naturais na forma de extratos e observaram que o extrato aquoso de *O. hamiltonii* apresentou um percentual médio de redução (42,08%) nos OPGs dos grupos tratados. Entretanto, GOMES et al. (2010) avaliaram a ação antiparasitária *in vitro* dos extratos etanólicos de *O. hamiltonii* e

M. charantia sobre a eclosão de ovos de nematódeos gastrintestinais de caprinos e concluíram que as espécies vegetais testadas apresentaram eficácia na redução da eclodibilidade.

Os extratos vegetais de *L. operculata* e *M. charantia* nas doses de 4g/kgPC, no controle *in vivo* de nematódeos gastrintestinais de cordeiros apresentou redução média de 45,5% (*L. operculata*) e 75,9% (*M. charantia*), revelando baixa eficácia dos extratos na redução do OPG (NOGUEIRA et al. 2009).

BATATINHA et al. (2004) quando utilizaram extratos aquosos nas concentrações de 130,6 mg/mL (*Musa cavendishii* Linn.), 290 e 464mg/mL (*C. papaya*) *in vitro*, sobre culturas de larvas de nematódeos gastrintestinais de caprinos, observaram redução superior a 95% no número de larvas da superfamília Strongyloidea.

OLIVO et al. (2007), em breve revisão sobre o uso da bananeira no controle de parasitas de animais domésticos, concluíram que os resultados das pesquisas sobre o tema indicam que a planta apresenta atividade anti-helmíntica para várias espécies de animais domésticos (bovinos, caprinos, ovinos, suínos e aves). NOGUEIRA (2009) observou a efetividade das folhas de *Musa* spp. no controle de nematódeos gastrintestinais de ovinos na região Semiárida do Nordeste brasileiro e concluiu que o consumo de suas folhas pelos animais experimentais não apresentou significância no controle de nematódeos. OLIVEIRA et al. (2010) estudando a eficácia *in vitro* de resíduos da bananicultura (folhas, pseudocaules e corações) na forma de extratos aquosos sobre a inibição do desenvolvimento larval de *Haemonchus* spp. em ovinos, obtiveram efetividade de 96,9% na redução do desenvolvimento larval dos nematódeos quando os extratos apresentavam concentração igual ou superior a 75mg.mL⁻¹, concluindo que as partes da planta testadas apresentaram atividade anti-helmíntica.

FURTADO (2006) avaliou a eficácia de 35 extratos vegetais *in vitro* na redução de larvas de trichostrongilídeos em ovinos e constatou que em oito deles ocorreu atividade sobre o desenvolvimento de larvas no LPG. Duas espécies foram selecionadas para testes *in vivo*, em que *Pterocaulon interruptum* DC., na dosagem de 33,34 mg/kgPC teve baixa efetividade com 47% de redução no OPG, enquanto *Dicksonia sellowiana* Hook. na dosagem de 5000 mg/kgPC apresentou eficácia

moderada de 86% na redução de ovos por gramas de fezes (OPG) de helmintos gastrintestinais em ovinos.

DOMINGUES (2008) avaliou a atividade anti-helmíntica *in vitro* e *in vivo* do resíduo líquido de *Agave sisalana* Perr. em caprinos. No teste *in vitro* foram utilizadas as concentrações de 39,3; 51,1; 66,5; 86,5; 112,5 e 146,3 mg/mL, tendo sido observado redução na contagem de larvas de terceiro estágio (L3) para o gênero *Haemonchus* spp. de 96% (86,5 mg/mL), 98% (86,5mg/mL) e 99% (146,3 mg/mL). Para o gênero *Oesophagostomum* ssp. a concentração de 146,3 mg/mL do resíduo apresentou redução de 95%. Porém, quando utilizou a concentração de 0,96g/kg do peso corporal em teste de eficácia *in vivo* por período de tempo determinado (oito e 15 dias) não houve diminuição nos percentuais de redução do número total de ovos e larvas fecais, concluindo que o suco de *A. sisalana* apresentou efeito anti-helmíntico *in vitro*, no entanto foi insuficientemente ativo *in vivo*.

FARIA et al. (2010) em experimentação *in vitro* observaram a ação do óleo de *Carapa guianensis* Aubl. (andiroba) nas concentrações (100, 50, 30, 25 e 10%) sobre larvas de nematódeos gastrintestinais de caprinos e ovinos e obtiveram redução altamente efetiva no número de larvas totais para as três primeiras concentrações (100, 50 e 30%), com médias de eclodibilidade nulas para todos os gêneros de nematódeos nas duas espécies de animais testadas.

A utilização do extrato aquoso de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. (laranjeira-brava) em testes *in vitro* apresentou eficácia anti-helmíntica sobre strongylídeos em ovinos quando usado nas concentrações de 193,7 e 335,0 mg.mL⁻¹. Em experimentação *in vivo*, a menor concentração apresentou redução de 51% no OPG, enquanto que na maior concentração essa redução foi de 56%. Não houve efetividade para a redução do número de larvas (L3) com uso da menor concentração (193,7 mg/kgPC) e a dose de 335,0 mg/kgPC do extrato apresentou 91% de eficácia. As variáveis clínicas e bioquímicas dos animais tratados permaneceram na faixa de normalidade, e as análises histopatológicas não apresetaram alterações sugestivas de toxicidade (PENELUC, 2009).

CHAGAS & VIEIRA (2007) avaliaram a ação do Nim (*Azadirachta indica* A. Juss) em nematódeos gastrintestinais de caprinos e observaram que o extrato aquoso de folhas secas *in vitro* reduziu em 89% a eclosão das larvas de nematódeos gastrintestinais. SILVA et al. (2005) avaliaram a ação *in vivo* do extrato alcoólico de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (Capim Santo) sobre nematódeos gastrintestinais em ovinos na dose de 20mg/kgPC e observaram diferença significativa na redução do OPG, 10 dias após a administração do extrato, com redução superior a 95%.

A atividade ovicida e larvicida *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* Labill. sobre *H. contortus* foi testada por MACEDO et al. (2009) que constataram a eficácia de 99,07% na inibição larval com a concentração de 21,75 mg.mL⁻¹ e de 98,03% para a concentração de 43,5 mg.mL⁻¹. A elevada atividade ovicida e larvicida *in vitro* do óleo essencial sobre *H. contortus*, expressa o potencial da espécie vegetal para utilização em testes *in vivo* no controle de nematódeos gastrintestinais de ovinos e caprinos.

1.5 Família Apocynaceae

LIMA (2005) informa que, a família Apocynaceae, com cerca de 424 gêneros distribuídos em cinco subfamílias é uma das mais numerosas dentro das angiospermas, com 3.700 espécies distribuídas pelas regiões tropicais e subtropicais do planeta. SOEJARTO (2001) citado por RODRIGUES et al. (2010) refere-se às angiospermas como as mais promissoras para o desenvolvimento de novas drogas a partir do Reino Vegetal.

As plantas da família apocinaceae são de hábitos variados e vão desde ervas, subarbustos, árvores e trepadeiras. A maioria contém látex em laticíferos não-articulados, ramificados ou não ramificados, e habitam tanto nos campos quanto nas matas. Os constituintes químicos incluem glicosídeos cardioativos e cianogênicos, saponinas, taninos, cumarinas, ácidos fenólicos, ciclitóis e triterpenóides (JOLY, 2002). São latexcentes, com flores pentâmeras, tubulosas, gineceu bicarpelar. Os frutos são do tipo folículo, cápsula, drupa, raramente baya, sendo o tipo folículo o mais frequente;

as sementes podem ser comosas ou não, às vezes aladas ou ariladas. Os frutículos geralmente são gêmeos, ou eventualmente solitários por aborto de um dos ovários, apresentando morfologia variável entre as espécies (GOMES, 2008).

Universalmente, as características anatômicas registradas no caule das apocináceas são a presença de floema interno e laticífero. Em *Himatanthus sucuuba*, os vasos laticíferos estão sempre presentes no caule, situados no córtex, periciclo, floema, parênquima medular e algumas vezes nos raios medulares (LARROSA & DUARTE, 2005).

1.5.1 Gênero *Himatanthus* Willd. Ex. Schuld.

De acordo com LORENZI (1998) e SPINA (2004) as espécies do gênero *Himatanthus* têm sua distribuição restrita à região neotropical, ocorrendo desde o Panamá até o sudeste do Brasil, tendo como limite Sul o trópico de Capricórnio. Brasil e Bolívia concentram os maiores exemplares de espécies pertencentes ao gênero.

O gênero *Himatanthus* é representado por 13 espécies onde a maioria tem ocorrência na região amazônica, no litoral e na região Centro-Oeste do Brasil. Em território brasileiro, tem sido registradas ocorrências em vegetação de cerrado, cerradão, carrasco e campo sujo. Na região Norte os maiores contingentes tem sido verificado nos Estados do Pará, Tocantins e Roraima; no Nordeste as maiores populações estão concentradas nos Estados do Maranhão, Piauí, Alagoas, Ceará e Bahia; no Centro-Oeste há registros deste gênero nos Estados de Mato Grosso e Goiás e no Sudeste a maior ocorrência é verificada no norte do Estado de Minas Gerais (PLUMEL, 1991).

Dos metabólitos isolados de espécies do gênero *Himatanthus* tem sido registrado iridóides, alcalóides, glicosídeos flavônicos, glicosídeos cardioativos, triterpenóides e óleos essenciais (LIMA et al. 2003).

1.5.2 *Himatanthus drasticus*

Botanicamente, *H. drasticus* é uma árvore latescente, apresentando folhas pecioladas, glabras, carnosas e muito grandes. Suas flores são campanuladas, grandes, brancas, dispostas em cimas terminais. Seus frutos são curvados como chifres e possuem numerosas sementes aladas, disseminadas pelo vento (PLUMEL, 1991; LORENZI, 1998).

A espécie é nativa, com área de abrangência que se estende das Guianas até a Bahia. Em território brasileiro, tem maior freqüência na Floresta Nacional do Araripe, Ceará. Ocorrem também outras espécies do gênero *Himatanthus*, sendo referenciadas como medicinais: *H. succuba*, a “sucuba” da Amazônia e *H. phagedaenicus*, a “agoniada” do Sudeste brasileiro e *Plumeria rubra* (LORENZI & MATOS 2008).

SPINA (2004) e RAPINI et al. (2010) referem-se à ocorrência da espécie *H. drasticus* nos Estados de Minas Gerais, Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Ceará, Paraíba, Piauí, Pará, Roraima e Maranhão. Nesse último estado é conhecida popularmente com a denominação de Janaúba.

1.5.3 Aspectos botânicos da Janaúba

A Janaúba é uma planta arbórea que pode atingir altura superior a 7m, com folhagem densa nas extremidades dos ramos, folhas obovais, subcoreáceas, brilhantes, glabras, verde escuro, com ápice arredondado a obtuso e pecíolos curtos. Possui flores brancas, aromáticas, fruto tipo folículo, em forma de chifre, medindo entre 15 e 20 cm de comprimento por 2,5 cm de largura e sementes com alas concêntricas. A casca é rugosa e exsuda látex branco (Figura 1) bastante utilizado na medicina popular, principalmente pelos habitantes das regiões de ocorrência da espécie (LORENZI & MATOS 2008).

AMARO et al. (2006) referem-se a outras denominações regionais da planta: pau santo, jaraúba, tiborno, iborna pelos sertanejos; tiborna, raivosa e jasmim-manga em

Minas Gerais e Bahia; pau-de-leite no Piauí; Joana-guba no Rio grande do Norte e sucuba na Amazônia.

No Maranhão, a espécie é nativa de vários biomas, tendo sua abrangência desde áreas de cerrados, estendendo-se até o litoral. Estudos conduzidos por MONTELES & PINHEIRO (2007) sobre o uso de plantas medicinais em comunidades quilombolas do município de Presidente Juscelino, revelaram a importância de janaúba como uma das principais espécies vegetais de uso medicinal pelas comunidades que utilizam o látex para fins medicinais, especialmente para afecções do aparelho digestivo.

LINHARES (2010) relata que o nome janaúba é a denominação popular mais conhecida das espécies pertencentes ao gênero *Himatanthus* de ocorrência no Estado do Maranhão. Essa constatação do nome popular da planta tem apoio nas informações obtidas junto aos feirantes que comercializam plantas medicinais nos principais mercados e feiras de São Luis-MA, tais como: Mercado da Praia Grande, Mercado Central, Mercado do São Cristovão, Feira do João Paulo e Feira da COHAB, bem como dos moradores do município de Alcântara, reconhecidos pela tradição secular de extração do “leite de Janaúba” como medicinal.

No município de Alcântara, litoral norte do Estado do Maranhão, a comercialização do “leite de Janaúba” representa importante suporte de renda familiar para as comunidades rurais. A venda do produto nas comunidades ocorre de duas maneiras: a) diretamente ao consumidor, geralmente sob encomenda, e na maioria das vezes a venda acontece entre os próprios moradores da comunidade e/ou do município; b) comercialização direta com terceiros (atravessadores) que compram o látex em quantidades maiores, e revendem a feirantes dos mercados da capital (LINHARES, 2010).

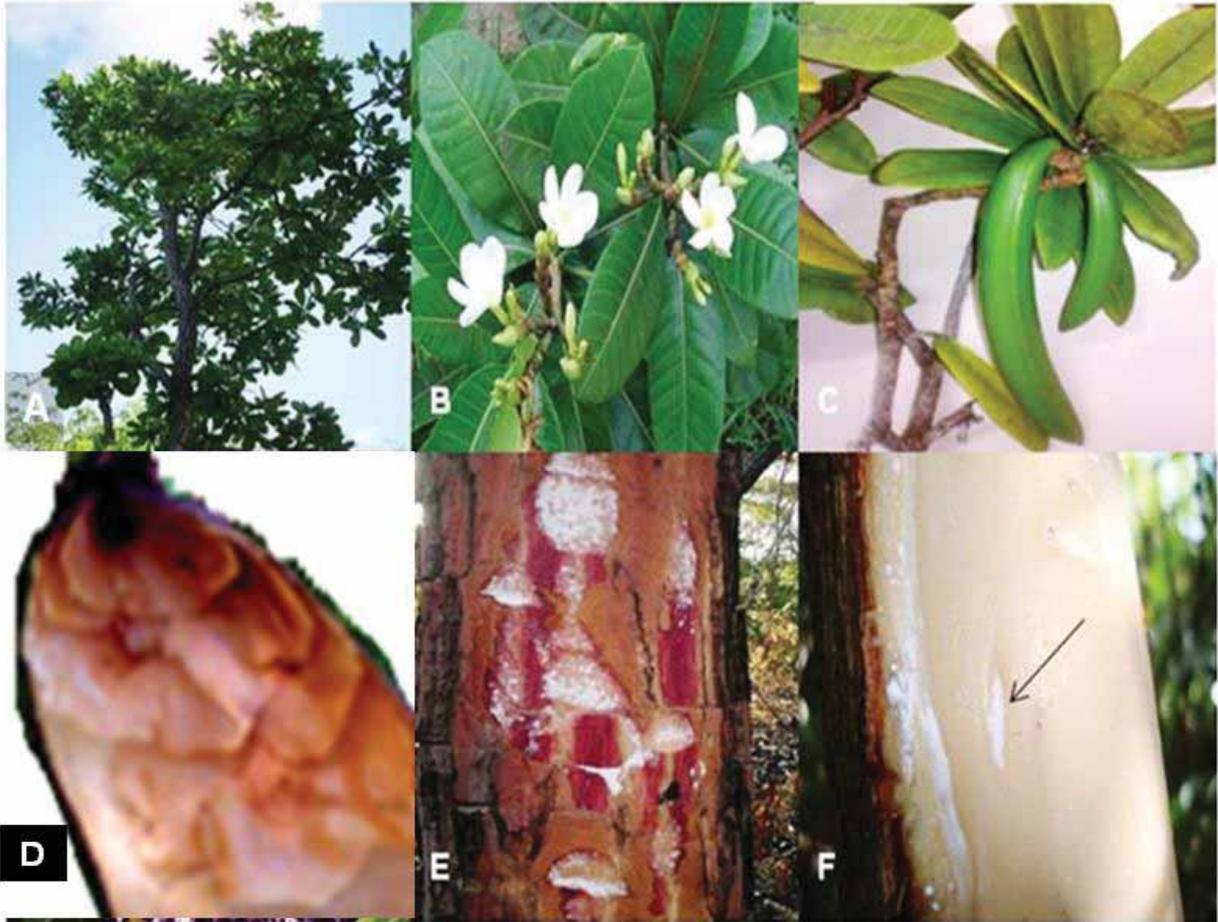


Figura 1. Aspectos de morfologia da janaúba: A) estrutura da copa de árvore adulta; B) folhas e flores; C) frutos; D) sementes aderidas à casca do fruto; E) córtex e exsudação do látex; F) poro laticífero (seta).

No Nordeste do Brasil a utilização do látex diluído em água como medicamento é comercializado com várias indicações na medicina popular que vai desde a cura de neoplasias malignas até seu uso como purgativo e febrífugo. Dentre as várias propriedades medicinais de uso, destacam-se: vermicida, antitérmico, infertilidade feminina, úlcera gástrica, câncer de pulmão e linfático, ferida maligna, hérnias, hemorróidas, luxação de articulação, inflamação e herpes. A casca, o látex e o suco são as partes da planta utilizadas para fins medicinais (LIMA, 2005; LORENZI & MATOS 2008; LINHARES, 2010).

1.5.4 Aspectos fitoquímicos de *Himatanthus* spp.

Os compostos do metabolismo secundário vegetal ou metabolismo especial apresentam um amplo valor nas interações entre a planta e seu ecossistema exercendo o papel de fagoinibidores contra herbívoros e patógenos. As concentrações na planta variam intensamente no decorrer de 24 horas (SANT'ANA et al. 2002 citado por MONTEIRO et al. 2005). De acordo com RAVEN et al. (1996) as três principais classes e compostos vegetais secundários são: os alcalóides (morfina, cafeína, cocaína, nicotina e atropina), os terpenóides (óleos essenciais, taxol, borracha e glicosídeos cardioativos) e os compostos fenólicos (flavonóides, taninos, ligninas e ácido salicílico).

A “sabedoria popular” muitas vezes tem indicado que determinadas plantas podem ser utilizadas na fitoterapia. De fato, pesquisas têm comprovado a ação medicinal dessas plantas, ao mesmo tempo em que manifestam reações tóxicas no organismo hospedeiro. A relação entre ação da planta/dosificação com ação significativa e efeito tóxico, deve ser bem investigada, para que os conhecimentos adquiridos sejam repassados de forma clara e seguras no momento da utilização prática do fitoterápico (CHAGAS, 2004).

Estudos com o gênero *Himatanthus* revelaram a presença de depsídeos, terpenos e iridóides. Dentre os iridóides, foram encontrados a fulvoplumerina, isoplumerina e plumericina, de comprovada ação antineoplásica, antiflogística e antimicrobiana (COLARES, 2008).

SILVA et al. (2010) realizaram triagem fitoquímica em plantas de Cerrado do município de Caxias, Maranhão por meio dos métodos de Prospecção Preliminar (PP) e Cromatografia em Camada Delgada (CCD), tendo sido registrado a presença de metabólitos secundários para as classes de alcalóides, flavonóides, terpenos, esteróides, taninos e saponinas nas folhas e cascas de *H. obouvatus*. Com o mesmo propósito, estudos fitoquímicos do extrato metanólico das folhas e do látex de *H. drasticus* foram realizados por SOUSA et al. (2010) e demonstraram a presença de flavonóides (quercitina e rutina), taninos (proantocianidinas e leucoantocianidinas condensadas) e terpenos.

RODRIGUES et al. (2010) avaliaram o perfil farmacológico e fitoquímico do extrato hidroalcoólico das cascas e folhas de *H. sucuba* (Sucuba) por meio de técnicas cromatográficas e detectaram a presença dos compostos fenólicos flavonóides, taninos, iridóides e triterpenóides.

• Taninos

Taninos vegetais são compostos fenólicos solúveis em água, de grande interesse econômico e ecológico com as propriedades de precipitarem proteínas, gelatinas e alcalóides (CARVALHO et al. 2011).

O termo “tanino” tem origem na antiguidade e foi usado para definir o princípio adstringente isolado da casca do carvalho que possuía a propriedade de evitar que a pele dos animais entrasse em decomposição, sendo transformadas em couro. Esse conhecimento tem sido reconhecido e divulgado na literatura científica, referindo-se especialmente àquelas plantas relacionadas à manufatura de couros (CARVALHO et al. 2008).

Os taninos compreendem um grande grupo de substâncias complexas muito disseminadas no reino vegetal. Em quase todas as famílias botânicas há espécies com essa substância. Quando em grande quantidade no vegetal se localizam em determinados órgãos da planta como folhas, frutos e córtex. Com base na identidade dos núcleos fenólicos e na forma como se unem, os taninos são divididos em duas classes químicas: hidrolisáveis, compreendem o grupo que produz ácidos fenólicos e açúcar quando hidrolisados; condensados, refere-se à classe de taninos que precipitam proteínas, combinando-se a elas, tornando-as resistentes a ação das enzimas proteolíticas (ROBBERS et al. 1997).

Espécies vegetais ricas em taninos têm sido prescritas na medicina popular para as mais diversas implicações: hipertensão, diarreias, feridas, inflamações, queimaduras, problemas gástricos e renais (BRUNETON, 1991).

Dentre as hipóteses referentes ao mecanismo de ação antimicrobiana dos taninos, é provável que, devido a capacidade de atuação sobre membranas, complexar

com íons metálicos e inibição enzimática, também promovam modificações no metabolismo celular, gerando como consequência, diminuição no metabolismo dos microorganismos (MELLO & SANTOS, 2002).

As implicações terapêuticas de drogas contendo taninos estão relacionadas, principalmente, com suas propriedades adstringentes. Quando ingerido exercem efeito antidiarréico e anti-séptico e por via externa impermeabilizam as camadas mais expostas da pele e mucosas, protegendo as camadas subjacentes. Ao precipitar proteínas os taninos propiciam um efeito antimicrobiano e antifúngico. O complexo tanino-proteína forma camada protetora nos processos de cura de feridas, queimaduras e inflamações. Por precipitarem alcalóides, os taninos podem servir como antídoto em casos de intoxicação (BRUNETON, 1991).

Taninos condensados ligam-se às proteínas da dieta formando complexos (tanino-proteína), proporcionando que proteínas de maior valor biológico não sejam degradadas e utilizadas pela flora bacteriana ruminal, sendo estes complexos dissociados no intestino delgado, local de absorção dos aminoácidos (MINHO, 2006).

Atividades biológicas dos taninos polifenóis têm sido evidenciadas em teste *in vitro*. HASLAM (1996) relata ação bactericida, moluscicida, anti-helmíntica, anti-tumorais, anti-hepatotóxica, inibição de enzimas e da replicação do HIV.

O principal fator relacionado ao mecanismo de ação dos taninos relaciona-se às suas propriedades físico-químicas, em particular a sua adstringência, isto é, capacidade de precipitar proteínas na camada superficial da mucosa, a qual pode induzir a formação de complexos com enzimas e substratos, inativando-os (HASLAM, 1996). A adstringência explica a redução da virulência de muitas cepas virais na presença de taninos. Vários taninos hidrolisáveis têm mostrado capacidade de impedir a adsorção do HIV às células do hospedeiro.

Taninos condensados e hidrolisáveis são descritos na literatura como prováveis possuidores de atividade anti-helmíntica (COSTA et al. 2002). A ciência, através da experimentação tem buscado associar resultados à prática dessas indicações.

A atividade biológica dos taninos evidenciou importante ação contra determinados microorganismos, mas também como agentes carcinogênicos e

causadores de toxicidade hepática. Estes últimos efeitos, sem dúvida dependem da dose e do tipo de tanino envolvido, haja vista que a ingestão de dietas ricas em frutas que contém taninos, tem sido associada com atividade anticarcinogênica (MONTEIRO et al. 2005).

MINHO (2006) verificou efetividade *in vivo* na redução do OPG de ovinos naturalmente infectados por *H. contortus* e *T. colubriformis* com extrato aquoso das folhas de *Acacia mearnsii* De Willd. apresentando 15% de taninos condensados, administrado na dose de 1,6g/kgPC. Do mesmo modo, COSTA et al. (2008) identificaram na fração etanólica do extrato hexânico obtido das sementes de *Mangifera indica* valores expressivos de taninos condensados e hidrolisáveis em menor quantidade, além de triterpenos e saponinas. O extrato hexânico, na concentração de 50 mg/mL, foi avaliado no teste de eclosão *in vitro* sobre ovos de *H. contortus* e apresentou 95,6% de inibição. O efeito dos taninos sobre os parasitos seria evidenciado com mais precisão quando as fontes de taninos são suplementadas às dietas com baixa concentração protéica (BUTTER et al. 2000).

ATHANASIADOU et al. (2001) citado por MINHO (2006) verificaram o efeito dos taninos condensados sobre nematódeos gastrintestinais de ovinos quando forneceram aos animais dietas com níveis de 4, 8 e 16% do extrato de quebracho, concluíram que os animais que ingeriram dieta com 8% do extrato reduziram ($p < 0,05$) o nível de parasitismo intestinal, quando administrados aos ovinos por três dias consecutivos. Os mecanismos que buscam explicar a ação anti-helmíntica dos taninos condensados repousam sobre duas hipóteses: a primeira é o efeito direto sobre larvas infectantes (L3) e parasitos adultos, com a diminuição da fecundidade das fêmeas. A segunda hipótese sugere o efeito indireto dos taninos condensados que, ao melhorar a utilização protéica pelo hospedeiro, gera em conseqüência, uma melhor resposta imunológica deste aos parasitos.

ROMERO et al. (2009) estudaram os efeitos antiparasitários dos extratos etanólicos e etéreos das folhas e frutos de *Ficus obtusifolia* Kunth. sobre *Toxocara cati* e *Toxocara canis*. O extrato dos frutos apresentou elevada eficácia sobre os parasitos adultos e maior inibição larval dos ovos de *T. canis*. A atividade anti-helmíntica foi

atribuída à elevada concentração de taninos nos frutos e também nas folhas da espécie vegetal, haja vista que os taninos interagem com as glioproteínas da membrana do parasito causando paralisia e morte.

SANDEEP et al. (2009) avaliaram a atividade anti-helmíntica *in vitro* de *Euphorbia thymifolia* Linn. na forma de extratos aquoso e metanólico em três concentrações (10, 50 e 100 mg/mL) sobre os nematódeos *Pheretima posthuma* e *Ascardia galli*, tendo sido observado paralisia e morte dose-dependente dos parasitos em intervalos de 8,6 a 33,3 minutos. A fitoquímica da planta mostrou a presença de triterpenos, alcalóides, flavonóides, esteróides, taninos e saponinas. É possível que os taninos contidos nos extratos tenham promovido efeitos nos parasitos semelhantes ao da droga utilizada como controle positivo (piperazina) que em contato com a membrana muscular do parasito produz uma polarização de íons cloreto, reduzindo a excitabilidade, induzindo ao relaxamento muscular e paralisia flácida. Pela habilidade dos taninos em unirem-se às proteínas livres no trato gastrointestinal do animal, estes também podem agir sobre as glicoproteínas da cutícula membranosa do parasito causando paralisia e morte.

Embora a realização de pesquisas, sob diferentes abordagens com teores de taninos, a associação dessas informações com o aproveitamento de plantas medicinais ainda é considerada escassa e mais estudos estão em andamento para detectar os possíveis fitoconstituintes responsáveis pelas atividades naturais de espécies vegetais (SANDEEP et al. 2009).

- **Saponinas**

As saponinas são glicosídeos de esteróides ou de terpenos policíclicos, amplamente distribuídos em vegetais superiores. Cada um consiste de uma sapogenina como molécula de aglicônio e um açúcar. A sapogenina pode ser um esteróide ou um triterpeno e o açúcar uma glucose, galactose, pentose ou uma metilpentose. Possuem características hidrofílica/hidrofóbica com capacidade de diminuir a tensão superficial da água formando espuma quando agitadas (WALLACE, 2004).

Saponinas apresentam várias propriedades biológicas sobre membranas celulares e são potentes hemolíticos quando injetados na corrente sanguínea. Associadas a essa ação estão ainda suas atividades, moluscicida, antiviral, antiinflamatória redução da taxa de colesterol e triglicérides sanguíneos, efeito imunogênico, redução da produção de amônia e controle de parasitas (FRANCIS et al. 2002). A ingestão excessiva de vegetais ricos em saponinas poderá promover efeitos de toxicidade através da hemólise e redução na ingestão de alimentos, esse último efeito em decorrência da diminuição do peristaltismo intestinal (JACKSON & MILLER, 2006). As saponinas apresentam ação sobre membranas celulares alterando a permeabilidade, ou causando diminuição. Esta propriedade, provavelmente é fundamental para o desenvolvimento da atividade antimicrobiana ao determinar formação de complexos com a membrana celular do parasita. Saponinas triterpênicas isoladas dos frutos de *Phytolacca decandra* Linn. apresentaram alta atividade moluscicida, assumindo condições favoráveis e promissoras para eficiente utilização antiesquistossomose (BRAZ FILHO, 2010).

A atividade anti-helmíntica dos extratos de *Sarothamnus scoparius* Koch. e *Lupinus ballianus* C.P. Sm. foi testada frente à oxiuriose em humanos (*Aspiculuris tetraptera* e *Syphacia obvelata*) tendo sido comprovada a eficácia superior a 60%. A fitoquímica das duas espécies vegetais explicitou a presença de alcalóides, flavonóides, taninos, saponinas, esteróides, triterpenos, antraquinonas, cumarinas, cardiotônicos e sesquiterpenlactonas (SALAZAR et al. 2008).

• Alcalóides

Os alcalóides são compostos nitrogenados farmacologicamente ativos, com predominância em angiospermas, podendo ser encontrados em todas as partes do vegetal, contudo em um ou mais órgãos haverá maior acúmulo dessa substância.

A variedade natural dos alcalóides possibilita um amplo espectro de atividades biológicas, inclusive, anti-helmíntica. SHOOP et al. (1992) utilizaram o alcalóide Paraherquamida extraído do *Penicillium paraherquei*, nas doses de 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0

mg/kg para o tratamento anti-helmíntico em bovinos e observaram que nas doses de 1,0 a 4,0 mg/kg houve a eliminação de 89 - 95% dos parasitos, dentre os quais, *Trichostrongylus axei*, *Haemonchus placei*, *Ostertagia ostertagi*, *Oesophagostomum radiatum*, *Cooperia punctata*, *Dictyocaulus viviparus* e *Nematodirus helvetianus*.

GILL & LACEY (1993) avaliaram a atividade *in vitro* do alcalóide Paraherquamida nas concentrações de 0,033; 0,058 e 2,7µg/mL e obtiveram 50% de mortalidade para larvas de terceiro estágio (L3) de *Ostertagia circumcincta*, *T. colubriformis* e *H. contortus* após 72 horas de exposição. A eficácia da droga na dose de 2,0 mg/kg sobre nematódeos gastrintestinais de ovinos foi de 98% com ação significativa sobre *H. contortus*, *T. axei*, *T. colubriformis*, *O. circumcincta* e *C. curticei* (SHOOP et al. 1990).

- **Flavonóides, triterpenos, esteróides e cumarinas**

Abrange um grupo de compostos polifenólicos com mais de 6.000 compostos (flavonas, flavanonas, flavonois, isoflavonas, luteolina) amplamente distribuídos no reino vegetal e estão intimamente relacionados aos processos fisiológicos da planta, tais como regulação do crescimento, mecanismo de proteção frente a patógenos e radiação solar.

Os flavonóides existem naturalmente numa grande variedade de alimentos de origem vegetal como frutas, sementes, flores e folhas. Suas atividades biológicas estão relacionadas à capacidade de atuar como antiinflamatórios, imunomoduladores, antivirais, bactericidas, hepatoprotetores, antiparasitários e antioxidantes (CORRÊA et al. 2008).

A atividade anti-helmíntica de raízes de *Andira anthelmia* (Vell.) Macbr. (Angelim) foi investigada em camundongos naturalmente infectados por *Aspiculuris tetraptera*. Os compostos isolados, quando administrados nos animais por via intragástrica na dose de 2,0 mg.kg⁻¹ durante três dias consecutivos, apresentaram percentuais significativos na eliminação do agente infeccioso, quando comparados com os resultados do grupo controle. A atividade antiparasitária foi atribuída à presença de flavonóides glicosídicos nos infusos. Porém, devido à alta toxidez as infusões de *A. anthelmia* devem ser

recomendadas com certa precaução, sendo necessárias avaliações toxicológicas para seu uso popular como um vermífico alternativo (SILVA et al. 2008).

Os limonóides, também conhecidos como meliacinas apresentam maior atividade biológica inseticida, o seu processo biossintético em plantas tem como precursor os triterpenos. A família Meliaceae apresenta uma grande diversidade de limonóides, dentre eles a azadiractina é o principal composto. Além desta, outros compostos bioativos isolados de *A. indica* podem exercer múltiplas ações afetando a alimentação, crescimento e desenvolvimento de patógenos e seus vetores (SIMÕES et al. 2007).

A espécie vegetal *Morus alba* var. cubana apresentou atividade anti-helmíntica *in vitro* quando seis tipos de extratos obtidos das folhas, pecíolos e talos foram testados frente a larvas de terceiro estágio (L3) dos gêneros *Trichostrongylus* spp. e *Haemonchus* spp. (GARCÍA et al. 2005). A eficácia larvívica foi superior a 80%, tendo sido registrada maior atividade dos extratos nos primeiros 15 minutos, ação atribuída à presença dos polifenóis flavonóides (Quercitina e Rutina), cumarinas (Umbeliferona) e fenóis simples (Resveratrol).

1.6 Uso medicinal de *Himatanthus* spp.

Estudos conduzidos por MAGALHÃES (2006) em comunidades que habitam a reserva natural da Serra das Almas entre os estados do Ceará e Piauí, constataram que a janaúba estar entre as 61 espécies de plantas medicinais utilizadas pelas comunidades com fins terapêuticos nas seguintes indicações: inflamações, câncer, problemas digestivos, gástricos e hepáticos, cicatrização e vermífico.

COLARES et al. (2008) avaliaram o efeito gastroprotetor do látex de *H. drasticus* nas doses de 0,2 e 0,4mL/10g/PC em modelos experimentais com camundongos e concluíram que o látex suprimiu as erosões hemorrágicas e o aparecimento de lesões na mucosa gástrica, apresentando atividade antiulcerogênica.

SOUSA et al. (2010) investigaram a atividade antitumoral do extrato bruto metanólico das folhas de *H. drasticus* frente ao modelo experimental Sarcoma 180 e confirmaram atividade antineoplásica com inibição tumoral significativa em relação ao

grupo controle nas doses de 300 e 400 mg/kgPC com percentual de inibição de 67,7 e 68%, respectivamente. Na dose de 200 mg/kgPC, o percentual de inibição foi de 32,8%. O mesmo estudo destaca que o extrato quando administrado via oral em camundongos, apresentou baixa toxicidade nas doses testadas (50, 300 e 2000 mg/kgPC), porém a análise histopatológica apresentou alterações hepática, pulmonar, esplênica e renal.

GUERRA & PETERS (1991) estudaram a toxicidade reprodutiva e teratogênica do extrato da casca e do látex de *Himatanthus sucuuba* em ratas tendo verificado baixa toxicidade, indicando que o consumo medicinal pela espécie humana para os tratamentos de gastrite e hemorróidas é seguro.

FERNANDES et al. (2000) citado por LIMA (2005) testaram a toxicidade aguda do látex e do extrato aquoso da casca da *H. sucuuba* em camundongos. Os resultados obtidos nos modelos experimentais sugerem que existe uma boa margem de segurança para o emprego de *H. sucuuba* nas indicações da medicina popular.

Ensaio *in vitro* realizados por LIMA et al. (2009) com extrato bruto aquoso (EBA) de *Himatanthus* spp. nas concentrações de 20, 25 e 30% sobre a eclodibilidade de ovos de nematódeos gastrintestinais em ovinos, apresentaram resultados de eficácia superior a 95%, indicando que a planta apresenta substâncias bioativas para o controle de helmintos.

SILVA (2010) testou a atividade *in vitro* do extrato bruto aquoso de *Himatanthus* spp. nas concentrações de 10, 20 e 30% sobre nematódeos gastrintestinais de eqüinos da raça baixadeira e verificou inibição de larvas superior a 95%, sendo que a maior concentração apresentou eclodibilidade nula para todos os gêneros de helmintos.

Com a persistência da resistência aos anti-helmínticos convencionais e a tendência observada nos últimos anos de mudanças para sistemas orgânicos de produção, tornam necessárias as buscas por alternativas para a redução ou até a eliminação das drogas anti-helmínticas no controle parasitário (ATHANASIADOU et al. 2000 citado por MINHO, 2006).

Tendo em vista a limitação de informações consistentes na literatura sobre as propriedades anti-helmíntica do gênero *Himatanthus*, ao mesmo tempo em que a

“sabedoria popular” enfatiza seus efeitos benéficos no tratamento das verminoses em animais de criação. O presente estudo teve como:

2. OBJETIVO GERAL

- Avaliar a atividade anti-helmíntica do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de *Himatanthus* spp. (Janaúba) como alternativa no controle de nematódeos na espécie ovina, e ao mesmo tempo contribuir com a geração de informações sobre o uso do vegetal no tratamento das parasitoses gastrintestinais em pequenos ruminantes.

2.1 Objetivos específicos

- Identificação etnobotânica da janaúba.
- Obtenção do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA).
- Caracterização da composição química dos nutrientes da casca e identificação dos metabólitos secundários presentes no EBHA e subextratos do vegetal.
- Avaliação do perfil toxicológico do EBHA, por meio dos testes de toxicidade aguda, atividade hemolítica.
- Testar a atividade anti-helmíntica ovicida *in vitro* e *in vivo* do EBHA sobre nematódeos gastrintestinais em ovinos naturalmente infectados.
- Avaliação clínica e necroscópica, por meio de exames bioquímico, eritrograma e histopatológico para averiguação da ação do EBHA sobre as atividades e funções orgânicas nos animais tratados.

REFERÊNCIAS

ADANS, D. B. Changes in blood leukocytes, bone marrow and lymphoid organs in sheep infected with *Haemonchus contortus*. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v.11, n. 4, p. 309-317, 1981.

AHID, S. M. M.; CAVALCANTE, M. D. A.; BEZERRA, A. C. D. S.; SOARES, H. S.; PEREIRA, R. H. M. A. Eficácia anti-helmíntica em rebanho caprino no Estado de Alagoas, Brasil. **Acta Veterinária Brasílica**, Mossoró, RN, v.1, n. 2, p. 56-59, 2007.

ALBUQUERQUE, J. M. **Plantas medicinais de uso popular**. Brasília, DF: ABEAS/MEC. 1989. 96p.

ALMEIDA, M. A. O.; SIMAS, M. M. S.; BOTURA, M. B.; BITTENCOURT, T. C. B. S. C.; SILVA, A.; BATATINHA, M. J. M. Avaliação *in vitro* dos efeitos do extrato alcoólico e do suco de alho (*Allium sativum* L.) sobre nematódeos gastrintestinais de caprinos. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife, PE, v. 7, n. 1, p. 36-43, 2004.

ALMEIDA, W. V. F.; SILVA, M. L. C. R.; BOTURA, M. B.; FARIAS, E. B.; ATHAYDE, A. C.R.; SILVA, W.W. Avaliação de plantas medicinais em caprinos da região do Semi-árido Paraibano naturalmente infectados por nematóides gastrintestinais. **Caatinga**, Mossoró, RN, v. 20, n. 3, p. 1-07, 2007.

AMARANTE, A. F. T.; BARBOSA, M. A.; OLIVEIRA, M. A. G.; CARMELO, M. J.; PADOVANI, C. R. Efeito da administração de oxfendazol, ivermectina e levamisol sobre os exames coproparasitológicos de ovinos. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 31-38, 1992.

AMARO, M. S.; MEDEIROS FILHO, S.; GUIMARÃES, R. M.; TEÓFILO, E. Morfologia de frutos, sementes e de plântulas de janaguba (*Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel.

- Apocynaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 28, n. 1, p. 63-71, 2006.
- AROSEMENA, N. A. E.; BEVILAQUA, C. M. L.; MELO, A. C. F. L.; GIRÃO, M. D. Seasonal variations of gastrointestinal nematodes in sheep and goats from semi-arid area in Brazil. **Revue Medecine Veterinaire**, v. 150, n. 11, p.873-876, 1999.
- BALANDRIN, M. F.; KLOCKE, J. A.; WURTELE, E. S.; BOLLINGER, W. H. Natural plant chemicals: Sources of industrial and medical materials. **Science**, Washington DC. v. 228, n. 4704, p. 1154-1160, 1985.
- BARRETO, M. A.; ALMEIDA, M. A. O.; SILVA, A. SILVA, L. E. B.; BITENCUR, C. P. Eficácia anti-helmíntica do levamisole, albendazole e ivermectina em ovinos na região semi-árida da Bahia. In: COCONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 14.; SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKETTSIOSES, 2., 2006. Ribeirão Preto. **Resumos...** Ribeirão Preto: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2006. p. 226.
- BATATINHA, M. J. M.; SANTOS, M. M.; BOTURRA, M. B.; ALMEIDA, G. M.; DOMINGUES, L. F.; ALMEIDA, M. A. O. Efeitos *in vitro* dos extratos de folhas de *Musa cavendishii* Linn. e de sementes de *Carica papaya* Linn. sobre culturas de larvas de nematódeos gastrintestinais de caprinos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, SP, v. 7, n. 1, p. 11-15, 2004.
- BRAZ FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Quimica Nova**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.
- BRUNETON, J. **Elementos de fitoquímica y de farmacognosia**. Zaragoza: Acribia, AS, 1991. 594 p.

BUTTER, N. L.; DAWSON, J. M.; WAKELIN, D.; BUTTERY, P. J. Effect of dietary tannin and protein concentration on nematode infection (*Trichostrongylus colubriformis*) in lambs. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 134, n. 1, p. 89-99, 2000.

CARVALHO, R. A.; LACERDA, J. T.; OLIVEIRA, E. F.; SANTOS, E. S. **Extratos de plantas medicinais como estratégia para o controle de doenças fúngicas do inhame (*Dioscorea sp.*) no Nordeste, 2011**. Disponível em: <www.emepa.org.br>. Acesso em: 20 mai. 2011.

CEZAR, A. S.; CATTO, J. B.; BIANCHIN, I. Controle alternativo de nematódeos gastrintestinais dos ruminantes: atualidade e perspectivas. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 38, n. 7, p. 2083-2091, 2008.

CHAGAS, A. C. S. Controle de parasitos utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v.13, supl. 1, p.156-160, 2004.

CHAGAS, A. C. S.; VIEIRA, L. S. Ação da *Azadirachta indica* (Neem) em nematódeos gastrintestinais de caprinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 44, n. 1, p. 49-55, 2007.

CHARLES, T. P.; POMPEU, J.; MIRANDA, D. B. Efficacy of three broad-spectrum anthelmintics against gastrointestinal nematode infections of goats. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 34, n. 1-2, p. 71-75, 1989.

COLARES, A. V.; CORDEIRO, L. N.; COSTA, J. G. M.; CARDOSO, A. H.; CAMPOS, A. R. Efeito gastroprotetor do látex de *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel (Janaguba). **Infarma**, Brasília, DF, v. 20, n. 11-12, p. 34-36, 2008.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Indicadores da Agropecuária 2008**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 12 mai. 2011.

CONDER, R. G. E.; CAMPBELL, W. C. Chemotherapy of nematode infections of veterinary importance, with special reference to drug resistance. **Advances in Parasitology**, London, v. 35, p. 1-83, 1995.

CORRÊA, M. F. P.; MELO, G. O.; COSTA, S. S. Substâncias de origem vegetal potencialmente úteis na terapia da asma. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, PB, v. 18 Supl., 785-797, 2008.

COSTA JÚNIOR, G. S.; MENDONÇA, I. L.; CAMPELO, J. E. G.; CHAVES, R. M. Efeito de vermifugação estratégica, com princípio ativo à base de ivermectina na incidência de parasitos gastrintestinais no rebanho caprino da UFPI. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, GO, v. 6, n. 4, p. 279-286, 2005.

COSTA, C. A. F.; VIEIRA, L. S. **Controle de nematóides gastrintestinais de caprinos e ovinos do estado do Ceará**. Sobral. Embrapa-CNPC, 1984. 6 p. (Comunicado Técnico, 13).

COSTA, C. A. F.; VIEIRA, L. S. Ectoparasito permanente de caprinos e ovinos em Sobral – CE. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, DF, v. 19, n. 5, p. 639-646, 1984.

COSTA, C. T. C.; BEVILAQUA, C. M. L.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; MACIEL, M. V.; MORAIS, S. M.; CASTRO, C. M. S.; BRAGA, R. R.; OLIVEIRA, L. M. B. In vitro ovicidal and larvicidal activity of *Azadirachta indica* extracts on *Haemonchus contortus*. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 74, n. 1, p. 284-287, 2008.

COSTA, C. T. C.; MORAIS, S. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; SOUSA, M. M. C.; LEITE, F. K. A. Efeitos ovicida de extratos de sementes de *Mangifera indica* L. Sobre *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 11, n. 2, p. 57-60, 2002.

COSTA, V. M. M.; SIMÕES, S. V. D.; RIET-CORREA, F. Controle das parasitoses em ovinos e caprinos na região semi-árida do Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 31, n. 1, p. 65-71, jan. 2011.

CUNHA FILHO, L. F. C.; PEREIRA, A. B. L.; YAHAMAMURA, M. H. Resistência a anti-helmínticos em ovinos da região de Londrina – Paraná – Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, PR, v. 19, n. 1, p. 31-37, mar. 1998.

DIAS, T. A. Medicinal plants in Brazil. **Newsletter**, Brasília, n. 7-8, p. 4-5, 1995.

DOMINGUES, L. F. **Avaliação da atividade anti-helmíntica do resíduo líquido de *Agave sisalana* Perrine (sisal) em caprinos**. 2008. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2008.

ECHEVARRIA, F. A. M.; BORBA, M. F. S.; PINHEIRO, A. C.; WALLER, P. J.; HANSEN, J. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in southern Latin America: Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 62, n. 3-4, p. 199-206, 1996.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **A evolução da caprino-ovinocultura brasileira, 2010**. Disponível em: <<http://www.cnpc.embrapa.br/artigos8.htm>>. Acesso em: 10 maio 2011.

EURICO, A. S. M.; BIANCHIN, I.; SILVA, K. F.; CATTO, B. C.; HONER, M. R.; PAIVA, F. Resistência anti-helmíntica de nematóides gastrintestinal em ovinos, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira** Seropédica, RJ, v. 30, n. 3, p. 229-236, 2010.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The World Agricultural Production, 2008**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 11 maio 2011.

FARIA, M. P. O.; TEIXEIRA, W. C.; WANDERLEY, A. G.; ALVES, L. C.; FAUSTINO, M. A. G. Avaliação *in vitro* dos efeitos do óleo da semente de *Carapa guianensis* Aub. sobre larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos e ovinos. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botucatu, SP, v. 12, n. 2, p. 220-226, 2010.

FERNANDES, L. H.; SENO, M. C. Z.; AMARANTE A. F. T.; SOUZA, H.; BELLUZZO C. E. C. Efeito do pastejo rotacionado e alternado com bovinos adultos no controle da verminose em ovelhas. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, MG, v. 56, n. 6, p. 733-740, 2004.

FORBES, A. B. Sub-clinical parasitism in spring-born, beef suckler calves: epidemiology and impact on growth performance during the first grazing season. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, n. 4, v. 104, p. 339-344, 2002.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. 3ª ed. São Paulo: Ícone, 1997. p. 315-322.

FOX, M.T. Pathophysiology of infection with nematodes in domestic ruminants: recent developments. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 72, n. 3-4, p. 285-308, 1997.

FRANÇA, O. O.; BROWN, R. T.; SANTOS, C. A. M. Uleine and emethoxyaspidospermine from the bark of *Plumeria lancifolia*. **Fitoterapia**, Milan, v. 71, n. 2, p. 208-210, 2000.

FRANCIS, G.; KEREM, Z.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. The biological action of saponins in animal systems: review. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 88, n. 6, p. 587-605, 2002.

FURTADO, S. K. **Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no Estado do Paraná: Testes *in vitro* e *in vivo***. 2006 147f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

GARCÍA, D. E.; SOCA, M.; MEDINA, M. G. Acción antihelmíntica de seis extratos de morera en la viabilidad de larvas infestantes (L₃) de nemátodos gastrointestinales. **Pastos y Forrajes**, Matanzas, v. 28, n 4, p. 319-328, 2005.

GILL, J. H.; LACEY, E. In vitro activity of paraherquamide against the free-living stages of *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis* and *Ostertagia circumcincta*. **International Journal of Parasitology**, Oxford, v. 23, n. 3, p. 375-381, 1993.

GIRÃO, E. S. Identificação e Avaliação de Plantas Medicinais com Efeito Anti-Helmíntico em Caprinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 24., 1996, Goiânia. **Anais...** Goiânia, GO, 1996. p. 573-575.

GIRÃO, E. S.; MEDEIROS, L. P.; GIRÃO, R. N. Ocorrência e distribuição estacional de helmintos gastrintestinais de caprinos no município de Teresina, Piauí. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 22, n. 2, p. 197-202, 1992.

GIULIETTI, A.; FORERO, E. Workshop 'Diversidade taxonômica e padrões de distribuição das angiospermas brasileiras-Introdução'. **Acta Botânica Brasílica**, São Paulo, v. 4, n. 1, p. 3-10, 1990.

GOMES, R. V. R. S.; ARAÚJO, M. M.; GOMES, E. N.; VILELA, V. L. R.; ATHAYDE, A. C. R. Ação antiparasitária *in vitro* dos extratos etanólicos de *Operculina hamiltoni* (Batata de Purga) e *Momordica charantia* (Melão de São Caetano) sobre ovos de nematóides gastrintestinais de caprinos do Semi-Árido Paraibano. **Acta Veterinaria Brasílica**, Mossoró, RN, v. 4, n. 2, p. 92-99, 2010.

GOMES, S. M. Morfo-anatomia de frutos secos em espécies de Apocynaceae: significado ecológico e evolutivo. **Acta Botânica Brasílica**. São Paulo, v. 22, n. 2, p. 521-534, 2008.

GOPAL, R. M.; POMORY, W. E.; WEST, D. M. Resistance of field isolates of *Trichostrongylus columbriformis* and *Ostertagia circumcincta* to ivermectin. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 29, n. 5, p. 781-786, 1999.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plantas: traditions of yesterday. **Molecular Aspect of Medicine**, Oxford, v. 27, n. 1, p. 1-93, 2006.

HAMMOND, J.A.; FIELDING, D. BISHOP, S.C. Prospects for plant anthelmintics in tropical veterinary medicine. **Veterinary Research Communications**, Dordrecht, v. 21, n. 3, p. 213-228, 1997.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vetable tannis) as drugs: possible modes of action. **Journal of Natural Products**, Washington, v. 59, n. 2, p. 205-215, 1996.

HERD, P.R. Equine parasite control keeping up with evolution. **Veterinary Medicine**, Lenexa, v. 90, n. 5, p. 447-480, 1995.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - **Pesquisa da Pecuária Municipal - 2009**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 05 jan. 2010.

JACKSON, E. Anthelmintic resistance the state of play. **Brasilian Veterinary Journal**, London, v. 149, n. 2, p. 123 – 127. 1993.

JACKSON, F.; MILLER, J. Alternative approaches to control – Quo vadit? **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 4, n. 139, p. 371-384, 2006.

JOLY, A. B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. 13^o ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 2002. 808p.

LAROSSA, C. R. R.; DUARTE, M. R. Contribuição ao estudo anatômico do caule de *Himatanthus succuba* (Spruce ex Müll. Arg.). Woodson, Apocynaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, PB, v. 15, n. 2, p. 110-114, 2005.

LIMA, F. C.; LUI, J. F.; SANTOS, A. C. G. dos.; TEIXEIRA, W. C. Atividade fitoterápica do extrato botânico bruto (EBB) *in natura* de *Himatanthus* Willd. ex. Schult. (Janaúba) sobre larvas de nematóides gastrintestinais de ovinos da Ilha de São Luís – MA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, 21; ENCONTRO DE PARASITOLOGIA DO MERCOSUL, 2., 2009, Foz do Iguaçu. **Revista Patologia Tropical**, Goiânia, GO, v. 38, supl. 2 p. 823, 2009.

LIMA, M. M.; FARIAS, M. P. O.; ROMEIRO, E. T.; FERREIRA, D. R. A.; ALVES, L. C.; FAUSTINO, M. A. da G. Eficácia da moxidectina, ivermectina e albendazole contra helmintos gastrintestinais em propriedades de criação caprina e ovina no Estado de Pernambuco. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, GO, v. 11, n. 1, p. 94-100, 2010.

LIMA, V. B. L.; BRAGA, R. M.; KOCH, I. Estudo fitoquímico de *Himatanthus obovatus*. 2003. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 23., 2000, Poços de Caldas, MG. **Resumos...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2000. Disponível em: <<http://www.s bq.org.br/ranteriores/23/resumos/0424/>>. Acesso em: 02 jun. 2011.

LIMA, V. B.; **Estudo fitoquímico de *Himatathus obovatus* (Muell. Arg.) Woodson (APOCYNACEAE):** Isolamento, elucidação estrutural e atividade biológica. 2005. 174f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP, 2005.

LINHARES, J. F. P. **Sustentabilidade sócio-ambiental da extração de janaúba (*Himatanthus* Willd. ex. Schult.) no município de Alcântara, MA, Brasil.** 2010. 116f. Dissertação (Mestrado em Sustentabilidade de Ecossistemas) – Departamento de Oceanografia e Liminologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, 2010.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras:** manual de identificação e cultivo de plantas nativas do Brasil. 2. ed. Nova Odessa, SP: Plantarum, 1998, 290p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil** – nativas e exóticas. 1. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002, p. 451-452.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A.; **Plantas Medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. 2. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008, 544p.

MACEDO, I. T. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; OLIVEIRA, L. M. B.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; VIEIRA, L. S.; OLIVEIRA, F. R.; QUEIROZ-JÚNIOR, E. E.; PORTELA, B. G.; BARROS R. S.; CHAGAS, A. C. S. Atividade ovicida e larvicida *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, SP, v. 18, n. 3, p. 62-66, 2009.

MAGALHÃES, A. **Perfil etnobotânico e conservacionista das comunidades do entorno da reserva natural da serra das almas, Ceará-Piauí, Brasil**. 2006. 81f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2006.

MATOS, M. J.; GERMER, M.; CASTRO, E. S. Eficácia do ivermectin sobre endoparasitos de caprinos no RS. In: CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 13., 1997., Gramado, RS. **Anais...** Gramado: Sociedade de Veterinária do Rio Grande do Sul, 1997. p.198.

McLEOD, R. S. Costs of major parasites to the Australian livestock industries. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 25, n.11. p.1363-1367, 1995.

MELLO, C. P.; SANTOS, S. C. Taninos. **Farmacognóssia**: da planta ao medicamento. 4 ed. Porto Alegre; Florianópolis: Editora Universitária UFRGS; UFSC, 2002. 950 p.

MELO, A. C. F. L.; REIS, I. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; VIEIRA, L. S. ECHEVARRIA, F. A. M.; MELO, L. M. Nematóides resistentes a anti-helmínticos em rebanhos de ovinos e caprinos do estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 33, n. 2, p. 339-344, 2003.

MINHO, A. P. Efeito anti-helmíntico de taninos condensados sobre nematódeos gastrintestinais em ovinos. 2006. 164 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2006.

MOLENTO, M.B.; PRICHARD, R. K. Effect of multidrug resistance modulators on the activity of ivermectin and moxidectin against selected strains of *Haemonchus contortus* infective larvae. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 21, n. 3, p. 117-121, 2001.

MOLENTO, M. B.; TASCA, C.; GALLO, A.; FERREIRA, M.; BONONI, R.; STECCA, E. Método Famacha como parâmetro clínico individual de infecção por *Hemonchus contortus* em pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 34, n. 4, p. 1139-1145, 2004.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

MONTELES, R.; PINHEIRO, C. U. B. Plantas medicinais em um quilombo maranhense: uma perspectiva etnobotânica. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, Campina Grande, PB, v. 7, n. 2, p. 38-48, 2007.

MOTA, M. A. Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 23, n. 3, p. 93-100, 2003.

NOGUEIRA FILHO, A. Ações de fomento do Banco do Nordeste e potencialidades da caprino-ovinocultura. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 2., 2003, João Pessoa, PB. **Anais...** João Pessoa: EMEPA, 2003. 1 CD ROM.

NOGUEIRA, D. M. Utilização de folhas da bananeira no controle de nematódeos gastrintestinais de ovinos na região Semiárida. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, RS, v. 4, n. 2, p. 2767- 2771, 2009.

NOGUEIRA, D. M.; MOURA, E. J.; NASCIMENTO, T. V. C. Avaliação de extratos de plantas medicinais no controle de nematódeos gastrintestinais de cordeiros criados em sistemas de produção de frutas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, ZOOTEC., 2009, Águas de Lindóia, SP. **Anais...** Brasília, DF: ABZ, 2009.

OLIVEIRA, D. B.; AMORIM, A.; BRAGA, M. M.; MATTOS JÚNIOR, D. G.; ALMOSNY, N. R. P. Atividade anti-helmíntica de bananeira (*Musa sp.*) em caprinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, 15., 1997, Salvador. **Doenças parasitárias e o ano da saúde no Brasil: programa, anais.** Salvador: Sociedade Brasileira de Parasitologia, 1997, p. 65.

OLIVEIRA, L. N.; DUARTE, E. R.; NOGUEIRA, F. A. SILVA, R. B.; FARIA FILHO, D. E.; GERASEEV, L. C. Eficácia de resíduos da bananicultura sobre a inibição do desenvolvimento larval em *Haemonchus ssp.*, provenientes de ovinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 40, n. 2, p. 488-490, 2010.

OLIVO, J. C.; TECHIO PEREIRA, E. L.; CARVALHO, M. N.; VOGEL, F. F.; HEINZMANN, M. B.; NEVES, P. A. Uso da bananeira (*Musa spp*) no controle de parasitas de animais domésticos: do empirismo à ciência. **Livestock Research Rural Development**, Cali, v. 19, n. 11, 2007. Disponível em: <<http://www.lrrd.org/lrrd19/11oliv19158.htm>>. Acesso em: 06 jun. 2008.

PEDROSA, K. Y. F.; BARRÊTO Jr. R. A.; COSTA, E. S.; LEITE, A. I.; PAULA, V. V. Aspectos epidemiológicos e sanitários das criações de caprinos na zona Noroeste do Rio Grande do Norte. **Caatinga**, Mossoró, RN, v. 16, n. 1-2, p. 17-21, 2003.

PENELUC, T.; DOMINGUES, L. F.; ALMEIDA, G. N.; AYRES, M. C. C.; MOREIRA, E. L. T.; CRUZ, A. C. F.; BITTENCOURT, T. C. B. S. C.; ALMEIDA, M. A. O.; BATATINHA,

M. J. M. Atividade anti-helmíntica do extrato aquoso das folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. (*Rutaceae*). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, SP, v. 18, supl. 1, p. 43-48, 2009.

PINHEIRO, R. S. B.; JORGE, A. M.; FRANCISCO, C. L.; ANDRADE, E. N. Composição química e rendimento da carne ovina *in natura* e assada. **Ciência Tecnologia Alimentos**, Campinas, SP, v. 28 supl., p. 154-157, 2008.

PLUMEL, M.M. Le genre *Himatanthus* (Apocynaceae). Revisión taxonomique: bradea. **Boletim do Herbarium Bradeanu**, Rio de Janeiro, v.5, supl., p.1-20, 1991.

RAMOS, C. I.; BELLATO, V.; ÁVILA, V. S.; COUTINHO, G. C.; SOUZA, A. P. Resistência de parasitos gastrintestinais de ovinos a alguns anti-helmínticos no Estado de Santa Catarina, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 32, n. 3. p. 473-477, 2002.

RAPINI, A.; KOCH, I.; KINOSHITA, L. S.; SIMÕES, A. O.; SPINA.; A. P. 2010. Apocynaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB004621>>. Acesso em: 18 jul. 2011.

RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, Oxford, v. 39, n. 5, p. 603-613, 2001.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 728 p.

RESENDE, K. T.; TEIXEIRA, I. A. M. A.; BIAGIOLI, B.; LIMA, L. D.; NETO, O. B.; PEREIRA JÚNIOR, J. D. Progresso científico em pequenos ruminantes na primeira década do século XXI. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 39, supl. Especial, p. 369-375, 2010.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e farmacobiotecnologia**. São Paulo: Editorial Premier, 1997, 372p.

RODRIGUES, A. B.; ATHAYDE, A. C. R.; RODRIGUES, O. G.; SILVA, W. W.; FARIA, E. B. Sensibilidade dos nematóides gastrintestinais de caprinos a anti-helmínticos na mesorregião do Sertão Paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 27, n. 4, p. 162-166, 2007.

RODRIGUES, E.; DUARTE-ALMEIDA.; PIRES, J. M. Perfil farmacológico e fitoquímico de plantas indicadas pelos caboclos do Parque Nacional do Jaú (AM) como potenciais analgésicos. Parte I. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, PB, v. 20, n. 6, p. 981-991, 2010.

RODRIGUES, W.; NOGUEIRA, J. M.; PARREIRA, L. A. Competitividade da cadeia produtiva de plantas medicinais no Brasil: Uma perspectiva a partir do comércio exterior. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 46., 2008, Rio Branco, Acre, **Informe Gepec**, Toledo, PR, v. 12, n. 2, p. 91- 105, 2008.

ROMERO, Q. L. F.; OSORIO, C. J. C.; BILBAO, M. Efecto antiparasitário de los extractos etanólicos y etéreos de *Ficus obtusifolia* Kunth (*Moraceae*) frente a parasitos de clase nematodos (*Toxocara cati*s y *Toxocara canis*). **Infectio**, Bogotá, v. 13, n. 4, 2009.

SALAZAR, W.; CÁRDENAS, J.; VILLAFUERTE, S.; FERNÁNDEZ. I.; VILLEGAS, L.; PACHECO, L.; UNTIVEROS, G. Estudio fitoquímico y de La actividad antihelmíntica de los extractos de *Sarothamnus escoparius* y *Lupinus ballianus*. **Sociedade Química del Perú**. Santa Beatriz, v. 74, n. 2, p. 100-107, 2008.

SANDEEP, R. K.; SHRINIVAS, K. M.; JAYKUMAR, S. S. Antihelmintic activity of aqueous and methanolic extracts of *Euphorbia thymifolia* LINN. **International Journal of PharmaTech Research**, Mumbai, v. 1, n. 3, p. 666-669, 2009.

SEBRAE. Serviço Brasileiro de Apoio a Micro e Pequenas Empresas. **Informações de mercado sobre Caprinos e Ovinos**: relatório completo ovinocaprinocultura. [s.]: UAM, 2005. 73 p. (Série Mercado).

SHOOP, W. L.; EGERTON, J. R.; EARY, C. H.; SUHAYDA, D. Anthelmintic activity of paraherquamide in sheep. **International Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 76, n. 3; p. 349-351, 1990.

SHOOP, W. L.; MICHAEL, B. F.; HAINES, H. W.; C. H. Anthelmintic activity of paraherquamide in calves. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 43, n. 3, p. 259-263, 1992.

SILVA, K. B. Extrato botânico bruto (EBB) de Janaúba (*Himatanthus* Willd. ex. Schult.) utilizado como fitoterápico *in vitro* no controle de endoparasitas gastrintestinais em eqüinos da raça baixadeira. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 22; SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UEMA, 2., 2010, São Luís, MA, **Anais...** Universidade Estadual do Maranhão, 2010.

SILVA, N. L. A.; MIRANDA, F. A. A.; CONCEIÇÃO, G. M. Triagem fitoquímica de plantas do Cerrado, da Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**, Itabaiana, SE, v. 6, n. 2, p.1-17, 2010.

SILVA, V. C.; CARVALHO, M. G.; BORBA, H. R.; SILVA, S. L. C. Atividade anti-helmíntica dos flavonóides isolados das raízes de *Andira anthelmia* (Leguminosae) **Revista Brasileira de Farmacognósia**, João Pessoa, PB, v. 18, n. 4, p. 573-576, 2008.

SILVA, W. W.; BRITO, A. F. S.; MARINHO, F. A.; MARINHO, F. A.; RODRIGUES, O. G.; ATHAYDE, A. C. R. Ação do extrato alcoólico do capim santo (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) sobre nematóides gastrintestinais de ovinos. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, Campina Grande, PB, v. 1, n. 1, p. 46-49, 2005.

SIMÕES, C. O. M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognósia, da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora UFRS, 2007. 1104p.

SOUSA, E. L.; GRANJEIRO, A. R. S.; BASTOS, I. V. G. A.; RODRIGUES, G. C. R.; SILVA, M. J.; ANJOS, F. B. R.; SOUZA, I. A.; SOUSA, C. E. L. Antitumor activity of leaves of *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel-Apocynaceae (Janaguba) in the treatment of sarcoma 180 tumor. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Science**, São Paulo, v. 46, n. 2, p. 199-203, 2010.

SPINA, A. P. **Estudos taxonômicos, micro-morfológico e filogenético do gênero *Himatanthus* Willd. Ex. Schult. (Apocynaceae: Rauvolfioideae-Plumerieae)**. 2004. 197f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, SP, Campinas, 2004.

THOMAZ-SOCCOL, V. **Verminose Ovina: Aspectos Epidemiológicos, Resistência aos Antihelmínticos e Marcadores para Seleção de Animais Resistentes**. Curitiba: UFPR, 1999. (EMBRAPA. Tema III: tecnificação em produção animal). Anteprojeto. Disponível em: <<http://www.cnpqa.embrapa.br/cnpq/psgpa/004.html>>. Acesso em: 06 jun. 2008.

THOMAZ-SOCCOL, V.; CASTRO, E. A.; POHL, F.; MORAES, F. R.; SOTOMAIOR, C. Anthelmintic resistance in sheep. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 47, n. 1, p. 41-47, 2004.

VEIGA-JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas Medicinais: cura segura? **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VIEIRA, L. S. **Alternativas de controle da verminose gastrintestinal dos pequenos ruminantes**. Sobral: EMBRAPA-CNPC, 2003. 10p. (Documentos, 29).

VIEIRA, L. S. Epidemiologia e controle das principais endoparasitoses de caprinos e ovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 28.,

1991. João Pessoa, PB. **Caprinocultura e Ovinocultura: Anais**. João Pessoa, PB: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p. 27-36, 1991.

VIEIRA, L. S. Métodos alternativos de controle de nematóides gastrintestinais em caprinos e ovinos. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, PB, v. 2, n. 2, p. 49-56, 2008.

VIEIRA, L. S.; BERNE, M. E. A.; CAVALCANTE, A. C. R.; COSTA, C. A. F. Haemochus contortus resistance to ivermectin and netobobilin in Brazilian sheep. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 45, n. 1-2, p. 111-116, 1992.

VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R.; PEREIRA, M. F.; DANTAS, M. F.; 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**, Toulouse, v. 150, n. 5, p. 447-452, 1999.

WALLACE, R. J. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 63, n. 4, p. 621-629, 2004.

WALLER, P. J. Global perspectives on nematode parasite control in ruminant livestock: the need to adopt alternatives to chemotherapy, with emphasis on biological control. **Animal health research reviews**, Cambridge, v. 4, n. 1, p. 35-43, 2003.

CAPÍTULO 2. BOTÂNICA, FITOQUÍMICA, TOXICIDADE E ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA *IN VITRO* DE JANAÚBA

RESUMO – O estudo objetivou classificar a etnobotânica da janaúba (*Himatanthus* spp.), determinar a composição bromatológica da casca, identificar as classes de metabólitos secundários presentes no extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) e avaliar os efeitos inibitórios *in vitro* do extrato sobre a eclodibilidade e desenvolvimento de larvas de estrongilídeos parasitos da espécie ovina. Na identificação botânica utilizaram-se partes da planta (folhas, flores, frutos e sementes) que foram classificadas por meio de chaves analíticas, comparações, descrições e ilustrações da literatura específica. A análise da composição bromatológica da casca foi realizada pelo método de Weend e a prospecção qualitativa dos compostos fitoquímicos obedeceu à metodologia proposta por MATOS (1998). O perfil toxicológico do extrato foi testado *in vitro* em eritrócitos de ratos (*Rattus norvegicus*) e *in vivo* em camundongos (*Mus musculus*). Para avaliar o efeito anti-helmíntico do extrato sobre ovos de nematódeos gastrintestinais foi utilizado o teste de inibição *in vitro*, em três concentrações crescentes do extrato de janaúba (250, 500 e 1000 mg/mL) no tratamento dos cultivos de larvas (L3), realizados em triplicatas. Como controles negativos e positivos foram utilizados água destilada e albendazole, respectivamente. O material botânico foi identificado como pertencente ao membro da família Apocynaceae, gênero *Himatanthus*, espécie *Himatanthus drasticus*. A composição bromatológica da casca apresentou elevado conteúdo fibroso na matéria seca (MS), deficiente em nutrientes. A triagem fitoquímica do extrato revelou a presença de alcalóides, taninos, cumarinas, esteróides triterpenos e saponinas. Verificou-se baixa atividade hemolítica e não foi evidenciada toxicidade aguda nos animais testados. A redução na contagem de larvas L3 para os gêneros *Haemonchus* e *Cooperia* com o uso da menor concentração (250 mg/mL) do extrato foi superior a 95%, enquanto para os gêneros *Oesophagostomum* e *Trichostrongylus* a redução foi inferior a 90%. As maiores concentrações (500 e 1000 mg/mL) do extrato apresentaram redução de L3 superior a 95% para todos os

gêneros de nematódeos, sendo que na maior concentração (1000 mg/mL) do extrato, o efeito da redução *in vitro* teve 100% de inibição na contagem de larvas L3, equivalente ao controle positivo. O extrato de janaúba (*H. drasticus*) não apresentou efeitos nocivos aos organismos tratados. O uso do extrato nas concentrações testadas *in vitro* foi efetivo sobre nematódeos gastrintestinais parasitos de ovinos e esse efeito anti-helmíntico estar relacionado à ação conjunta e/ou isolada dos compostos metabólitos presentes no extrato.

Palavras-chave: Etnobotânica, fitoterápico, helmintos, *Himatanthus drasticus*, metabólitos, toxicologia, ovino, valor nutritivo.

CHAPTER 2. BOTANICAL, PHYTOCHEMICAL, TOXICITY AND ANTHELMINTIC ACTIVITY *IN VITRO* OF JANAUBA (*HIMATANTHUS* spp.)

Summary – The study aimed to classify the ethnobotany of janauba (*Himatanthus* spp.), determine the chemical composition of the husk, identify the classes of secondary metabolites present in the hydroalcoholic crude extract (HACE) and evaluate *in vitro* inhibitory effects of extract on hatchability and development of strongyle larvae, the round worms that cause production losses in sheep. For botanical identification of the plant, parts such as leaves, flowers, fruits and seeds were used and classified by means of analytical keys, comparisons, descriptions, and illustrations found in the literature. The analysis of the chemical composition of the husk was carried out according to the Weend method and the qualitative analysis of the phytochemical compounds followed the methodology proposed by MATOS (1998). The toxicological profile of the extract was tested *in vitro* in erythrocytes of rats (*Rattus norvegicus*) and *in vivo* in mice (*Mus musculus*). The evaluation of extract anthelmintic effect on the eggs of gastrointestinal nematodes was performed by the *in vitro* inhibition test, where three different janauba extract concentrations (250, 500 and 1000 mg/mL) were used to treat larvae culture, with three repetitions. Distilled water and albendazole were used as negative and positive controls, respectively. The botanical material was identified as belonging the Family Apocyanaceae, genus *Himatanthus*, species *Himatanthus drasticus*. The chemical composition of the husk showed high fiber content in the dry matter (DM), but deficiency of nutrients. The phytochemical screening of extract showed the presence of alkaloids, tannins, coumarins, triterpene steroids and saponins. Low hemolytic activity was verified, while acute toxicity was not observed in animal studies. Larvae L3 counts for the genus *Haemonchus* and *Cooperia* at the lowest extract concentration (250 mg/mL) decreased more than 95%, while for the genus *Oesophagostomum* and *Trichostrongylus* the reduction was less than 90%. The highest extract concentrations (500 and 1000 mg/mL) reduced L3 counts in more than 95% for all genus of nematodes. For the concentration of 1000 mg/mL, the *in*

in vitro trial resulted in 100% inhibition of L3 larva, equivalent to the positive control. The toxicity tests showed that the HACE from janauba (*H. drasticus*) had no harmful effects on the organisms of the treated sheep. The concentrations tested *in vitro* were effective to treat gastrointestinal nematodes in sheep and the anthelmintic effect may be related to the joint or/and isolated action of the metabolite compounds present in the extract.

Keywords: Ethnobotany, *Himatanthus drasticus*, helmintic, metabolic, nutritional, sheep, toxicology.

1.INTRODUÇÃO

A utilização de plantas no tratamento de diversas enfermidades infecciosas ou não, é uma prática que teve ampla utilização por nossos antepassados, principalmente em épocas de inexistência de produtos farmacêuticos eficientes. O uso de produtos naturais com propriedades terapêuticas é tão antigo quanto à civilização humana e, por um longo tempo, produtos minerais, de plantas e animais foram as principais fontes de substâncias medicamentosas (RATES, 2001).

A pesquisa relacionada às plantas medicinais com vistas ao desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos é atividade multiprofissional e interdisciplinar que pode melhorar a qualidade de vida das populações mais carentes. Isso só é possível com o desenvolvimento de produtos de maior qualidade e com a divulgação de informações científicas que possibilitem o uso racional de fitomedicamentos e de plantas medicinais (RESENDE & RIBEIRO, 2005).

MARIZ et al. (2010) afirmaram existir uma tendência mundial de aumento na utilização de produtos fitoterápicos, porém, em se tratando das pesquisas desenvolvidas no Brasil sobre o tema, nas últimas décadas, as informações sobre plantas medicinais têm crescido apenas 8% ao ano, tendo em vista que para uso de princípios ativos botânicos, vários aspectos devem ser levados em consideração, tais como: conhecimento botânico da espécie vegetal, extração, conservação dos extratos, dosagem eficaz, estabilidade, toxicidade e custo.

Conforme LAI et al. (2006); NINITOX (2010) citados por MARIZ et al. (2010) o uso de plantas medicinais ao longo da história sempre esteve na tênue linha divisória entre o bem e o mal, ou seja, o restabelecimento da saúde e o surgimento de efeitos colaterais. Isso ocorre, principalmente pelo fato de que o uso “terapêutico” de plantas e derivados se expandiram pelo inconsciente coletivo popular como algo inofensivo “se é natural não faz mal”. Esse pensamento é incoerente em função dos inúmeros registros de intoxicação por plantas usadas como medicinais.

Várias são as estratégias capazes de determinar a atividade de produtos de origem natural. De maneira geral, inicia-se com os extratos brutos de plantas preparados com diversos solventes (hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e água). Após o fracionamento cromatográfico, as frações obtidas são refracionadas, repetindo-se o processo até a obtenção do(s) princípio (s) ativo (s). Só então é escolhido o bioensaio mais apropriado para determinar a atividade farmacológica da planta (CHAGAS, 2004).

A pesquisa com plantas e a produção de medicamentos com propriedades medicinais comprovadas cientificamente envolve várias etapas que vai desde a seleção da planta até a comercialização do produto final (RATES, 2001).

Conforme CAMURÇA-VASCONCELOS et al. (2005) a primeira etapa de validação de uma planta medicinal é realizada através de um levantamento geral de informações sobre a espécie de planta a ser avaliada. Esse estudo inclui a identificação botânica e os dados sobre o uso popular, tais como: partes da planta a ser utilizada, forma de administração, dosagens, tempo de tratamento, dentre outros. Uma segunda etapa envolve os testes farmacológicos pré-clínicos e clínicos para avaliar o uso popular. Nessa fase, são realizados testes que determinam a eficácia contra os agentes causadores da enfermidade a ser combatida e a segurança na administração para a espécie a ser tratada.

Os testes que revelam margem de segurança para uso de extratos vegetais são normalmente realizados em animais de laboratório e visam determinar os efeitos da administração da planta em organismos animais. Nos testes de toxicidade aguda o objetivo de avaliação é o organismo, onde é possível determinar os efeitos deletérios causado por uma substância química ou uma mistura, levando em consideração o tempo de exposição e a concentração da substância (CUNHA et al. 2009).

A avaliação do potencial terapêutico de plantas medicinais e de alguns dos seus constituintes, tais como, taninos, flavonóides, alcalóides, triterpenos, sesquiterpenos e lignanas, tem sido objeto de incessantes estudos, pois o conhecimento prévio das classes de componentes químicos encontrados nos vegetais se torna necessário para fornecer a relação dos princípios ativos. Uma vez detectada a presença de

determinados grupos químicos, o estudo fitoquímico e biológico é direcionado (LÔBO et al. 2010).

Testes de eficácia podem ser realizados *in vitro* e *in vivo*, servindo como uma indicação inicial da atividade farmacológica que está sendo pesquisada. Desse modo, o teste de eficácia *in vitro*, também denominado pré-clínico, é uma etapa de caráter obrigatória na avaliação preliminar da existência de substâncias ativas com propriedades terapêuticas e permite selecionar as plantas que apresentam melhores resultados, diminuindo gastos, evitando perda de tempo e uso indiscriminado com animais experimentais. Assim, para determinação do potencial anti-helmíntico de plantas são realizados os testes de inibição de eclosão de ovos ou o desenvolvimento larval de nematódeos (CAMURÇA-VASCONCELOS et al. 2005).

O estudo teve como objetivo a identificação etnobotânica, a caracterização dos compostos químicos, avaliação da estabilidade de uso, bem como a eficácia de utilização *in vitro* do extrato vegetal originário da casca de janaúba (*Himatanthus* spp.)

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos metodológicos foram executados nos Laboratórios de pesquisas das Universidades Estadual e Federal do Maranhão (UEMA/UFMA) e Estadual Paulista (Unesp) Campus de Jaboticabal.

No primeiro momento procedeu-se a identificação botânica do vegetal, preparação do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA), isolamento das classes de metabólitos do extrato e determinação da composição química da casca do vegetal. Posteriormente avaliou-se a toxicidade do EBHA sobre organismos vivos. Essa etapa foi concluída com a investigação da atividade ovicida *in vitro* do EBHA de janaúba em cultivo de larvas de nematódeos gastrintestinais em ovinos.

2.1 Identificação botânica de *Himatanthus* spp. (Janaúba)

A Colheita do vegetal foi realizada na localidade Sossego, município de Caxias (04°51'32"S e 43°2'22"W), Estado do Maranhão, no mês de setembro de 2009 em ecossistema de cerrado onde a planta foi primeiramente identificada pelo nome comum, por relato de informantes.

As folhas, flores, frutos e sementes do vegetal, após coleta foram separados, acondicionadas em sacos de papel, conduzidas aos Laboratórios de Botânica e de Nutrição Animal/UEMA para processamento e identificação botânica, secagem e moagem, respectivamente.

A identificação botânica foi realizada por meio da análise dos caracteres morfológicos das folhas, flores, frutos e sementes que foram comparadas com as descrições, ilustrações e as chaves analíticas da literatura específica, segundo a classificação padronizada por LORENZI (1998) e SPINA (2004).

Amostras do vegetal: folhas, flores, frutos e sementes (Figura 1), foram comparados com a exsicata já catalogada no laboratório sob o número 2.600. Devidamente identificado, o material foi depositado no Herbáreo Rosa Mochel do Núcleo de Estudos Biológicos (NEB) /UEMA.

2.2 Colheita e processamento da casca de janaúba para uso medicinal

O córtex da janaúba foi colhido em setembro de 2009, mês que correspondente ao limiar do período seco, considerando-se as informações da literatura e o conhecimento popular dos agricultores familiares da localidade Sossego, nas afirmativas que: “*durante esse período do ano a casca de janaúba vermelha apresenta maior capacidade de combater as verminoses dos animais de criações*” (caprino, ovinos, suínos e aves).



Figura 1. Material para identificação botânica da Janaúba: A) folhas; B) flores; C) frutos; D) sementes inseridas na casca do fruto.

A escolha das arbóreas para colheita do vegetal foi baseada em informações transmitidas pelos agricultores da localidade que selecionam árvores adultas (mais de 15 anos de idade) para retirada da casca com fins medicinais. Realizou-se a colheita das amostras do vegetal no período da manhã, conforme a crendice popular do local: “é durante a manhã que a casca da janaúba apresenta a maior capacidade para curar doenças”.

Selecionada a árvore, retirava-se a periderme de uma parte lateral do tronco até atingir o córtex. Só então, extraía-se o material de interesse terapêutico, onde está concentrado o látex em grande volume. Para fins de manutenção e conservação da planta, somente uma porção do caule foi extraída, dessa forma o procedimento foi repetido em diversas árvores (Figura 2).



Figura 2. Colheita do material vegetal (córtex) de janaúba: A) Exposição do córtex para extração; B) Extração do córtex.

No Laboratório de Nutrição Animal/UEMA, as cascas foram desidratadas a sombra e protegidas da luz solar. Em seguida submetidas ao processo de dessecação em estufa com ventilação forçada, à temperatura de 45°C por um período de 48 horas. Na etapa seguinte foram trituradas, obtendo-se no final do processo o pó, que foi pesado, acondicionado em frascos âmbar, mantido em temperatura ambiente, em local seco, arejado e sem iluminação.

2.3 Bromatologia e identificação fitoquímica dos compostos presentes na casca e no extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba

2.3.1 Análise da composição bromatológica

A análise bromatológica da casca foi realizada no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Estadual Paulista - LANA/UNESP – Campus de Jaboticabal/SP, pelo

método de Weende (VAN SOEST, 1967) para o processamento das análises e os resultados dos teores dos constituintes que foram expressos em percentuais.

2.3.2 Preparação do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA).

Adotou-se a metodologia descrita por MATOS (1998). A casca do vegetal, processada na forma de pó, foi colocada sob maceração em mistura hidroalcoólica a 70% (7:3 v:v), e submetida a agitação esporádica. A extração do macerado foi realizada mediante três trocas sucessivas a cada 24 horas com renovação do solvente, até a exaustão da extração (Figura 3).

O somatório dos filtrados, que resultou em volume de 15 L, foi transferido para frascos âmbar, concentrado em evaporador rotativo (Laborota 4000 - Heidolph®) à baixa pressão e temperatura de 60°C. Em seguida foi determinado o peso seco e rendimento do extrato.

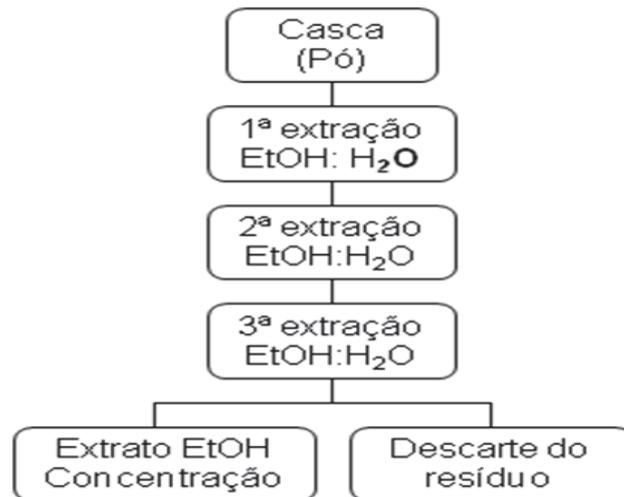


Figura 3. Fluxograma do processo de maceração da casca de janaúba (*Himatanthus* spp.) em mistura hidroalcoólica (70:30 v:v) para a obtenção do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA).

2.3.3 Prospecção dos compostos fitoquímicos

A identificação qualitativa das classes de metabólitos presentes no extrato bruto hidroalcoólico (EBHA), obtido da casca de janaúba, seguiu a metodologia descrita por

MATOS (1998) e foi realizada no laboratório de Química da Universidade Federal do Maranhão/UFMA.

2.3.4 Particionamento do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) para obtenção dos subextratos

O fracionamento seqüencial do EBHA para obtenção dos subextratos ocorreu pelo processo de partição líquido-líquido, que consiste da adição de um solvente orgânico com água na proporção de 2:1(v:v) em 10 g de massa do EBHA. As misturas foram preparadas com os solventes orgânicos: hexano, acetato de etila e butanol, nesta ordem crescente de polaridade. A extração foi realizada em funil de separação no qual há formação de duas fases. Para obtenção dos subextratos, a fase superior era recolhida do funil e concentrada em rotaevaporador. A fase inferior era novamente particionada com água 2:1 (v:v) e outro solvente orgânico até a completa extração dos subextratos (Figura 4) que foram então denominados: Subextrato hexânico (S. He), Subextrato acetato de etila (S. Ac.) e Subextrato butanólico (S. Bu).

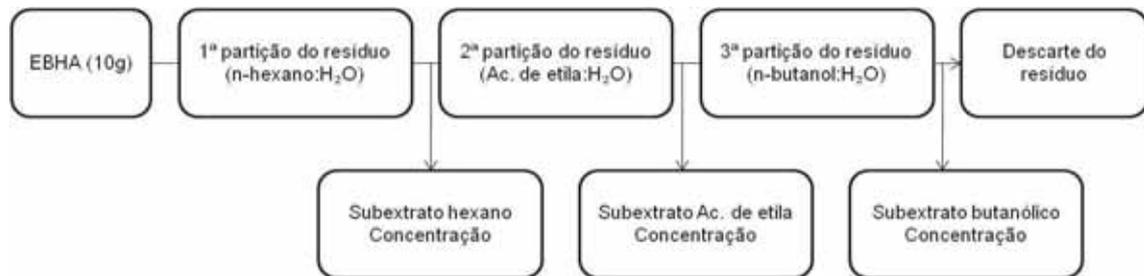


Figura 4. Fluxograma do particionamento do extrato bruto hidroalcoólico de (EBHA) de janaúba (*Himatanthus* spp.) com solventes orgânicos (Hexano, acetato de etila e butanol).

2.3.5 Prospecção dos metabólitos presentes no EBHA e nos Subextratos

Os testes realizados para a prospecção das diferentes classes de substâncias foram desenvolvidos seguindo-se a metodologia descrita por MATOS (1998).

- Teste para Fenóis e taninos

Transferiu-se 2 mL do EBHA e dos subextratos para tubos de ensaios e adicionaram-se em cada tubo três gotas de solução de cloreto férrico, agitando as substâncias fortemente, observaram-se as variações de cor ou formação de precipitado abundante escuro que foi comparado com o teste em branco (água + cloreto férrico). O desenvolvimento de coloração entre azul e o vermelho é indicativo da presença de fenóis; precipitado escuro, de tonalidade azul indica a presença de taninos hidrolisáveis; e a cor verde do precipitado detecta a presença de taninos condensados.

- Teste para Flavonóides

Por meio do teste de cianidina ou Shinoda, 5 mL de cada fração (extrato e subextratos) foi transferido para tubos de ensaio com adição consecutiva de 200 mg de limalha de magnésio e 1 mL de ácido clorídrico concentrado. O surgimento da cor laranja indica a presença de flavonas, a cor violácea é indicativa de flavanonas e a cor vermelha indica a presença de flavonóis.

- Testes para Esteróides e triterpenóides

Os testes para esteróides e triterpenóides foram realizados através da reação de Lieberman-Burchard (anidrido acético + ácido sulfúrico concentrado). Em alíquota de 2 mL do extrato e dos subextratos, acrescentou-se 2 mL de clorofórmio. Em seguida a substância foi filtrada e acrescida de 1 mL de anidrido acético, agitou-se suavemente, e juntaram-se cuidadosamente três gotas de ácido sulfúrico concentrado. Após agitar suavemente, observou-se o surgimento das cores. Coloração azul seguida de verde permanente é indicativo da presença de esteróides; variações na coloração de castanho para vermelho indicam triterpenóides.

- Testes para Alcalóides

Alíquotas de 20 mL de cada fração (extrato e subextratos) foram evaporadas à secura, em banho-maria a 70°C. O resíduo resultante foi então, dissolvido em 1 mL de etanol e na sequência, adicionou-se 4 mL de ácido clorídrico a 1%. Cada uma das soluções obtidas foi particionada em quatro tubos de ensaios em porções de 1 mL. Em cada porção foi adicionada três gotas de reagentes para precipitação de alcalóides (Hager, Mayer e Dragendorff), a substância foi homogeneizada por agitação. A formação de precipitados insolúveis e floculosos no fundo dos tubos indicam a presença de alcalóides, onde:

- Reativo de Mayer: reação positiva consiste na formação de precipitado branco ou turvação branca.

- Reativo de Dragendorff: reação positiva é indicada pela formação de precipitado de cor vermelha.

- Reativo de Hager: reação positiva é indicada pela formação de precipitado de cor laranja.

- Teste para Saponinas

Em porções de 2 mL do extrato e subextratos, adicionou-se 2 mL de clorofórmio e 5 mL de água destilada. As substâncias foram filtradas e transferidas para tubos de ensaios. Agitaram-se os tubos vigorosamente por três minutos até o surgimento da formação de espuma. Espuma persistente e abundante é indicativo da presença de saponinas.

- Teste para Cumarinas

Com o auxílio de tubos capilares, aplicaram-se duas gotas do extrato e dos subextratos em papel-filtro para conseguir duas manchas (nº1 e nº2) bem concentradas, de aproximadamente 1,5 cm de diâmetro. Sobre a mancha nº1 de cada

particionamento, aplicou-se uma gota de solução de hidróxido de sódio. Cobriu-se parcialmente as manchas com cartão opaco, não-fluorescente e colocaram-se cada conjunto sob ação de luz ultravioleta a 366 nm por 15 minutos até surgimento da reação. O aparecimento de fluorescência de coloração azul ou verde- amarelada na mancha 1 é indicativo da presença de cumarinas.

2.4 Atividade farmacológica de janaúba: ensaios de toxicidade em camundongos (*Mus musculus*) e eritrócitos de ratos (*Rattus novvegicus*).

Para avaliação do perfil toxicológico do EBHA, procedeu-se o teste de hemólise *in vitro* em eritrócitos de ratos, conforme metodologia proposta por KANG et al. (2009). A toxicidade aguda *in vivo* em camundongos foi testada pela metodologia proposta por SOUSA BRITO (1994).

2.4.1 Toxicidade hemolítica do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba em ratos (*Rattus novvegicus*)

O teste foi desenvolvido no Laboratório de Química da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) no mês de janeiro de 2010.

- Animais

Foram utilizados dois animais da espécie *Rattus novvegicus* var. wistar, com peso vivo médio de 250g, com livre acesso à água e ciclo claro-escuro de 12 horas, mantidos em jejum por um período de 12 horas, antes do início do teste.

Após este período, os animais foram imobilizados com solução de cetamina (60 mg) e submetidos à laparotomia para coleta do sangue aórtico. O sangue colhido foi centrifugado a 2500 g por 15 minutos para obtenção do precipitado de eritrócitos. O sedimento foi ressuspensão com solução de cloreto de sódio 0,9% e cloreto de cálcio (10 mM), na proporção de 1:30 e centrifugado por mais três vezes até formar a suspensão de eritrócitos.

- Aplicação do teste

Em tubos de ensaios com capacidade para 10 mL adicionou-se 0,5 mL do EBHA de janaúba em 4 mL da suspensão de eritrócitos em cinco concentrações (30, 60, 100, 250 e 500 µg/mL). O controle negativo foi preparado com suspensão de eritrócitos em cloreto de sódio e cloreto de cálcio (0% de hemólise), enquanto que no controle positivo a suspensão de eritrócitos foi preparada com 100 µL do detergente Triton X-100 1% que possui capacidade de hemolizar 100% dos eritrócitos.

As amostras foram incubadas por 1 hora à temperatura ambiente sob agitação lenta e constante. Decorrido este tempo foram centrifugadas a 2500 g durante cinco minutos e a hemólise foi quantificada por espectrofotometria a 540 nm. Os resultados do teste foram expressos em valores percentuais.

2.4.2 Toxicidade aguda do EBHA de janaúba em camundongos (*Mus musculus*)

O ensaio foi desenvolvido no Biotério da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) e no Laboratório de Farmacologia da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) no período de outubro a novembro 2009.

- Animais

No Biotério da UEMA, em sala com temperatura e luminosidade controladas ($23 \pm 2^\circ\text{C}$) e ciclo claro-escuro de 12 horas, 25 camundongos fêmeas, com idade entre 50 e 90 dias, da raça Swiss albino, aclimatados às condições do ambiente e pesando entre 21 e 28g foram submetidos à manipulação experimental. Antes da realização dos protocolos experimentais, os animais passaram por adaptação de sete dias, acondicionados em gaiolas de polipropileno (cinco animais por gaiola) e mantidos sob condições controladas de temperatura, com livre acesso à comida e água.

O delineamento foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e cinco repetições, constituindo-se do protocolo: T₁ - Grupo Controle (não tratado); T₂ - EHBA (0,5 g/kg); T₃ - EHBA (1,0 g/kg); T₄ - EHBA (2,0 g/kg) e T₅ - EHBA (3,0 g/Kg).

Procederam-se os critérios recomendados por MALONE & ROBICHAUD, (1983) e SOUSA BRITO, (1994). Os grupos foram submetidos ao jejum de oito horas pré-tratamento, em seguida aferiu-se o peso corporal individual em balança analítica (FA 2104N - Celtac[®]). Os animais de cada grupo receberam marcação própria e foram tratados com dose única de cada concentração (0,1 mL/10g do peso corporal) do EBHA, administrada por via oral (v.o.). Decorrido o tempo de uma hora após o tratamento os animais tiveram livre acesso ao alimento e permaneceram em observação por um período de 14 dias para verificação de alterações de comportamento relacionadas com os possíveis efeitos de toxicidade do extrato.

Ao final do bioensaio, os animais de cada grupo foram anestesiados e amostras de sangue foram coletadas do plexo retro-orbital e centrifugadas a 900 g por 10 minutos para posterior dosagem bioquímica. O plasma sanguíneo foi usado para determinar os níveis séricos de uréia, creatinina, proteína total, alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST). As variáveis bioquímicas foram determinadas utilizando reagente comercial (Labtest[®]) em analisador semi-automático Bioplus 2000[®]. O procedimento foi concluído com a eutanásia dos animais para a separação dos rins, pulmões, coração, fígado, baço e pâncreas, que foram pesados e analisados macroscopicamente, para a detecção de possíveis alterações causadas pelo uso do extrato bruto hidroalcoólico de janaúba. As alterações foram registradas em formulários de procedimentos próprios para essa finalidade.

- Análises estatísticas

Os dados foram expressos em médias e submetidos à análise de variância (ANOVA) sendo as diferenças entre os grupos significativas quando ($p < 0,05$).

2.5 Teste de eclodibilidade *in vitro* de ovos de nematódeos gastrintestinais em ovinos tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba

O teste para avaliar a eficácia *in vitro* do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de *Himatanthus* spp. foi realizado no Laboratório de Parasitologia/UEMA por meio de exames coproparasitológicos e do cultivo de larvas de nematódeos gastrintestinais em ovinos, no período de 10 a 23 de fevereiro de 2010.

2.5.1 Preparo do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba utilizado nos testes *in vitro* e *in vivo*

No Laboratório de Farmacologia da Universidade Federal do Maranhão/UFMA, o extrato da casca de janaúba foi produzido com solvente hidroalcoólico, diluído na concentração de 30%.

Na obtenção do EBHA adotaram-se os procedimentos reportados por MATOS (1998), onde no processo de extração, o pó da casca foi colocado sob maceração em solvente hidroalcoólico de EtOH:H₂O (70:30 v:v) em percolador de aço inoxidável com capacidade para 5000 mL. A mistura permaneceu em refluxo no percolador por sete dias, submetida à agitação esporádica a cada três dias para fins de uma melhor solubilização dos metabólitos da planta. A extração do macerado foi realizada mediante três trocas sucessivas com renovação do solvente, até a exaustão da extração. O extrato bruto hidroalcoólico foi concentrado em rotaevaporador (Laborota 4000-Heidolph[®]) até a completa extração do etanol. Porções de 1 mL do extrato concentrado foram levadas a capela de secagem e submetidos à corrente de ar aquecida, onde permaneceram até a obtenção do peso seco e a quantificação do rendimento.

2.5.2 Colheita das amostras fecais

Foram colhidas amostras fecais diretamente da ampola retal de ovinos caracterizados como sem padrão racial definido (SPRD), com idade entre 10 a 24

meses, criados em sistema semi-extensivo, naturalmente infectados por helmintos gastrintestinais e sem histórico recente de uso de anti-parasitários, pertencentes a pequenos criatórios de municípios da mesorregião da Baixada Maranhense.

As amostras foram armazenadas em sacos de polietileno devidamente identificadas e acondicionadas sob refrigeração (4°C), conduzidas ao laboratório de Parasitologia/UEMA para processamento e exame do material.

2.5.3 Exames coproparasitológicos pré-tratamento

Na realização dos exames coproparasitológico foi utilizado o método de GORDON & WHITLOCK (1939) com auxílio de câmara de McMaster, com resultados quantitativos em ovos por gramas de fezes (OPG). As observações foram realizadas em microscopia óptica de 100x e 400x. Após a verificação do *status* parasitológico, foram selecionadas as amostras fecais com média de infecção ≥ 5.000 OPG. Os ovos observados apresentaram características morfológicas típicas da superfamília Strongyloidea, família Thichostrongylidae.

2.5.4 Delineamento experimental

Na avaliação da eficácia *in vitro* do EBHA sobre eclodibilidade de larvas por gramas de fezes (LPG), foram estabelecidos cinco tratamentos (T) inteiramente casualizados, com seis repetições que consistiu do seguinte protocolo:

T₁ - Controle Negativo (água destilada): 2g de fezes + 2 mL de água destilada + 2g de serragem;

T₂ - 250mg/mL (EBHA): 2g de fezes + 0,6 mL do extrato + 2g de serragem;

T₃ - 500mg/mL (EBHA): 2g de fezes + 1,2 mL do extrato + 2g de serragem;

T₄ - 1000mg/mL (EBHA): 2g de fezes + 2,4 mL do extrato + 2g de serragem;

T₅ - Controle Positivo (albendazole): 2g de fezes + 2 mL de albendazole + 2g de serragem.

2.5.5 Cultivo *in vitro*

As amostras de fezes com OPG igual ou superior a 5.000 ovos foram misturadas, constituindo-se em único homogeneizado em que foi realizado o cultivo e recuperação *in vitro* para a avaliação da atividade do EBHA de janaúba sobre a emergência de larvas de nematódeos gastrintestinais (ROBERTS & O'SULLIVAN, 1950). Após manipulação, os cultivos foram identificados por tratamento, incubados em recipientes de vidro e acondicionados em bandeja de polietileno contendo lâmina d'água ao fundo, onde permaneceram por oito dias à temperatura ambiente do laboratório ($27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e umidade superior a 70%, monitoradas por termo-higrômetro diariamente. Ao serem extraídas dos cultivos, as larvas eram armazenadas em tubos de ensaio com capacidade para 10 mL, conservados sob refrigeração (4°C) até o momento da contagem e identificação genérica realizada por meio das chaves para terceiro estágio, segundo UENO & GONÇALVES (1998).

2.5.6 Identificação e contagem de larvas de 3º estágio

Alíquotas de 200 μL de cada cultivo por tratamento foram colocadas sobre lâminas microscópicas de vidro, modelo especial "quadrante", recobertas com lamínulas (32 x 22mm) e examinadas por meio de microscopia óptica (100x e 400x) onde se efetuou a contagem e identificação genérica das larvas. Para cada repetição foram examinadas quatro lâminas, tendo sido contabilizada número máximo de 100 larvas por leitura. Em cada tratamento foram realizadas 24 leituras, totalizando 120 observações.

Durante a leitura, observaram-se as larvas vivas ativas, vivas com lentidão de movimento e mortas, realizando-se a contagem e identificação morfológica, averiguando-se assim, a maior frequência e prevalência de gêneros de larvas de helmintos gastrintestinais, dentre as amostras por cada tratamento.

2.6 Avaliação da eficácia do teste *in vitro*

Para a determinação da eficácia *in vitro* do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de Janaúba sobre a eclodibilidade quantitativa e genérica de larvas de nematódeos gastrintestinais, utilizou-se a fórmula aritmética de redução proposta por LÊ JAMBRE (1976).

$$RCLF = \frac{\text{média LPG (GNT)} - \text{média LPG (GT)}}{\text{média LPG (GNT)}} \times 100$$

Em que: RCLF = redução na contagem de larvas fecais; LPG = larvas por grama de fezes; GNT = grupo não tratado; GT = grupo tratado.

Para a confirmação de eficácia do teste *in vitro*, adotaram-se os critérios determinados pela Portaria nº 48/1997 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA que estabelece índices de eficácia de um produto com ação antiparasitária em: altamente efetivo >98%; efetivo 90-98%; moderadamente efetivo 80 – 89% e insuficientemente ativo <80% (BRASIL, 1997).

2.7 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e a significância entre as médias comparadas pelo teste F utilizando o programa estatístico SAS 9.2 (SAS Institute, Cary, USA, 2011).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Etnobotânica da Janaúba

O material botânico obtido a partir da planta denominada popularmente de janaúba de casca vermelha, pelas características morfológicas identificou-se como

pertencente à família Apocynaceae, gênero *Himatanthus*, espécie *Himatanthus drasticus*, estando em conformidade com as especificações da literatura (PLUMEL,1991; LORENZI & MATOS, 2002; SPINA ,2004; LORENZI & MATOS, 2008). Esses resultados também são respaldados por LINHARES (2010) que estudou o gênero *Himatanthus* no município de Alcântara, Maranhão e classificou a etnobotânica da janaúba de casca vermelha como pertencente à espécie *Himatanthus drasticus*.

3.2 Composição nutricional da casca de janaúba (*Himatanthus drasticus*)

O resultado da análise bromatológica da casca de *H. drasticus* consta na Tabela 1, que apresenta os valores em percentuais de cada nutriente.

Tabela 1. Composição bromatológica da casca de janaúba (*H. drasticus*) colhida de plantas nativas do cerrado de Caxias, MA, expressa no percentual da matéria seca

Nutrientes	Composição percentual (%)
Matéria Seca (MS)	92,01
Matéria Mineral (MM)	3,75
Proteína Bruta (PB)	4,02
Matéria Fibrosa (MF)	34,23
Extrato Etéreo (EE)	3,08
Extrato Não Nitrogenado (ENN)	46,93
Fibra em Detergente Neutro (FDN)	51,35
Fibra em Detergente Ácido (FDA)	38,86
Lignina (LG)	15,28
Energia Bruta (EB) (cal/g)	3643,31

Fonte: LANA - Laboratório de Nutrição Animal, Unesp, Jaboticabal, 2011.

A composição bromatológica da casca de *H. drasticus* apresentou resultado deficiente em nutrientes com 4,02% de proteína bruta na matéria seca. Por outro lado, destaca-se o elevado percentual de conteúdo fibroso na matéria seca, com 51,35% de fibra em detergente neutro, 38,86% de fibra em detergente ácido e 15,28% de lignina. Esses resultados estão de acordo com as características anatômicas de formação da casca nos vegetais, que de forma geral, apresenta grande quantidade em celulose,

hemicelulose e lignina (RAVEN et al. 1996). O teor de 3,08% em extrato etéreo, tido como elevado, não é uma característica comum para esse tipo de material, porém, corroborando com MESQUITA & OLIVEIRA (2010) em plantas que apresentam produção de látex, possivelmente a presença de vasos laticíferos no caule do vegetal influencia na expressão desse resultado.

3.3 Características do EBHA e prospecção dos metabólitos identificados no extrato e subextratos de *H. drasticus*

O extrato bruto hidroalcoólico (EBHA), preparado a partir da casca de *H. drasticus* e utilizado nos testes pré-experimentais (fitoquímica e toxicidade), apresentou coloração amarelo-ambar, o peso seco foi de 231,8g com rendimento equivalente a 7,03%, enquanto que o EBHA usado no teste *in vitro* apresentou peso seco de 417g e rendimento de 9,26%.

Os resultados da triagem fitoquímica, conforme os níveis de polaridade do extrato hidroalcoólico e dos subextratos obtidos da casca de *H. drasticus* estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Classes de metabólitos identificados no extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) e nos Subextratos de janaúba (*H. drasticus*), conforme a polaridade

Metabólitos	EBHA	Subextratos			
		Hexano	Ac. de etila	Butanólico	Aquoso
Taninos	+++	-	++	++	++
Heterosídeos Flavônicos	-	++	++	++	++
Alcalóides	+++	-	-	-	-
Saponinas	+++	-	+	+++	+++
Triterpenos	+++	-	-	+++	-
Esteróides	-	+++	-	-	-
Cumarinas	+++	NR	NR	NR	NR

Legendas – +: reação fracamente positiva; ++: reação positiva; +++: reação fortemente positiva; -: ausente; NR: não realizado.

O demonstrativo da triagem fitoquímica revelou a presença de compostos nitrogenados, glicosídeos e fenólicos pertencente às classes de alcalóides, saponinas, taninos, flavonóides, triterpenos, esteróides e cumarinas, coincidindo com os resultados obtidos por SILVA et al. (2010). Estes autores realizaram triagem fitoquímica das folhas e cascas de janaúba colhidas no cerrado caxiense, identificando as classes de alcalóides, flavonóides, esteróides, terpenos, taninos e saponinas. Resultados similares também foram descritos por SOUSA et al. (2010) que identificaram taninos, flavonóides e terpenos extraídos do extrato metanólico obtido a partir das folhas e látex de *H. drasticus*.

Considerando o grau de polaridade, o EBHA foi o que demonstrou maior capacidade para a sensibilização qualitativa dos constituintes químicos presentes na casca de *H. drasticus*. O subextrato butanólico também manifestou grande capacidade de reação.

Em relação ao teste de sensibilização das classes de metabólitos, a presença de taninos condensados na espécie vegetal foi confirmada pelo surgimento da coloração verde na reação, tanto no extrato bruto hidroalcoólico, quanto nos subextratos acetato de etila, butanol e aquoso. Em relação às classes de flavonóides todos os subextratos apresentaram reação positiva, tendo sido verificada a presença das classes flavanonas, flavonóis, catequinas e xantonas, não tendo sido evidenciado nenhuma sensibilidade dessa classe de metabólito para o EBHA. No entanto, a presença de alcalóides na espécie vegetal foi revelada somente no extrato hidroalcoólico.

Esteróides, triterpenóides e saponinas tiveram maior polaridade para os subextratos, aquoso, hexânico e butanólico comprovando a grande sensibilidade desses metabólitos para os solventes n-hexano e o n-butanol.

Os resultados colocaram em evidência a fitoquímica dos metabólitos secundários presentes em *H. drasticus*, onde foi possível constatar a presença de compostos com maior ou menor grau de polaridade em função do solvente orgânico testado. Assim, os compostos esteróides e triterpenóides podem ser classificados como de baixa a média polaridade. Taninos, cumarinas e heterosídeos flavônicos apresentaram reação de média para alta polaridade, enquanto as saponinas são de polaridade relativa alta.

3.4 Respostas da atividade toxicológica do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de *H. drasticus* sobre eritrócitos de ratos

O comportamento de resposta aos testes de hemólise em eritrócitos de ratos, tratados com (EBHA) de *H. drasticus* e Triton X como controle positivo são apresentados na Figura 5. Os resultados demonstraram que o máximo grau de hemólise do extrato hidroalcoólico foi de 12,27% para a concentração de 60 µg/mL, enquanto que o menor índice (10,03%) foi observado na concentração de 500 µg/mL. O controle de referência apresentou resultado com 100% de hemólise eritrocitária.

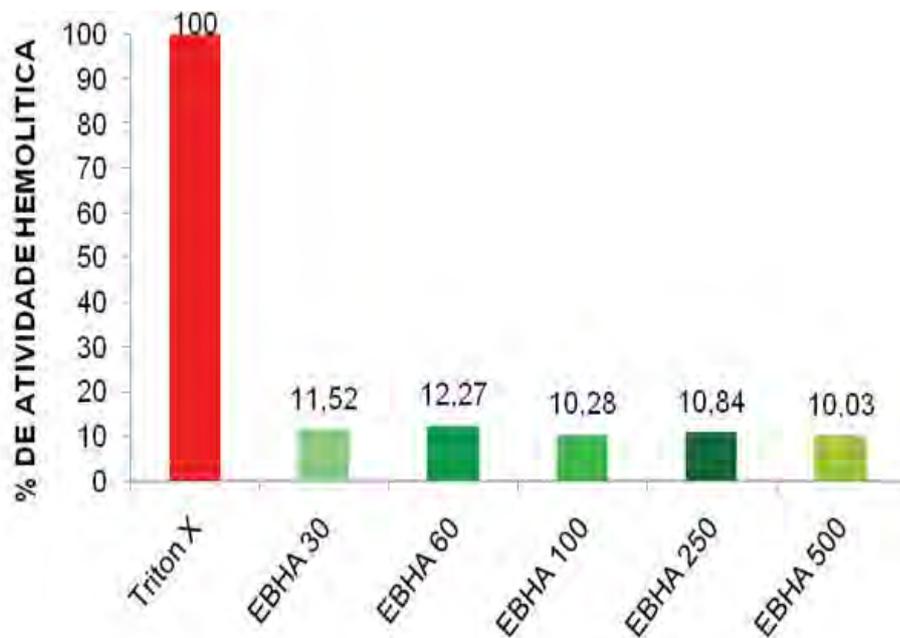


Figura 5. Percentual de hemólise em eritrócitos de ratos nos modelos experimentais com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*) em relação ao modelo experimental controle positivo (Triton X).

No teste em evidência, esses valores indicaram baixa atividade hemolítica do EBHA de *H. drasticus*, conferindo baixa toxicidade quando comparado aos critérios que estabelecem níveis de toxicidade de extratos vegetais. Nesse particular, percentuais de hemólise de 20% indica que o extrato apresentou baixa toxicidade. Dados que

corroboram com PROKOF'EVA et al. (2004) ao classificarem a atividade de substâncias hemolíticas, em que percentuais inferior a 20% é classificado como baixa toxicidade, de 20 a 50% a toxicidade é moderada, acima de 50% expressa alta toxicidade da substância testada.

Considerando que o resultado da triagem fitoquímica indicou a presença de saponinas no extrato vegetal, é provável que a concentração e o tipo de saponina tenham influenciado para os baixos valores percentuais de hemólises nos ensaios. No entanto, deve-se considerar que esses resultados não asseguram em definitivo o EBHA de *H. drasticus* para recomendações de uso. Outros testes que detectam efeitos colaterais deverão ser executados para confirmar sua real segurança de utilização.

3.5 Respostas da atividade toxicológica aguda do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de *H. drasticus* em camundongos

No decorrer de 14 dias de observação não foram registradas alterações clínicas relacionadas às mudanças do padrão de comportamento normal dos animais, sejam elas estimuladoras (midríase, sialorréia, convulsão, piloereção, taquipnéia) ou depressoras (ataxia, sedação, paralisia, dispnéia) do sistema nervoso central. Esses resultados evidenciaram a baixa toxicidade aguda do EBHA de *H. drasticus* nas doses testadas, estando em conformidade com os dados de SOUSA et al. (2010) que administraram via oral doses crescentes (50, 300 e 2000 mg/kgPC) de extrato etanólico de *H. drasticus* em camundongos e também verificaram baixa toxicidade aguda do extrato. Esses dados também corroboram com FERNANDES et al. (2000) citado por LIMA (2005) quando testou a toxicidade aguda do extrato de *H. succuba* em camundongos e com os resultados obtidos por GUERRA & PETERS (1991) que observaram baixa toxicidade reprodutiva e teratogênica em ratas tratadas com extrato do vegetal.

O peso e os exames necroscópicos dos rins, pulmões, coração, fígado e baço dos animais tratados com doses crescentes do EBHA de *H. drasticus* não apresentaram alterações e também não foi verificada ($p > 0,05$) para essas variáveis (Tabela 3).

Tabela 3. Peso médio (g) dos órgãos de camundongos *Swiss albino* (*Mus musculus*), submetidos ao tratamento oral com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*)

Tratamentos/concentração (g/kg)	Órgãos (g) ^a			
	Pulmão	Coração	Fígado	Baço
T ₁ - GC	8,1 ⁽⁺⁾	5,0 ⁽⁺⁾	8,66 ⁽⁺⁾	4,0 ⁽⁺⁾
T ₂ - 0,5	10,3	5,1	8,06	4,0
T ₃ - 1,0	11,3	5,6	8,28	4,8
T ₄ - 2,0	9,7	5,3	8,86	4,6
T ₅ - 3,0	8,8	5,2	9,01	3,6

⁽⁺⁾ não significativo ($p>0,05$) para os valores das médias comparadas na coluna, (Teste F); ^a peso do órgão/peso do animal; T₁ - CG (grupo controle); T₂, T₃, T₄ e T₅ – EBHA de janaúba (*H. drasticus*).

Todos os tratamentos (T₂, T₃, T₄ e T₅) apresentaram resultados semelhantes aos do grupo não tratado (T₁). No entanto, na dose de 3,0 g/kg, dois animais apresentaram pulmões com discreto aumento de volume, hepatizado e presença de pústulas. Estas alterações pulmonares foram relacionadas com o possível ingurgitamento traqueal no momento da administração do extrato.

No que se refere aos componentes bioquímicos avaliados, não foram observadas diferenças ($p>0,05$) na atividade sérica das enzimas aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e também na concentração sérica de uréia, creatinina e proteína total dos grupos testados com EBHA (T₂; T₃; T₄ e T₅) em relação ao grupo controle (T₁), conforme expressa os resultados na Tabela 4.

Tabela 4. Valor médio da atividade sérica de AST/ALT e concentração sérica de Proteína total em camundongos *Swiss albino* (*Mus musculus*), submetidos ao tratamento oral com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*) em relação ao grupo controle (T₁)

Componentes	Doses testadas (g/kg)				
	T ₁ - GC	T ₂ - EBHA (0,5)	T ₃ - EBHA (1,0)	T ₄ - EBHA (2,0)	T ₅ - EBHA (3,0)
AST (U/l)	98 ⁽⁺⁾	87	75	76	81
ALT (U/l)	83 ⁽⁺⁾	100	88	77	79
Uréia (mg/dL)	45 ⁽⁺⁾	49	44	48	47
Creatinina (mg/dL)	0,5 ⁽⁺⁾	0,6	0,5	0,4	0,6
Proteína total (g/dL)	6,0 ⁽⁺⁾	6,7	5,8	6,5	6,1

⁽⁺⁾ não significativo para os valores das médias comparadas na linha, (Teste F); AST (Aspartato aminotransferase); ALT (Alanina aminotransferase); T₁ - CG (grupo controle); T₂, T₃, T₄ e T₅ – EBHA de janaúba (*H. drasticus*).

Quanto à variação do peso corporal dos animais no período, a Tabela 5 evidencia que não ocorreram variações ($p > 0,05$) entre os grupos tratados com as doses crescentes do EBHA ($T_2 - 0,5$ g/kg; $T_3 - 1,0$ g/kg; $T_4 - 2,0$ g/kg e $T_5 - 3,0$ g/kg), cujos resultados foram semelhantes ao grupo controle (T_1). Esses dados são indicativos de que o consumo de alimentos pelos animais não sofreu alterações e associados aos resultados dos testes de bioquímica sérica sugerem que foi mantida a integridade da função hepática e renal.

Tabela 5. Média do peso corporal (g) inicial (D0), intermediário (D7), final (D14) e variação do peso corporal (VPC) de camundongos *Swiss albino* (*Mus musculus*), submetidos ao tratamento oral com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*) em diferentes doses

Tratamento/dose (g/kg)	Dias		
	D0	D7	D14
$T_1 - GC$	23,00 ⁽⁺⁾	23,20 ⁽⁺⁾	24,50 ⁽⁺⁾
$T_2 - 0,5$	25,20	24,40	24,30
$T_3 - 1,0$	26,60	25,60	26,00
$T_4 - 2,0$	23,80	22,80	22,40
$T_5 - 3,0$	26,00	26,20	25,00

⁽⁺⁾ não significativo para os valores das médias comparadas na coluna, (Teste F); $T_1 - GC$: grupo controle; T_2 ; T_3 ; T_4 e T_5 : EBHA de janaúba (*H. drasticus*).

Não foi possível estabelecer a DL_{50} (dose letal) com essas dosagens do extrato, o que remete a necessidade de mais investigações, testando-se outras vias de aplicação (intraperitoneal), inclusive em animais machos da espécie já testada e também ampliando as investigações para animais de outras espécies (ratos, coelhos).

3.6 Respostas da atividade ovicida *in vitro* do EBHA de *H. drasticus* sobre nematódeos gastrintestinais em ovinos

O resultado do cultivo de larvas *in vitro* de nematódeos gastrintestinais em ovinos, sobretudo no tratamento controle negativo (T_1), mostrou a presença de larvas infectantes de 3º estágio (L3) pertencentes aos gêneros *Haemonchus*, *Cooperia*, *Oesophagostomum* e *Trichostrongylus*. Esses resultados encontram semelhanças com

os dados de outros estudos que consideram a infecção de ovinos por esses nematódeos uma característica comum envolvendo os animais das diferentes regiões do Brasil (COSTA & VIEIRA, 1984; THOMAZ-SOCCOL et al. 2004; FERNANDES et al. 2004; VIEIRA, 2008).

A eficácia *in vitro* do EBHA sobre a redução total e por gênero do número de larvas de nematódeos gastrintestinais em ovinos demonstrou um comportamento de resposta dose-dependente nas concentrações (250, 500 e 1000 mg/mL) do extrato, quando os resultados foram comparados ao controle negativo (T₁). Os dados demonstraram que a concentração de 250 mg/mL apresentou eficácia superior a 90%, enquanto nas concentrações de 500 mg/mL e 1000 mg/mL a efetividade do extrato no teste foi superior a 99% (Tabela 6).

Tabela 6. Redução na contagem média de larvas fecais (RCLF) *in vitro* com a utilização do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*) no LPG de nematódeos gastrintestinais de ovinos, em relação ao tratamento controle negativo (T₁)

Tratamento/concentração (mg/mL)	LPG	RCLF (%)
T ₁ - CN	1.743	-
T ₂ - 250	88	95,00 ^(*)
T ₃ - 500	12	99,31
T ₄ - 1000	00	100
T ₅ - CP	00	100

^(*) percentual de redução; T₁ - CN: Controle Negativo (água destilada); T₂; T₃; e T₄ - EBHA (*H. drasticus*); T₅ - CP: Controle Positivo (albendazole).

Estes resultados estão de acordo com BRASIL (1997) em que a ação antiparasitária *in vitro* do extrato de janaúba na concentração de 250 mg/mL (T₂) foi classificada como efetiva. Para as concentrações de 500 e 1000 mg/mL do extrato vegetal (T₃ e T₄), os resultados apresentaram elevada efetividade.

A Tabela 7 apresenta os resultados da redução *in vitro* de larvas infectantes (L3), por gênero, nas concentrações testadas com extrato hidroalcoólico de *H. drasticus*.

Tabela 7. Percentual de redução (PR) na contagem de larvas fecais (LPG) sobre gêneros de nematódeos gastrintestinais em ovinos após tratamento *in vitro* com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*), em relação ao tratamento controle negativo (T₁)

Tratamento/Concentração (mg/mL)	Gênero							
	<i>Haemonchus</i>		<i>Cooperia</i>		<i>Oesophagostomum</i>		<i>Trichostrongylus</i>	
	LPG	PR ^(*)	LPG	PR ^(*)	LPG	PR ^(*)	LPG	PR ^(*)
T ₁ - CN	6906	-	2429	-	781	-	341	-
T ₂ - 250	281	95,93	116	95,22	93	88,09	38	88,85
T ₃ - 500	49	99,29	14	99,42	09	98,85	00	100
T ₄ -1000	00	100	00	100	00	100	00	100
T ₅ - CP	00	100	00	100	00	100	00	100

^(*) percentual de redução; T₁ - CN: Controle Negativo (água destilada); T₂; T₃ e T₄ – EBHA (*H. drasticus*); T₅ - CP: Controle Positivo (albendazole).

Os resultados demonstraram que a concentração de 250 mg/mL utilizada em T₂ apresentou redução efetiva para os gêneros *Haemonchus* e *Cooperia* e foi moderadamente ativa para os gêneros *Oesophagostomum* e *Trichostrongylus*. Por outro lado, as concentrações de 500 mg/mL e 1000 mg/mL administradas, respectivamente, nos tratamentos (T₃) e (T₄), apresentaram resultados altamente efetivo, tendo sido observado em T₄, total inibição no desenvolvimento de larvas (L3), assemelhando-se aos resultados obtidos nas culturas tratadas com albendazole (T₅).

A eficácia *in vitro* do EBHA de *H. drasticus* sobre a redução de larvas L3, observada nas concentrações (T₂ e T₃) foi superior ao índice de 89% de inibição obtida por CHAGAS & VIEIRA (2007) quando avaliaram a atividade *in vitro* do extrato aquoso extraído das folhas de *A. indica* sobre a eclosão de lavas de nematódeos em caprinos. Assemelha-se, porém, aos resultados de inibição *in vitro* com extratos aquosos de *M. cavendishii* e *C. papaya*, registrados por BATATINHA et al. (2004) que obtiveram redução na contagem de L3 superior a 95% para todos os gêneros de helmintos em caprino.

Considerando somente o efeito da maior concentração testada em T₄, os resultados na redução são semelhantes aos obtidos por FARIA et al. (2010) que avaliaram *in vitro* o óleo de *C. guianensis* em diferentes concentrações (30, 50 e 100%) sobre nematódeos gastrintestinais em ovinos e caprinos e obtiveram redução altamente

efetiva, com eclodibilidade nula para todos os gêneros de helmintos nas duas espécies de animais testadas.

Os níveis de significância verificados entre os tratamentos da eficácia ovicida do EBHA de *H. drasticus* sobre a eclodibilidade das larvas de helmintos gastrintestinais em ovinos, são apresentados na Tabela 8, onde foi evidenciada diferença significativa ($p < 0,01$) entre os valores de LPG das larvoculturas tratadas com extrato hidroalcoólico em relação ao controle negativo (T_1).

Os resultados obtidos nas concentrações testadas em T_4 e T_5 não foram submetidos à análise de significância, haja vista que nestes tratamentos houve 100% de efetividade sobre todos os gêneros de nematódeos em relação ao tratamento (Tabela 8).

Tabela 8. Valores da estatística (F), coeficiente de variação (CV) e médias obtidas na análise das variáveis nos tratamentos experimentais (T_2 e T_3) com a utilização do extrato hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*) em relação ao tratamento controle negativo (T_1)

Estatísticas	Variáveis			
	<i>Haemonchus</i> ^(*)	<i>Cooperia</i> ^(*)	<i>Oesophagostomum</i> ^(*)	<i>Trichostrongylus</i> ^(*)
F para Tratamento	339,26 (P<0,01)	65,48 (P<0,01)	118,39 (P<0,01)	60,47 (P<0,01)
CV	15,56	35,90	22,26	35,48
T_1 - CN	33,78 ^{a(++)}	19,61 ^{a(++)}	11,31 ^{a(++)}	7,32 ^{a(++)}
T_2 - EBHA	6,64 ^b	4,37 ^b	3,89 ^b	2,97 ^b
T_3 - EBHA	2,84 ^c	1,05 ^b	0,97 ^c	0,00 ^c

(*) Dados transformados em \sqrt{y} ; (++) médias seguidas de letras iguais na coluna, não diferem entre si (Tukey $p < 0,01$); T_1 CN: Controle negativo (água destilada); T_2 - 250 mg/mL e T_3 - 500 mg/mL (*H. drasticus*)

O extrato hidroalcoólico de *H. drasticus* nas concentrações testadas resultou na redução do número de larvas (L3), sobre todos os gêneros de helmintos, em relação ao tratamento controle negativo (T_1), e os efeitos dos tratamentos tiveram comportamento de resposta dose-dependente, evidenciando-se que o aumento da concentração do extrato vegetal corresponde a redução e/ou inibição do desenvolvimento das larvas de nematódeos gastrintestinais.

Os resultados obtidos no teste *in vitro* do efeito do EBHA de janaúba sobre os gêneros das larvas infectantes (L3) de nematódeos gastrintestinais em ovinos

colocaram em evidência a atividade anti-helmíntica do vegetal. Este efeito benéfico sobre helmintos gastrintestinais estar relacionado com os constituintes metabólitos do extrato, concordando com ATHANASIADOU et al. (2001) citado por MINHO (2006) ao sugerirem que taninos condensados exerce efeito direto sobre larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais. Também corrobora com SANDEEP et al. (2009) que observaram em três concentrações (10, 50 e 100 mg/mL) do extrato aquoso de *Euphorbia thymifolia* sobre nematódeos adultos de aves efeito dose-dependente, tendo sido isolados do extrato vegetal os compostos naturais, taninos, flavonóides, alcalóides, saponinas e terpenos.

Estes resultados são indicativos da possibilidade de utilização da janaúba em testes de atividade anti-helmíntica em pequenos ruminantes, pois a ação isolada ou conjunta de seus ativos implicaram em redução significativa dos principais gêneros de nematódeos gastrintestinais que determinam baixos rendimentos nas atividades pecuárias.

4. CONCLUSÕES

Botanicamente a Janaúba vermelha é classificada como *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel.

A análise química da matéria natural da casca de janaúba apresentou-se compatível com sua morfologia de formação.

A triagem fitoquímica do extrato e subextratos de janaúba apresentou diversos grupos de metabólitos secundários de interesse farmacológico.

Os ensaios pré-clínicos não revelaram efeitos nocivos para os organismos tratados com o extrato hidroalcoólico de janaúba.

O extrato hidroalcoólico da casca de janaúba (*H. drasticus*), nas concentrações utilizadas, foi efetivo no teste *in vitro*, atendendo aos requisitos legais para produtos fitoterápicos com ação antiparasitária.

A presença de constituintes químicos ativos (taninos, alcalóides e saponinas) no extrato hidroalcoólico de janaúba, possivelmente exerceram ação inibitória no desenvolvimento de larvas fecais dos gêneros de nematódeos gastrintestinais prevalentes.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. A. O.; SIMAS, M. M. S.; BOTURA, M. B.; BITTENCOURT, T. C. B. S. C.; SILVA, A.; BATATINHA, M. J. M. Avaliação *in vitro* dos efeitos do extrato alcoólico e do suco de alho (*Allium sativum* L.) sobre nematódeos gastrintestinais de caprinos. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife, PE, v. 7, n. 1, p. 36-43, 2004.

BATATINHA, M. J. M.; SANTOS, M. M.; BOTURRA, M. B.; ALMEIDA, G. M.; DOMINGUES, L. F.; ALMEIDA, M. A. O. Efeitos *in vitro* dos extratos de folhas de *Musa cavendishii* Linn. e de sementes de *Carica papaya* Linn. sobre culturas de larvas de nematódeos gastrintestinais de caprinos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, SP, v. 7, n. 1, p. 11-15, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 48, de 12 de maio de 1997. Regulamento técnico para licenciamento e/ou renovação de licença de produtos antiparasitários de uso veterinário. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, n. 92, Brasília, DF, 16 de maio de 1997. Seção 1, p. 10165.

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

CHAGAS, A. C. S. Controle de parasitos utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v.13, supl. 1, p.156-160, 2004.

CHAGAS, A. C. S.; VIEIRA, L. S. Ação da *Azadirachta indica* (Neem) em nematódeos gastrintestinais de caprinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 44, n. 1, p. 49-55, 2007.

CORRÊA, M. F. P.; MELO, G. O.; COSTA, S. S. Substâncias de origem vegetal potencialmente úteis na terapia da asma. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, PB, v. 18, supl., p. 785-797, 2008.

COSTA, C. A. F.; VIEIRA, L. S. **Controle de nematóides gastrintestinais de caprinos e ovinos do estado do Ceará**. Sobral. Embrapa-CNPC, 1984. 6 p. (Comunicado Técnico, 13).

COSTA, C. T. C.; MORAIS, S. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; SOUSA, M. M. C.; LEITE, F. K. A. Efeitos ovicida de extratos de sementes de *Mangifera indica* L. sobre *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 11, n. 2, p. 57-60, 2002.

COSTA, V. M. M.; SIMÕES, S. V. D.; RIET-CORREA, F. Controle das parasitoses em ovinos e caprinos na região semi-árida do Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 31, n. 1, p. 65-71, 2011.

CUNHA, L. C.; AZEREDO, F. S.; MENDONÇA, A. C. V.; VIEIRA, M. S.; PUCCI, L. L.; VALADARES, M. C.; FREITAS, H. O. G.; SENA, A. A. S.; LINO JÚNIOR, R. S. Avaliação da toxicidade aguda e subaguda, em ratos, do extrato etanólico das folhas e do látex de *Synadenium umbellatum* Pax. **Revista Brasileira farmacognosia**, João Pessoa, PB, v. 19, n. 2, p. 403-411, 2009.

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

FERNANDES, L. H.; SENO, M. C. Z.; AMARANTE A. F. T.; SOUZA, H.; BELLUZZO C. E. C. Efeito do pastejo rotacionado e alternado com bovinos adultos no controle da

verminose em ovelhas. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, MG, v. 56, n. 6, p. 733-740, 2004.

FRANCIS, G.; KEREM, Z.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. The biological action of saponins in animal systems: review. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 88, n. 6, p. 587-605, 2002.

FURTADO, S. K. **Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no Estado do Paraná: Testes *in vitro* e *in vivo***. 2006 147f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

GORDON, H. M.; WHITLOCK, H. V. A. New technique for counting nematodes eggs in sheep feces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research Australian**, Melbourne, v. 12, n. 12, p. 50-52, 1939.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vetable tannis) as drugs: possible modes of action. **Journal of Natural Products**, Washington, v. 59, n. 2, p. 205-215, 1996.

KANG, C.; MUNAWIR, A.; CHA, M.; SOHN, E-T; LEE, H.; KIM, J. S.; YOON, W. D.; LIM, D.; KIM, E. Citotoxicity and hemolytic activity of jellfish *Nemopilema nomurai* venom. **Comparative Biochemistry and Physiology Part. C: Toxicology & Pharmacology**, Philadelphia, v. 150, n. 1, p. 85-90, 2009.

LÊ JAMBRE, L.M.; ROYAL, W.M.A., A comparation of worm burdens in grazing merino shepp and Angora goats. **Auatralian Veterinary Jounal**, Sidney, v. 52, n. 4, p.181-183, 1976.

LIMA, F. C.; LUI, J. F.; SANTOS, A. C. G. dos.; TEIXEIRA, W. C. Atividade fitoterápica do extrato botânico bruto (EBB) *in natura* de *Himatanthus* Willd. ex. Schult. (Janaúba)

sobre larvas de nematóides gastrintestinais de ovinos da Ilha de São Luís – MA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, 21; ENCONTRO DE PARASITOLOGIA DO MERCOSUL, 2., 2009, Foz do Iguaçu **Revista Patologia Tropical**, Goiânia, GO, v. 38, supl. 2, p. 823, 2009.

LIMA, V. B. L.; BRAGA, R. M.; KOCH, I. Estudo fitoquímico de *Himatanthus obovatus*. 2003. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 23., 2000, Poços de Caldas, MG. **Resumos...** São Paulo: Sociedade brasileira de Química, 2000. Disponível em: <<http://www.s bq.org.br/ranteriores/23/resumos/0424/>>. Acesso em: 02 jun. 2011.

LIMA, V. B.; **Estudo fitoquímico de *Himatanthus obovatus* (Muell. Arg.) Woodson (APOCYNACEAE):** Isolamento, elucidação estrutural e atividade biológica. 2005. 174f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Universidade Estadual de Campinas, SP, Campinas, 2005.

LINHARES, J. F. P. **Sustentabilidade sócio-ambiental da extração de janaúba (*Himatanthus Willd. ex. Schult.*) no município de Alcântara, MA, Brasil.** 2010. 116f. Dissertação (Mestrado em Sustentabilidade de Ecossistemas) – Departamento de Oceanografia e Liminologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, 2010.

LÔBO, K. M. S.; ATHAYDE, A. C. R.; SILVA, A. M. A.; RODRIGUES, F. F. G.; LÔBO, I. S.; BEZERRA, D. A. C.; COSTA, G. M. Avaliação da atividade antibacteriana e prospecção fitoquímica de *Solanum paniculatum* Lam. e *Operculina hamiltonii* (G. Don) D. F. Austin & Staples, do semi-árido paraibano. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, SP, v. 12, n. 2, p. 227-233, 2010.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**, 1. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002, p. 451-452.

LORENZI, H. MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008, 544p.

MACEDO, I. T. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; OLIVEIRA, L. M. B. de.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; VIEIRA, L. da S.; OLIVEIRA, F. R.; QUEIROZ-JÚNIOR, E. E.; PORTELA, B. G.; BARROS R. S.; CHAGAS, A. C. S. Atividade ovicida e larvicida *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, SP, v. 18, n. 3, p. 62-66, 2009.

MALONE, M. H.; ROBICHAUD, R. C. The pharmacological evaluation of natural products – General and specific approaches to screening ethnopharmaceuticals. **Journal of Ethnopharmacology**, Shannon, Co, v. 8, n. 2, p. 127-147, 1983.

MARIZ, S. R.; BORGES, A. C. R.; MELO-DINIZ, M. F. F.; MEDEIROS, I. A. Possibilidades terapêuticas e risco toxicológico de *Jatropha gossypifolia* L.: uma revisão narrativa. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, SP, v. 12, n. 3, p. 346-357, 2010.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1998,141p.

MELLO, C. P.; SANTOS, S. C. Taninos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Org.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4 ed. Porto Alegre; Florianópolis: Editora Universitária UFRGS; UFSC, 2002, 950 p.

MESQUITA, A. C.; OLIVEIRA, L. E. M. Características anatômicas da casca e produção de látex em plantas de seringueira não exertadas. **Acta Amazônia**, Larvas, MG, v. 40, n. 2, p. 241-246, 2010.

MINHO, A. P. **Efeito anti-helmíntico de taninos condensados sobre nematódeos gastrintestinais em ovinos.** 2006. 164 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2006.

PLUMEL, M.M. Le genre *Himatanthus* (Apocinaceae). Revisión taxonomique: bradea. **Boletim do Herbarium Bradeanu**, Rio de Janeiro, v. 5, supl., p. 1-20, 1991.

PROKOF'EVA, N. G.; ANISIMOV, M. M.; SHENTSOVA, E. B.; POKHILO, N. D. The Hemolytic Activity of Epoxydammarane Triterpenoids, **Planta Medica**, Stuttgart, v. 70, n. 5, p. 476, 2004.

RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, Oxford, v. 39, n. 5, p. 603-613, 2001.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal.** 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 728 p.

RESENDE, E. A.; RIBEIRO, M. T. F. Conhecimento tradicional, plantas medicinais e propriedade intelectual: biopirataria ou bioprospecção? **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, SP, v. 7, n. 3, p. 37-44, 2005.

ROBERTS, F. H. S.; O' SULLIVAN, P. J. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infecting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v. 1. n. 1, p. 99-102, 1950.

SANDEEP, R. K.; SHRINIVAS, K. M.; JAYKUMAR, S. S. Antihelmintic activity of aqueous and methanolic extracts of *Euphorbia thymifolia* LINN. **International Journal of PharmaTech Research**, Mumbai, v. 1, n. 3, p. 666-669, 2009.

SAS, Institute. SAS/STAT 9,2 User's Guide. SAS Institute Inc. Cary , NC, USA, 2011.

SHOOP, W. L.; MICHAEL, B. F.; HAINES, H. W.; C. H. Anthelmintic activity of paraherquamide in calves. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 43, n. 3, p. 259-263, 1992.

SILVA, K. B.. Extrato botânico bruto (EBB) de Janaúba (*Himatanthus* Willd. ex. Schult.) utilizado como fitoterápico *in vitro* no controle de endoparasitas gastrintestinais em eqüinos da raça baixadeira. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA 22; SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UEMA. 2., 2010, São Luís, MA. **Anais...** Universidade Estadual do Maranhão, 2010.

SILVA, N. L. A.; MIRANDA, F. A. A.; CONCEIÇÃO, G. M. Triagem fitoquímica de plantas do Cerrado, da Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**, Itabaiana, SE, v. 6, n. 2, p. 1-17, 2010.

SILVA, V. C.; CARVALHO, M. G.; BORBA, H. R.; SILVA, S. L. C. Atividade anti-helmíntica dos flavonóides isolados das raízes de *Andira anthelmia* (Leguminosae) **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, PB, v. 18, n. 4, p. 573-576, 2008.

SILVA, W. W.; BRITO, A. F. S.; MARINHO, F. A.; MARINHO, F. A.; RODRIGUES, O. G.; ATHAYDE, A. C. R. Ação do extrato alcoólico do capim santo (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) sobre nematóides gastrintestinais de ovinos. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, Campina Grande, PB, v. 1, n. 1, p. 46-49, 2005.

SOUSA BRITO, A. R. M. **Manual de ensaios toxicológicos “in vivo” Ciências Médicas**. Campinas, Unicamp, 1994, p. 15-22.

SOUSA, E .L.; GRANJEIRO, A. R. S.; BASTOS, I. V. G. A.; RODRIGUES, G. C. R.; SILVA, M. J.; ANJOS, F. B. R.; SOUZA, I. A.; SOUSA, C. E. L. de. Antitumor activity of leaves of *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel-Apocynaceae (Janaguba) in the

treatment of sarcoma 180 tumor. **Brazilian Journal Pharmaceutical Science**, São Paulo, v. 46, n. 2, p.199-2003, 2010.

SPINA, A. P. **Estudos taxonômicos, micro-morfológico e filogenético do gênero *Himatanthus* Willd. Ex Schult. (Apocynaceae: Rauvolfioideae-Plumerieae)**. 2004. 197f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, SP, Campinas, 2004.

THOMAZ-SOCCOL, V.; CASTRO, E. A.; POHL, F.; MORAES, F. R.; SOTOMAIOR, C. Anthelmintic resistance in sheep. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, PR, v. 47, n. 1, p. 41-47, 2004.

UENO, H.; GONÇALVES, P. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 4 ed., Tokyo. Japan International Cooperation Agency, 1998. 143 p.

VAN SOEST, P. J. Developmente of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 26, n. 1, p. 119-128, 1967.

VIEIRA, L. S. Métodos alternativos de controle de nematóides gastrintestinais em caprinos e ovinos. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, PB, v. 2, n. 2, p. 49-56, 2008.

CAPITULO 3. TESTE DE EFICÁCIA *IN VIVO* DO EXTRATO BRUTO HIDROALCOÓLICO (EBHA) DE JANAÚBA (*HIMATANTHUS DRASTICUS* MART. PLUMEL) SOBRE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS EM OVINOS NATURALMENTE INFECTADOS.

RESUMO – O trabalho objetivou avaliar eficácia *in vivo* do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*Himatanthus drasticus*) sobre nematódeos gastrintestinais e dos possíveis efeitos tóxicos em ovinos. Para avaliação *in vivo*, 30 ovinos com peso corporal (PC) médio de 15,7 kg e idade entre quatro a 18 meses, naturalmente infectados foram distribuídos aleatoriamente em cinco tratamentos casualizados: T₁ – controle negativo (sem tratamento), T₂ – 250 mg/kgPC (EBHA), T₃ – 500 mg/kgPC (EBHA), T₄ 1000 mg/kgPC (EBHA) e T₅ – controle positivo (albendazole). Os grupos eram compostos por seis animais que foram alojados em unidades experimentais e tratados por 30 dias em regime de confinamento. Durante o período foram colhidas amostras fecais para exames coproparasitológicos e sanguíneas para exames de bioquímica sérica e eritrograma. De cada tratamento, ao final do período experimental foi necropsiado um animal para exames macroscópico e de histopatologia do fígado, rins e baço. Foi aferido o peso corporal individual antes do início do tratamento, durante o período nas pré-dosificações e ao final da experimentação. Houve redução do número de ovos fecais de 84,93% (T₂), 89,15% (T₃), 83,68% (T₄) e 99,37% (T₅). Os percentuais de redução no total de larvas L3 apresentaram índices de 66,26% (T₂), 58,69% (T₃), 49,58% (T₄) e 95,65% (T₅). O perfil bioquímico para os níveis de uréia e creatinina nos grupos tratados demonstrou que a função renal não foi influenciada pelos tratamentos, bem como a atividade das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), que se mantiveram dentro dos valores de normalidade para espécie, pressupondo a preservação da função hepática. A exceção do tratamento controle positivo (T₅), os demais tratamentos manifestaram variações no eritrograma e proteinograma que estiveram abaixo ou no limite inferior dos valores de normalidade para a espécie. Não houve alterações macroscópicas no fígado e

rins sugestivos de toxicidade pela administração do extrato de *H. drasticus*. O exame histológico constatou degeneração hidrópica de hepatócitos nos animais dos grupos T₄ e T₅. Ao final do período houve incremento favorável no peso corporal dos animais tratados com o extrato e albendazole, quando comparado com o grupo não tratado (T₁). Nas condições em que foi desenvolvida a pesquisa e com as concentrações testadas, o extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de *H. drasticus*, apresentou *in vivo*, ação moderadamente efetiva para o controle de nematódeos gastrintestinais em ovinos, com baixo risco de toxicidade para os animais tratados.

Palavras-chave: Controle de helmintos, fitoterápico, pequenos ruminantes, tratamento alternativo.

CHAPTER 3. *IN VIVO* TESTING OF JANAUBA (*HIMATANTHUS DRASTICUS* MART. PLUMEL) HYDROALCOHOLIC CRUDE EXTRACT (HACE) EFFICACY TO TREAT GASTROINTESTINAL NEMATODE OF NATURALLY INFECTED SHEEP.

Summary – The study aimed to evaluate *in vivo* the efficacy of frangipani (*Himatanthus drasticus*) hydroalcoholic crude extract (HACE) to treat gastrointestinal nematode and its possible toxicity to sheep. The *in vivo* testing was carried out in 30 naturally infected sheep, weighing (BW) an average 15.7 kg and aged between 4 and 18 months. The animals were distributed randomly in five treatments as follows: T₁ – negative control (without treatment), T₂ – 250 mg/kgPC (HACE), T₃ – 500 mg/kgPC (HACE), T₄ - 1000 mg/kgPC (HACE) and T₅ – positive control (albendazole). Each group had five animals that were housed in experimental units and treated for 30 days in confinement. During the period, fecal and blood samples were collected for fecal and blood tests, serum biochemistry and erythrogram. One animal from each treatment was necropsied for macroscopic examination and histopathology of liver, kidneys and spleen. Body weight was determined individually before treatment started, during the treatment, before pre-dosages, and at the end of the trial. The number of eggs decreased 84,93% (T₂), 89,15% (T₃), 83,68% (T₄) and 99,37% (T₅). Total larvae counts L3 decreased at the following percentages 66,26% (T₂), 58,69% (T₃), 49,58% (T₄) and 95,65% (T₅). The biochemical profile for urea and creatinine levels of the treated group showed that renal function was not affected by treatments, as well as the activity of the enzymes aspartate aminotransferase (AST) and alanina aminotransferase (ALT), which remained within the standard range for the species, thus assuming preservation of liver function. With the exception of positive control (T₅), all other treatments displayed changes in the protein profile and erythrogram, whose values were below or above reference values for the species. The macroscopic findings showed no changes in liver and kidney suggestive of toxicity by the administration of the extract of *H. drasticus*. Histological examination showed degeneration of hepatocytes of sheep from groups T₄ and T₅. At the end of the period, the sheep from the groups treated with extracts

and albendazole had increased weight gain compared with the sheep in the control group without treatment (T₁). Under the conditions of this research and at the tested concentrations, the hydroalcoholic crude extract (HACE) of *H. drasticus* was moderately effective to control gastrointestinal nematode in sheep, and posed low toxicity risk for the treated animals. with the extract and albendazole

Keywords: Control of parasitic worms, herbal, small ruminants, alternative treatment.

1. INTRODUÇÃO

As perdas geradas pelo parasitismo gastrointestinal constituem-se como um dos graves problemas para o crescimento dos rebanhos de pequenos ruminantes, seja na atividade pecuária familiar ou industrial. Os elevados índices de mortalidade, o alto custo com medicamentos antiparasitários e o surgimento de cepas de parasitos resistentes aos anti-helmínticos convencionais são fatores considerados limitantes no incremento da produção pecuária. Além disso, deve-se considerar que o controle das parasitoses gastrintestinais é realizado, rotineiramente, com o uso de quimioterápicos, na maioria das vezes de forma incorreta, acelerando ainda mais o processo de desenvolvimento da resistência parasitária (CAVALCANTI et al. 2007).

Estudos afirmam que a resistência parasitária aos anti-helmínticos convencionais está presente nos rebanhos ovinos nas diferentes regiões do Brasil. Na região Sul, foi constatado que cerca de 60 e 90% do rebanho ovino do estado de Santa Catarina apresentou resistência aos tratamentos com os compostos ivermectina e benzimidazole, respectivamente (RAMOS et al. 2002). No estado do Paraná, THOMAZ-SOCCOL et al. (2004) verificaram resistência anti-helmíntica nos rebanhos ovinos na maioria das regiões do Estado com indicadores de 88,1% (oxfendazole); 78,6% (ivermectina); 56,4% (closantel) e 38% (levamisole).

Na região Nordeste, os levantamentos comprovam a resistência anti-helmíntica em rebanhos de ovinos e caprinos. PEDROSA et al. (2003) avaliaram os aspectos epidemiológicos e sanitários dos sistemas de criação de caprinos e ovinos no noroeste do estado do Rio Grande do Norte e constataram que 73% das propriedades estudadas utilizavam somente o albendazole para controlar as verminoses dos rebanhos. No estado do Ceará foi constatada resistência do *H. contortus* à ivermectina e netomibin em ovinos provenientes dos estados do Paraná e Rio Grande do Sul. Esse nematódeo também manifestou resistência para os compostos oxfendazole, levamisole e ivermectina em ovinos e caprinos provenientes da região (VIEIRA et al. 1992; MELO et al. 2003).

Além da resistência, outros fatores agravantes do uso de produtos químicos para o controle das helmintoses são os efeitos tóxicos sobre o ambiente e os riscos de resíduos nos produtos de origem animal. Essa constatação vem promovendo mudanças no perfil dos consumidores no que se refere às exigências por alimentos mais saudáveis, forçando a busca por formas alternativas de controle que sejam eficientes como antiparasitárias e seguras para os agentes envolvidos (CAVALCANTI et al. 2007).

Os testes de eficácia *in vivo*, também denominados clínicos, são realizados com a espécie alvo e permitem a indicação terapêutica das propriedades medicinais da planta (CAMURÇA-VASCONCELOS et al. 2005). Assim, ovinos naturalmente infectados por *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus colubriformis*, tratados com extrato aquoso das folhas de *Acacia mearnsii* contendo 15% de taninos condensados na dose de 1,6g/kgPC, tiveram redução significativa do número de ovos fecais (OPG). Caprinos que receberam, diariamente, folhas de bananeiras (*Musa spp.*) por um período de 25 dias tiveram redução da carga parasitária por nematódeos gastrintestinais, quando comparados com o grupo controle. Essa redução foi de 57,1; 70,4; 65,4 e 59,5% para os gêneros *Haemonchus*, *Oesophagostomum*, *Trichostrongylus* e *Cooperia*, respectivamente ((MINHO, 2006; OLIVEIRA et al. 1997).

Na avaliação da eficácia *in vivo* do uso das folhas de *Marmodica charantia*, do farelo de *Operculina hamiltonii* e da semente de *Cucurbita pepo* em infecções helmínticas de caprinos naturalmente parasitados, após 30 dias dos tratamentos, o percentual na redução de ovos por gramas de fezes foi de 94,17; 85,79 e 96,95%, respectivamente. O uso de *O. hamiltonii* na forma de extrato aquoso reduziu em 42,8% o OPG de caprinos naturalmente infectados por nematódeos gastrintestinais (ALMEIDA et al. 2007; RODRIGUES et al. 2007).

DOMINGUES (2008) verificou baixa atividade anti-helmíntica *in vivo* do resíduo líquido de *Agave sisalana* em caprinos naturalmente infectados. A concentração de 0,96 g/kg do peso corporal, utilizada em dois períodos distintos (oito e 15 dias) não apresentou diminuição do OPG e o percentual de redução do número total de larvas (L3) foi de 36% e 31%, respectivamente, concluindo que o suco de *A. sisalana*

manifestou reduzida eficácia *in vivo*. PENELUC, (2009) testou a atividade anti-helmíntica *in vivo* do extrato aquoso de *Zanthoxylum rhoifolium* em ovinos, nas concentrações de 193,7 a 335,0 mg.mL⁻¹, e verificou redução no OPG com variações de 51 a 90% e de 0 a 91% para as doses testadas, respectivamente. Nesse estudo, os parâmetros clínicos e bioquímicos avaliados permaneceram na faixa de normalidade, e as análises histopatológicas não revelaram alterações sugestivas de toxicidade.

Objetivou-se testar a eficácia anti-helmíntica *in vivo* do extrato bruto hidroacoólico (EBHA) extraído da casca do vegetal sobre a redução do parasitismo gastrointestinal em ovinos naturalmente infectados.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Baixada Maranhense

A Microrregião da Baixada Maranhense (Figura 1) está localizada na região de confluência dos rios Mearim e Pindaré, situada na porção norte do Estado do Maranhão, ocupando uma área de 17.579,37 km², envolvendo 21 municípios (OLIVEIRA FILHO & TSUJI, 2008).

A temperatura média anual é superior a 27°C, sendo as médias elevadas observadas nos meses de setembro a novembro, enquanto as mais amenas são registradas nos meses de maio a julho. A umidade relativa do ar varia de 79 a 82% e existem duas estações definidas, uma chuvosa (janeiro a julho) com precipitação pluvial média de 300 mm mensais e outra caracterizada por um período seco (agosto a dezembro) onde o índice pluvial é inferior a 45 mm mensais (OLIVEIRA FILHO & TSUJI, 2008).

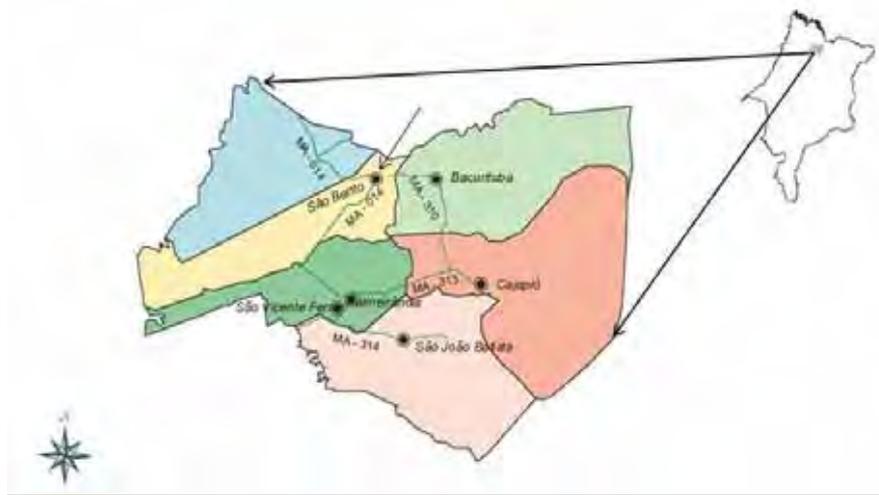


Figura 1. Mapa geográfico do Estado do Maranhão: Localização do município de São Bento na microrregião da Baixada Maranhense. Fonte: Oliveira Filho & Tsuji (2008).

2.2 Delineamento experimental

No período de 30/03 a 10/05/2010, nas dependências da Fazenda Experimental José Reinaldo Tavares, localizada no município de São Bento/MA, de propriedade da Universidade Estadual do Maranhão/UEMA, na Baixada Maranhense ($02^{\circ} 41'45''S$ e $44^{\circ}49'17''W$), 30 ovinos sem padrão racial definido (SPRD), com idade entre quatro a 18 meses e peso corporal médio de 15,7 kg (7,0 kg = menor peso e 27 kg = maior peso), infectados naturalmente com nematódeos gastrintestinais, foram submetidos à experimentação em regime de confinamento com o uso do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*). O delineamento foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e seis repetições.

Conforme dados climáticos apresentados pelo NUGEO/UEMA os indicadores meteorológicos correspondente ao período experimental, registraram na região da Baixada Maranhense as seguintes médias: temperatura ($27,13^{\circ}C$), umidade relativa (85%) e precipitação pluvial (160, 5 mm).

2.3 Triagem dos animais e estabelecimento dos tratamentos

Os animais eram provenientes de diferentes propriedades rurais da Baixada Maranhense onde eram criados em sistemas semi-extensivos com baixos níveis de tecnologias e sem histórico de vermifugações recentes. Os animais foram avaliados mediante exame físico (PUGH, 2005) verificando-se coloração da membrana mucosa conjuntival, escore corporal, aspectos dos pêlos, secreção nasal, tosse, apatia e presença de edema submandibular.

Cada animal recebeu identificação própria, representada por números marcados em brincos plásticos, aplicados na orelha. Posteriormente foram distribuídos em cinco grupos e alojados em unidades experimentais com área de 4,0 x 4,0 m², piso ripado suspenso, com seis animais por unidade (Figura 2).



Figura 2. Vista panorâmica das instalações e distribuição dos grupos nas unidades experimentais, por tratamento.

Os tratamentos foram denominados:

T₁ – Controle Negativo (CN): Água destilada;

T₂ – EBHA (250 mg/kgPC);

T₃ – EBHA (500 mg/kgPC);

T₄ – EBHA (1000 mg/kgPC);

T₅ – Controle Positivo (CP): Albendazole.

A contagem do número de ovos por gramas de fezes (OPG) pré-tratamento nos animais experimentais variou entre 500 a 25.200 OPG e as médias de infecção nos grupos foram consideradas satisfatórias para os parâmetros que estabelece os níveis de infecção parasitária em pequenos ruminantes: < 500 OPG - leve; entre 500 a 1.500 OPG - moderada; > 1.500 OPG – elevada (UENO e GUTIERRES, 1983).

Os registros do peso corporal (PC) individualizado foram realizados nos dias Zero, 14 e 28, após jejum de 12 horas, antecedendo a administração das dosagens e no final do período (35) para aferição da variação do peso corporal.

2.4 Preparo do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de *H. drasticus*

No Laboratório de Farmacologia da Universidade Federal do Maranhão/UFMA, o extrato da casca de Janaúba foi produzido com solvente hidroalcoólico, diluído na concentração de 30%.

Na obtenção do EBHA adotaram os procedimentos reportados por MATOS (1998), onde no processo de extração, o pó da casca foi colocado sob maceração em solvente hidroalcoólico de EtOH: H₂O (70:30 v:v) em percolador de aço inoxidável com capacidade para 5000 mL. A mistura permaneceu em refluxo no percolador por sete dias, submetida à agitação esporádica a cada três dias para fins de melhor solubilização dos metabólitos da planta. A extração do macerado foi realizada mediante três trocas sucessivas com renovação do solvente, até a exaustão da extração. O extrato bruto hidroalcoólico foi concentrado em rotaevaporador (Laborota 4000-Heidolph[®]) até a completa extração do etanol. Alíquotas de 1 mL do extrato concentrado foram levadas à capela de secagem e submetidos à corrente de ar

aquecida, onde permaneceram até a obtenção do peso seco e quantificação do rendimento.

2.5 Protocolo de administração

O volume em mL/kgPC do extrato, nas doses pré-estabelecidas (250 mg/kgPC; 500 mg/kgPC e 1000 mg/kgPC) a ser administrado nos animais, teve como referência o peso seco do extrato em relação ao peso corporal (PC) individual dos animais e a dose em mL era ajustada em cada momento precedente à administração, constituindo-se no seguinte protocolo:

- T₁ - Água destilada (3,3 mL/kgPC);
- T₂ – EBHA: 250 mg (0,6 mL/kgPC);
- T₃ – EBHA: 500 mg (1,2 mL/kgPC);
- T₄ – EBHA: 1000 mg (2,4 mL/kgPC);
- T₅ – Albendazole - 10.000 mg (0,5 mL/10kgPC).

O protocolo de administração das dosagens obedeceu a três fases distintas, com intervalo de 14 dias: primeira fase (0 – 14 dias) com a 1ª aplicação no dia zero; segunda fase (14 – 28 dias) com a 2ª aplicação no dia 14 e terceira fase (28 – 35 dias) com 3ª aplicação no dia 28. Em cada fase, o EBHA foi administrado por três dias consecutivos, via oral por intermédio de aplicador metálico automático.

A avaliação do efeito dos tratamentos sobre a contagem de OPG, LPG, constituintes bioquímicos e sanguíneos ocorreu a cada sequência de administração das dosagens com a colheita de amostras de fezes e sangue, com e sem EDTA para exames de referência pré e pós dosificações.

2.6 Alimentação, higiene do ambiente e registro do peso vivo

Durante o período experimental, os animais foram alimentados com capim elefante picado (*Pannisetum purpureum* Schum.) em duas ofertas diárias (manhã e tarde) e suplementados com um concentrado básico (14,25% de PB e 63% de NDT)

composto de farelo de milho e torta de babaçu (50:50), além de mistura mineral comercial e água *ad libitum*. As unidades experimentais passavam por limpeza diária e a cada 10 dias eram higienizadas com cal virgem e solução de creolina (200 mL / 10 L de água) sobre o piso ripado (GOUVEIA et al. 2010).

Registrou-se o peso corporal inicial (D0) pré-tratamento, intermediário (D14) e o peso corporal final (D35) pós-tratamento para aferição da variação de peso corporal (VPC) dos animais no período.

2.7 Colheitas de material para exames laboratoriais

A colheita de material para exames coproparasitológicos (OPG, LPG), testes bioquímicos e hematológicos foram realizadas nos dias Zero, 7^o; 14^o; 21^o; 28^o e 35^o e tiveram os seguintes procedimentos:

a) Amostras fecais

As amostras fecais foram colhidas individualmente e diretamente da ampola retal dos animais de cada grupo, no horário da manhã, após jejum de 12 horas. As amostras foram armazenadas em sacos de polietileno devidamente identificados e acondicionados sob refrigeração (4°C), conduzidas ao laboratório de Doenças Parasitárias/Fazenda Escola São Bento/UEMA para processamento imediato do material.

b) Amostras Sanguíneas

Foram colhidas amostras de sangue venopunção jugular de cada animal experimental. As amostras eram depositadas em tubos coletores com capacidade para 5 mL com e sem anticoagulante EDTA (ácido etileno diaminotetracético, sal dissódico), mantidas sob refrigeração (4°C) até procederem aos exames bioquímicos e eritrograma.

c) Fragmentos de órgãos

Para avaliação anatomo-histopatológica de possíveis lesões em órgãos de intenso metabolismo (fígado, baço, rins), bem como registrar os achados de interesse macroscópico em relação ao parasitismo “post-mortem”, no 35 dia foi sacrificado um animal de cada grupo para realização de necropsias e colheita de órgãos, procedimento esse, executado conforme as determinações de VAN KRUIJNGEN (1954) e WINTER (1969). Registraram-se os achados macroscópicos de interesse, tanto em relação à exploração interna do aparelho gastrointestinal, quanto ao tamanho, forma e coloração dos órgãos.

Os procedimentos de eutanásia dos animais obedeceram aos Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA E BEM ESTAR ANIMAL (CEBEA) da Universidade Estadual Paulista – Unesp – Campus de Jaboticabal, conforme o Protocolo nº 012377 de 17 de junho de 2009.

2.8 Exames laboratoriais

Os exames laboratoriais foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas e Laboratório de Patologia Clínica Veterinária do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual do Maranhão – CCA/UEMA.

2.8.1 Exames coproparasitológicos

Realizou-se a técnica de GORDON & WHITLOCK (1939) com auxílio de câmara de McMaster, com resultados em ovos por gramas de fezes (OPG). Após resultados quantitativos foi realizada a técnica de ROBERTS & O’SULIVAN (1950) para o cultivo e recuperação de larvas de 3º estágio de helmintos gastrintestinais. A identificação genérica foi realizada por meio de chaves, para terceiro estágio (L3), conforme UENO & GONÇALVES (1998), tendo sido identificadas até 100 larvas de terceiro estágio nas

culturas de cada grupo. As observações foram realizadas em microscopia óptica de 100x e 400x.

2.8.2 Teste de redução da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) e larvas por gramas de fezes (LPG)

As médias aritméticas do número de ovos e larvas nas fezes, para cada grupo tratado (GT), foram calculadas e relacionadas com a média contada no grupo não tratado (GNT). A redução na contagem de ovos nas fezes (RCOF) foi determinada com o emprego da fórmula proposta (LÊ JAMBRE, 1976).

$$RCOF = \frac{\text{média LPG (GNT)} - \text{média LPG (GT)}}{\text{média LPG (GNT)}} \times 100$$

Em que: RCOF – redução na contagem de ovos fecais; GNT representa à média do OPG do grupo não tratado e GT a média do OPG dos grupos tratados.

Para estimar o percentual de redução do OPG, dentro de cada tratamento no período, relacionou-se a média da contagem do OPG inicial (Pré-tratamento) com a média da contagem do OPG final (Pós-tratamento) utilizando-se a fórmula matemática descrita por FURTADO (2006).

$$rco = \frac{\text{Pré} - \text{Pós}}{\text{Pré}} \times 100$$

Em que: rco - redução na contagem de ovos; **Pré** - média de ovos no exame no dia do início dos tratamentos; **Pós** - média de ovos no exame ao final da aplicação dos tratamentos.

Para a confirmação da eficácia do teste *in vivo* no OPG e LPG, utilizou-se o critério estabelecido por BRASIL (1997), por meio da Portaria Nº 48/1997 do MAPA que determina o índice de eficácia de um produto com ação antiparasitária: altamente efetivo >98%; efetivo 90-98%; moderadamente efetivo 80 – 89% e insuficientemente ativo <80%.

2.8.3 Bioquímica sérica

Para monitorar a eficácia e/ou a toxicidade da terapia, as amostras de sangue sem EDTA foram centrifugadas a 1.000 g, durante 10 minutos para separação do soro. Extraíu-se o soro colocando-se em tubos de polietileno, tipo *ependof* devidamente identificados e conservados à – 20°C de temperatura. Foram avaliadas as concentrações séricas de uréia (método da urease), creatinina (método cinético), proteína total (método do biureto) e as atividades das enzimas aspartato aminotransferase – AST e alanina aminotransferase – ALT (método cinético). Para a realização dos testes foi utilizado reagente comercial (Labtest Diagnóstica S.A.). As leituras dos parâmetros bioquímicos foram realizadas com espectrofotômetro digital, com comprimento de onda específico para cada constituinte.

2.8.4 Eritrograma

De cada amostra de sangue colhida com EDTA foram aferidos os dados relativos à contagem do volume globular (%) que foi determinado pelo método do microematócrito em micro-centrífuga, BIRGEL et al. (1982).

2.8.5 Histopatologia

Os Fragmentos do fígado, rins e baço foram incluídos em parafina para a realização de cortes histológicos corados pela técnica hematoxilina-eosina (LUNA,

1968). A avaliação dos cortes histológicos foi realizada em microscopia óptica, anotando-se os resultados em formulário apropriado.

2.9 Análises estatísticas

Foram realizadas Análise de Variância, por período. Os dados quantitativos foram analisados sob transformação quando necessários. As pressuposições da Análise de Variância: homogeneidade das variâncias e normalidade dos erros foi analisada pelos testes de Levene's e Kramer Von Mise e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p=5\%$) utilizando-se o programa estatístico SAS 9,2 (SAS Institute, Cary, USA, 2011).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Características do EBHA de *H. drasticus*

O extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) extraído das cascas de *H. drasticus*, apresentou coloração amarelo-âmbar e teve peso seco de 417g com rendimento de 9,26% onde pressupõe que cada 1 mL do extrato concentra 417mg/mL de ativos farmacológicos. De acordo com FERRARI et al. (2006) esses resultados são satisfatórios para avaliar a atividade farmacológica de extratos vegetais.

3.2 Exames coproparasitológicos

Os exames coproparasitológicos dos ovinos experimentais revelaram a presença de ovos de helmintos com características morfológicas típicas da família Thichostrongylidae, sendo as larvas pertencentes aos gêneros *Haemonchus*, *Cooperia*, *Oesophagostomum* e *Trichostrongylus*, caracterizando infecção mista. Esses resultados estão de acordo com as informações citadas por vários estudos ao descreverem que no

parasitismo gastrointestinal da espécie ovina, os agentes provedores da infecção, na grande maioria dos casos, estão relacionados aos nematódeos gastrointestinais pertencente à superfamília *Trichostrongyloidae* (FERNANDES et al. 2004; BOWMAN et al. 2006; VIEIRA, 2008).

3.3 Percentual de redução de ovos por grama de fezes (OPG) nos tratamentos

Durante o período experimental constatou-se redução na contagem de ovos fecais nos animais dos grupos tratados em relação ao grupo não tratado (Tabela1). A redução final foi de 84,93% para o grupo que recebeu extrato hidroalcoólico de janaúba (*H. drasticus*) na concentração de 250 mg/kg do peso corporal; 89,15% para os animais tratados com a concentração de 500 mg/kg; 83,68% no grupo tratado com a concentração de 1000 mg/kg do extrato e 99,37% para os animais tratados com albendazole. Essa redução do OPG entre 83,68 a 89,15% nos grupos tratados com EBHA demonstrou efeito moderadamente efetivo (BRASIL, 1997).

Tabela 1. Redução na contagem média de ovos fecais (RCOF) com utilização do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*) no OPG final (D35) em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados, em relação ao grupo controle negativo (T₁)

Tratamento/concentração (mg/kgPC)	OPG (D35)	RCOF (%)
T ₁ – CN	18.583	-
T ₂ – 250	2.800	84,93
T ₃ – 500	2.016	89,15
T ₄ – 1000	3.033	83,68
T ₅ – CP	116	99,37

T₁ – CN: Controle Negativo (água destilada); T₂; T₃; T₄ - EBHA (*H. drasticus*) e T₅ – CP: Controle Positivo (albendazole).

Os resultados assemelham-se aos de FURTADO (2006) que trabalhou com *Dicksonia sellowiana* na forma de pó, ofertada para ovinos naturalmente infectados na dose de 5g/kg de peso corporal e encontrou 86,06% de redução de ovos fecais. Também encontra semelhança com os resultados de GATHUMA et al. (2004) avaliando *Artemisia anthelmintica* e IQBAL et al. (2005) trabalhando com *Colotropis procera*

ofertadas naturalmente para ovinos naturalmente infectados e obtiveram diminuição de 89,8% e 88,04%, respectivamente, na contagem de ovos nas fezes.

Esses dados também corroboram com ALMEIDA (2007) que trabalhou com infecções naturais em caprinos utilizando o farelo de *Operculina hamiltonii* e constatou redução de 85,79% após 30 dias de tratamento. Concordam também com os 84% de redução do OPG em caprinos naturalmente infectados, registrada por SILVA et al. (2010) quando trabalharam com a mesma espécie vegetal adicionada à água e fornecida aos animais por um período de sete dias e também com a redução na carga parasitária de 87,06% registrada por VIEIRA et al. (2009) quando ofertaram a associação de farelos das raízes de jurubeba (*Solanum paniculatum* Linn.) e *Operculina hamiltonii* para caprinos naturalmente infectados após 28 dias de tratamento.

Esses resultados foram superiores aos 70,4% de redução de ovos nas fezes descrita por OLIVEIRA et al. (1997) quando trabalharam com folhas de *Musa* spp. incorporadas na alimentação de caprinos e também do índice de 75,9% relatado por NOGUEIRA et al. (2009) na diminuição do OPG de ovinos tratados com *M. charantia* na dose de 4g/kg do peso corporal. Porém, mantiveram-se abaixo dos índices de 94,17 e 96,95% de redução anti-helmíntica observada por ALMEIDA et al. (2007) utilizando os fitoterápicos de *M. charantia* e *C. pepo* em caprinos.

A redução na contagem média do número de ovos nas fezes, pré e pós-tratamentos dentro dos grupos tratados, apresentados na Tabela 2, expressa a efetividade anti-helmíntica do EBHA de *H. drasticus* durante o período.

Tabela 2. Redução na contagem média de ovos fecais (RCOF), dos OPGs pré (D0) e pós (D35) tratamento em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*)

Tratamento/concentração (mg/kgPC)	OPG (D0)	OPG (D35)	RCOF (%)
T ₁ - CN	3.816	18.583	-
T ₂ - 250	2.566	2.800	-9,12
T ₃ - 500	3.933	2.016	48,74
T ₄ - 1000	9.450	3.033	67,90
T ₅ - CP	1.066	116	89,12

T₁ - CN: Controle Negativo (água destilada); T₂; T₃ e T₄ - EBHA (*H. drasticus*); T₅ - CP: Controle Positivo (albendazole).

Os resultados demonstraram que o extrato hidroalcoólico de *H. drasticus* apresentou discreta diminuição da infecção parasitária dentro do tratamento. O efeito do extrato foi negativo (-9,12%) para a menor concentração (T₂) e foi insuficientemente ativo (BRASIL 1997) para as demais concentrações, registrando diminuição de ovos fecais em 47,74% com a concentração intermediária (T₃) e de 67,90% com uso da maior dosagem (T₄). Dados semelhantes foram registrados por NOGUEIRA et al. (2009) com extratos vegetais de *L. operculata* e *M. charantia*, nas concentrações de 4g /kg de peso corporal no controle de nematódeos gastrintestinais em ovinos que manifestaram redução de ovos nas fezes de 45,8% e 75,9%, respectivamente. Os resultados também concordam com FURTADO (2006) que observou redução da carga parasitária de 47% quando ovinos naturalmente infectados foram tratados com extrato aquoso de *Pterocaulum ininterruptum* na concentração de 33,34 mg/kg do peso corporal e com os dados de DOMIGUES (2008) que trabalhou com resíduo líquido de *A. silalana* na concentração de 0,96g/kg administrada em caprinos naturalmente infectados por períodos de oito e 15 dias e não obteve redução significativa do parasitismo gastrintestinal.

Os animais do grupo não tratado (T₁) tiveram aumento do parasitismo nos 35 dias de observação. O albendazole (T₅) reduziu a contagem de ovos fecais em 89,12%, sendo considerado moderadamente efetivo (BRASIL, 1997), demonstrando a existência de cepas de nematódeos já resistentes à droga química testada (CONDER & CAMPBELL, 1995; RAMOS et al. 2002; THOMAZ-SOCCOL et al. 2004; RODRIGUES et al, 2007; EURICO et al. 2010). Nesses grupos, é provável que o estresse promovido pelas condições de confinamento sobre os animais também tenha influenciado nesses resultados (VIEIRA, 2008).

A Tabela 3 apresenta os dados de significância entre os grupos experimentais registrados no período.

Nos animais tratados com EBHA de *H. drasticus* houve diferença ($p < 0,05$) a partir da segunda fase da experimentação (T₂), sendo os resultados mais expressivos para os tratamentos (T₃ e T₄) em relação ao grupo controle negativo (T₁) no final do período experimental.

Tabela 3. Valor médio do OPG em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), infectados naturalmente por nematódeos gastrintestinais e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*)

Dia	Tratamento/concentração (mg/kgPC)				
	T ₁ - CN	T ₂ - 250	T ₃ - 500	T ₄ - 1000	T ₅ - CP
00 ^(*)	3816	2566	3933	9450	1066
07	5883 ^{a(+)}	2033 ^{ab}	6000 ^a	4761 ^{ab}	616 ^b
14 ^(*)	5266 ^{a(+)}	1583 ^c	3266 ^{ab}	3066 ^{abc}	550 ^c
21	5600 ^{a(+)}	4033 ^{ab}	3416 ^{ab}	3850 ^{ab}	700 ^b
28 ^(*)	10966 ^{a(+)}	3800 ^b	2283 ^b	3450 ^b	416 ^b
35	18583 ^{a(+)}	2800 ^b	2216 ^b	3033 ^b	116 ^b

(*) indica o dia de aplicação do tratamento; (+) médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si (Tukey, $p > 0,05$); T₁ – CN: Controle Negativo (água destilada); T₂; T₃ e T₄ – EBHA (*H. drasticus*); T₅ – CP: Controle Positivo (albendazole).

Resultados semelhantes foram apresentados por SILVA et al. (2005) ao avaliarem a ação *in vivo* do extrato hidroalcoólico de capim santo *Cymbopogon citratus* sobre nematódeos de ovinos na concentração de 20mg/kg, tendo sido verificado significância na diminuição de ovos fecais 10 dias após a administração do extrato. Esses resultados também apresentaram semelhança com os obtidos por PARRA et al. (2011) quando utilizaram lâminas foliares de bananeira (*Musa spp.*) na alimentação de ovinos naturalmente infectados e obtiveram redução ($p < 0,05$) ao final dos tratamentos sugerindo a possibilidade de efeito anti-helmíntico cumulativo no uso da folha de bananeira.

Os animais tratados com albendazole (T₅) tiveram redução ($p < 0,05$) a partir do primeiro exame de ovos fecais pós-tratamento em relação aos animais do grupo controle negativo (T₁) e do grupo tratado com a concentração intermediária do EBHA (T₃), no entanto, nessa fase do tratamento, o comportamento foi semelhante ao observado nos grupos tratados com a menor (T₂) e maior (T₄) concentração do extrato. Dados que corroboram com os resultados de SILVA et al. (2005) que trabalharam com extrato hidroalcoólico de *C. citratus* no controle de nematódeos em ovinos, utilizando albendazole como controle positivo e não verificaram significância ($p > 0,05$) entre os grupos tratados com o fitoterápico em relação ao grupo tratado com o composto químico. A expressão desses resultados se traduz como indicativo de que *H. drasticus*

possui compostos ativos com propriedade anti-helmíntica, e ao exercer ação sobre a ovipostura dos parasitos adultos, possivelmente promovem diminuição da fecundidade das fêmeas (ATHANASIADOU et al. 2001 citado por MINHO, 2006).

A triagem fitoquímica do extrato e subextratos obtidos da casca de *H. drasticus* apresentou uma diversidade em componentes metabólitos, dentre os quais taninos, alcalóides, flavonóides e saponinas que são referendados como possuidores de ação anti-helmíntica. Possivelmente a ação isolada ou conjunta dessas substâncias tenha influenciado na diminuição de ovos nas fezes dos animais tratados (SHOPP et al. 1992; FRANCIS et al. 2002; SILVA et al. 2008; ROMERO et al. 2009; SANDEEP et al. 2009).

Nesse estudo não foi possível estimar quantitativamente os percentuais desses ativos presentes no extrato e subextratos do vegetal avaliados, no entanto, foi possível identificar dentre as classes de substâncias isoladas a presença de taninos condensados (TC) ao qual tem sido atribuída ação anti-helmíntica para ruminantes (MINHO, 2006; COSTA et al. 2008).

3.4 Redução de larvas infectantes de terceiro estágio (L3) nos tratamentos

Foi verificada discreta redução do número de larvas infectantes (L3) de nematódeos gastrintestinais (Tabela 4) nos grupos submetidos ao tratamento com EBHA de *H. drasticus* (T₂, T₃ e T₄) em relação ao grupo controle negativo (T₁).

Tabela 4. Redução na contagem média de larvas fecais (RCLF) com utilização do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*) no LPG final (D35) em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados em relação ao grupo controle negativo (T₁)

Tratamento/concentração (mg/kgPC)	LPG (D35)	RCLF (%)
T ₁ - CN	50.634	-
T ₂ - 250	17.080	66,26
T ₃ - 500	20.916	58,69
T ₄ - 1000	25.528	49,58
T ₅ - CP	2.201	95,65

T₁ - CN: Controle Negativo (água destilada); T₂; T₃ e T₄ - EBHA (*H. drasticus*); T₅ - CP: Controle Positivo (albendazole).

A redução do número de larvas por gramas de fezes (LPG) nos grupos tratados com EBHA foi de 49,58% (T₄), 58,68% (T₃) e 66,78% (T₂), mostrando efeito insuficientemente ativo (BRASIL, 1997). Dados que concordam com NOGUEIRA et al. (2009) que utilizaram folhas de bananeira (*Musa spp.*), fornecidas semanalmente (1x e 2x) durante 98 dias no controle de nematódeos gastrintestinais em ovinos naturalmente infectados, tendo sido observado redução média de 34,48% de larvas fecais. Também se assemelham aos dados de DOMINGUES (2008) que trabalhou com infecções naturais em caprinos utilizando o resíduo líquido de *A. sisalana* na concentração de 0,96g/kg do peso corporal em períodos determinados de oito e 15 dias e encontrou redução de LPG de 36% e 31%, respectivamente. O albendazole (T₅) reduziu o LPG nos animais em 95,55% apresentando efeito anti-helmíntico efetivo (BRASIL, 1997). Dados semelhantes aos 91,34% descritos por AHID et al. (2007) que trabalharam com caprinos infectados naturalmente, tratados com albendazole.

Na avaliação do efeito do extrato hidroalcoólico de *H. drasticus* na diminuição do número de larvas fecais dentro dos grupos tratados, considerando-se o total de larvas infectantes pré e pós-tratamento (Tabela 5), os resultados obtidos demonstraram que o extrato foi insuficientemente ativo (BRASIL, 1997) em que a menor concentração (T₂) não apresentou efeito (-10,90%) sobre a redução dos gêneros de nematódeos; a concentração intermediária (T₃) exerceu pouca influência na diminuição (11,37%) e a maior concentração (T₄) foi a que manifestou a melhor resposta (55%) sobre a emergência de larvas infectantes.

Tabela 5. Redução na contagem média de larvas fecais (RCLF), nos LPGs pré (D0) e pós (D35), dentro do tratamento em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*)

Tratamento/concentração (mg/kgPC)	LPG (D0)	LPG (D35)	RCLF (%)
T ₁ - CN	22890	50634	-
T ₂ - 250	15400	17080	-10,90
T ₃ - 500	23601	20916	11,37
T ₄ - 1000	56700	25528	55,00
T ₅ - CP	6378	2201	65,49

T₁ - CN: Controle Negativo (água destilada); T₂; T₃ e T₄ - EBHA (*H. drasticus*); T₅ - CP: Controle Positivo (albendazole).

Esses dados corroboram com os trabalhos de BATATINHA et al.(2004); DOMINGUES, (2008) e FARIA et al. (2010) ao relatarem em seus estudos os efeitos positivos da efetividade *in vitro* promovida pelo uso de extratos vegetais na redução de larvas de nematódeos gastrintestinais em ovinos e caprinos, no entanto, a manifestação desses efeitos em testes *in vivo* se traduz em ineficácia dos extratos das plantas testadas. Esse comportamento pode estar relacionado com pouca concentração de ativos da planta nas fezes, não sendo suficiente para inibir a eclosão das larvas dos parasitos no ambiente (ATHANASIADOU et al. 2001 citado por MINHO, 2006). O albendazole (T₅) reduziu em 65,49% a emergência de larvas nas fezes sugerindo presença de cepas resistentes, sendo considerado insuficientemente ativo (BRASIL, 1997). Resultados que se assemelham aos 72,3% relatados por RODRIGUES et al (2007) quando trabalharam com caprinos naturalmente infectados, tratados com albendazole.

A identificação genérica das larvas infectantes mostrou que os gêneros sobreviventes às medicações em ordem de infestação foram *Haemonchus* spp., seguido por *Cooperia* spp., *Oesophagostomum* spp. e *Trichostrongylus* spp.

A contagem das médias, seguida da significância do número de larvas infectantes (L3) dos gêneros de nematódeos gastrintestinais entre os grupos estão presentes nas Tabelas numeradas de 6 a 9 e demonstra que houve similaridade de inibição parasitária entre os resultados dos tratamentos com EBHA de janaúba (*H. drasticus*) para os gêneros *Cooperia*, *Oesophagostomum* e *Trichostrongylus*.

Constatou-se diferença ($p < 0,05$) entre os resultados dos grupos (T₂, T₃ e T₄) tratados com EBHA, em relação ao resultado do grupo não tratado (T₁), considerando-se a emergência dos gêneros *Haemonchus*, *Cooperia* e *Oesophagostomum*. Para incidência de *Haemonchus* nos grupos de animais tratados com EBHA (Tabela 6), essa diferença em relação ao T₁ só foi evidenciada na fase final dos tratamentos.

Esses resultados confirmam a elevada persistência do gênero *Haemonchus* em pequenos ruminantes (MATOS et al. 1997; BARRETO et al. 2006; AHID et al. 2007; EURICO et al. 2010; LIMA et al. 2010).

Tabela 6. Número médio de larvas infectantes (L3) de *Haemonchus* sp. em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*)

Dia	Tratamento/concentração (mg/kgPC)				
	T ₁ - CN	T ₂ - 250	T ₃ - 500	T ₄ - 1000	T ₅ - CP
00 ^(*)	8091	6057	9676	23635	3637
07	(10943) ⁽⁺⁺⁾ 100,92 ^{ab(+)}	(6059) 76,62 ^{bc}	(20400) 142,72 ^a	(13428) 105,85 ^{ab}	(2096) 37,06 ^c
14 ^(*)	(11323) 105,55 ^{a(+)}	(4797) 69,03 ^{ab}	(11368) 106,44 ^a	(9445) 88,77 ^a	(1650) 29,08 ^b
21	(12600) 111,93 ^{a(+)}	(15567) 124,47 ^a	(13598) 116,49 ^a	(14437) 109,68 ^a	(1400) 22,08 ^b
28 ^(*)	(25570) 159,37 ^{a(+)}	(16360) 127,64 ^{ab}	(9841) 99,15 ^b	(14319) 109,34 ^b	(833) 17,14 ^c
35	(45715) 231,43 ^{a(+)}	(15260) 123,51 ^b	(11434) 106,93 ^b	(14833) 111,29 ^b	(116) 5,00 ^c

^(*) indica o dia de aplicação do tratamento; ⁽⁺⁾ médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si (Tukey, $p > 0,05$); ⁽⁺⁺⁾ valores dentro do parêntese referem-se às médias dos dados sem transformação, seguida de valores transformados em \sqrt{y} e avaliados por meio da Análise de Variância. Em que: T₁ – CN: Controle Negativo (água destilada); T₂; T₃ e T₄ – EBHA (*H. drasticus*); T₅ – CP: Controle Positivo (albendazole).

No grupo tratado com albendazole (T₅) houve ação ($p < 0,05$) do composto químico sobre o desenvolvimento larval em relação aos demais grupos testados para todos os gêneros de nematódeos, do início até o final da experimentação, embora tenha sido verificado que nesse tratamento o gênero *Haemonchus* persistiu em todos os cultivos larvais, estando de acordo com MELO et al. (2003) que estudaram a resistência de nematódeos a anti-helmínticos em rebanhos ovinos e caprinos no estado do Ceará e verificaram aos 21 dias de tratamento a sobrevivência do gênero *Haemonchus* nas coproculturas de ovinos e caprinos tratados com albendazole.

A população de larvas infectantes do gênero *Cooperia* (Tabela 7) teve diminuição ($p < 0,05$) nos animais dos grupos T₂, T₃ e T₄, tratados com o extrato hidroalcoólico de *H. drasticus* em relação ao grupo controle negativo (T₁) a partir da primeira administração e prevaleceu até o final dos tratamentos, embora nos animais do grupo T₂ essa diminuição já tenha sido manifestada no primeiro LPG pós-tratamento.

Os resultados demonstraram que o gênero *Cooperia* mostrou uma relativa sensibilidade às substâncias ativas presente no extrato, quando comparados com os dados obtidos para o gênero *Haemonchus*.

Tabela 7. Número médio de larvas infectantes (L3) de *Cooperia* sp. em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*)

Dia	Tratamento/concentração (mg/kgPC)				
	T ₁ - CN	T ₂ - 250	T ₃ - 500	T ₄ - 1000	T ₅ - CP
00 ^(*)	11450	8367	12626	28917	2549
07	(17591) ⁽⁺⁺⁾ 130,11 ^{a(+)}	(5246) 70,32 ^b	(13800) 117,01 ^a	(11808) 108,09 ^a	(0) 0,70 ^c
14 ^(*)	(14220) 118,30 ^{a(+)}	(4021) 62,62 ^c	(7513) 86,62 ^b	(6378) 79,80 ^b	(0) 0,70 ^d
21	(15232) 122,48 ^{a(+)}	(8027) 88,77 ^b	(6491) 80,38 ^b	(5544) 73,84 ^b	(0) 0,70 ^c
28 ^(*)	(32680) 179,00 ^{a(+)}	(6042) 76,68 ^b	(3630) 59,86 ^b	(3657) 59,72 ^b	(0) 0,70 ^c
35	(47573) 215,76 ^{a(+)}	(1286) 35,19 ^b	(665) 25,36 ^{bc}	(515) 17,54 ^{bc}	(0) 0,70 ^c

^(*) indica o dia de aplicação do tratamento; ⁽⁺⁾ médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si (Tukey, $p > 0,05$); ⁽⁺⁺⁾ valores dentro do parêntese referem-se às médias dos dados sem transformação, seguida de valores transformados em \sqrt{y} e avaliados por meio da Análise de Variância. Em que: T₁ - CN: Controle Negativo (água destilada); T₂; T₃ e T₄ - EBHA (*H. drasticus*); T₅ - CP: Controle Positivo (albendazole).

Resultados que são partilhados por PENELUC et al. (2009) ao verificarem diminuição ($p < 0,05$) no número de larvas do gênero *Cooperia* em ovinos tratados com 0,63 g/kgPC do extrato aquoso de *Zantoxylum rhoifolium*. Para esse gênero de nematódeo, o grupo de animais tratados com albendazole (T₅) teve redução substancial ($p < 0,05$) em relação aos valores médios dos demais grupos, considerando-se tanto os valores pré, como do pós-tratamento. Dados que corroboram com EURICO et al. (2010) quando estudaram resistência de nematódeos gastrintestinais em ovinos aos anti-helmínticos convencionais e constataram que *Cooperia* spp. foi o gênero que apresentou maior sensibilidade aos produtos testados.

Após a segunda administração do extrato, verificou-se diferença ($p < 0,05$) para os valores médios de larvas infectantes (L3) do gênero *Oesophagostomum* (Tabela 8) em todos os grupos tratados com o fitoterápico quando comparados com os valores do grupo controle negativo (T₁).

Comportamento similar foi observado no grupo tratado com albendazole (T₅) não tendo sido manifestada diferença ($p > 0,05$) entre os resultados dos valores de larvas do gênero *Oesophagostomum* com uso do anti-helmíntico convencional em relação à utilização dos tratamentos alternativos. Esses dados evidenciaram potencial anti-helmíntico do extrato de janaúba (*H. drasticus*) sobre *Oesophagostomíneos*.

Tabela 8. Número médio de larvas infectantes (L3) de *Oesophagostomum* sp. em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*)

Dia	Tratamento/concentração (mg/kgPC)				
	T1 - CN	T2 - 250	T3 - 500	T4 - 1000	T5 - CP
00 ^(*)	3206	795	1298	3685	128
07	(6060) ⁽⁺⁺⁾ 63,29 ^{a(+)}	(813) 15,92 ^a	(1800) 24,84 ^a	(1286) 25,47 ^a	(733) 15 ^a
14 ^(*)	(5372) 59,90 ^{a(+)}	(602) 14,57 ^{ab}	(719) 15,68 ^{ab}	(552) 16,93 ^{ab}	(00) 0,70 ^b
21	(5488) 60,02 ^{a(+)}	(605) 13,49 ^b	(410) 11,40 ^b	(77) 4,17 ^b	(00) 0,70 ^b
28 ^(*)	(9976) 79,69 ^{a(+)}	(342) 8,14 ^b	(228) 9,15 ^b	(34) 2,99 ^b	(00) 0,70 ^b
35	(17468) 104,82 ^{a(+)}	(224) 10,79 ^b	(00) 0,70 ^b	(00) 0,70 ^b	(00) 0,70 ^b

^(*) indica o dia de aplicação do tratamento; ⁽⁺⁾ médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si (Tukey, $p > 0,05$); ⁽⁺⁺⁾ valores dentro do parêntese referem-se às médias dos dados sem transformação seguida de valores transformados em \sqrt{y} e avaliados por meio da Análise de Variância. Em que: T₁ - CN: Controle Negativo (água destilada); T₂; T₃ e T₄ - EBHA (*H. drasticus*); T₅ - CP: Controle Positivo (albendazole).

Não foi verificada diferença ($p > 0,05$) na população de larvas L3 para o gênero *Trichostrongylus* entre os grupos tratados e não tratado (Tabela 9), fato este que pode estar relacionado com a baixa prevalência desse gênero desde o início da instalação dos tratamentos.

Tabela 9. Número médio de larvas infectantes (L3) de *Trichostrongylus* sp. em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*)

Dia	Tratamento/concentração (mg/kgPC)				
	T ₁ - CN	T ₂ - 250	T ₃ - 500	T ₄ - 1000	T ₅ - CP
00 ^(*)	152	179	00	472	64
07	(705) 18,78 ^{a(+)}	(81) 4,27 ^a	(00) 0,70 ^a	(95) 4,57 ^a	(00) 0,70 ^a
14 ^(*)	(684) 15,47 ^{a(+)}	(79) 4,22 ^a	(00) 0,70 ^a	(30) 2,85 ^a	(00) 0,70 ^a
21	(280) 7,42 ^{a(+)}	(00) 0,70 ^a	(00) 0,70 ^a	(00) 0,70 ^a	(00) 0,70 ^a
28 ^(*)	(688) 12,29 ^{a(+)}	(76) 4,15 ^a	(00) 0,70 ^a	(34) 2,99 ^a	(00) 0,70 ^a
35	(743) 11,72 ^{a(+)}	(28) 2,75 ^a	(00) 0,70 ^a	(00) 0,70 ^a	(00) 0,70 ^a

^(*) indica o dia de aplicação do tratamento; ⁽⁺⁾ médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si (Tukey, $p > 0,05$); ⁽⁺⁺⁾ valores dentro do parêntese referem-se às médias dos dados sem transformação seguida de valores transformados em \sqrt{y} e avaliados por meio da Análise de Variância. Em que: T₁ - CN: Controle Negativo (água destilada); T₂; T₃ e T₄ - EBHA (*H. drasticus*); T₅ - CP: Controle Positivo (albendazole).

O grupo tratado com a concentração de 500 mg/kg do peso corporal em nenhum momento do período apresentou resultado positivo para esse nematódeo, seja nos exames de OPG quanto de LPG. No entanto, mesmo com valores de baixa prevalência, este gênero não teve sua completa diminuição nos animais que receberam a menor

concentração do extrato (T₂) e somente após a terceira administração do fitoterápico foi registrada inibição total no LPG dos estágios L3 no grupo tratado com a maior concentração.

No presente trabalho devem ser considerados fatores que de alguma forma, individual ou conjunta interferem nos resultados de animais submetidos a tratamentos *in vivo*, dentre os quais: idade do animal, estado fisiológico, procedência, grupo racial, condição nutricional, resistência individual, estado de saúde, concentração do produto testado, dose administrada e duração do tratamento (GITHIORI et al., 2002; ATHANASIADOU & KYRYAZAKIS, 2004). Além desses fatores, deve ser levada em consideração a ação dos micro-organismos e gases do rúmen que poderão influenciar sobre a biodisponibilidade e biotransformação dos compostos ativos, a mudança de ambiente e o regime de criação ao qual os animais foram submetidos (VANDAMME & ELLIS, 2004; ADEMOLA et al. 2005). Não foram encontradas referências sobre o metabolismo ruminal de *H. drasticus*.

3.5 Eritrograma

Os dados referentes aos valores médios do volume globular (%) estão apresentados na Tabela 10. Não foi verificada variações ($p > 0,05$) para o volume globular entre os grupos tratados com as concentrações crescentes (250, 500 e 1000 mg/kgPC) do EBHA de *H. drasticus* em relação ao grupo não tratado.

Tabela 10. Valor médio do volume globular (%) em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*)

Dia	Tratamento/concentração (mg/kgPC)				
	T ₁ -CN	T ₂ -250	T ₃ -500	T ₄ -1000	T ₅ -CP
00 ^(*)	25,00	27,83	23,00	22,50	30,66
07	22,83 ^{ab(+)}	26,83 ^{ab}	18,50 ^b	21,00 ^{ab}	29,50 ^a
14 ^(*)	21,00 ^{ab(+)}	26,33 ^a	18,33 ^b	22,16 ^b	27,83 ^a
21	19,33 ^{ab(+)}	21,66 ^{ab}	17,16 ^b	17,66 ^b	26,16 ^a
28 ^(*)	22,16 ^{ab(+)}	22,50 ^{ab}	18,83 ^b	17,33 ^b	27,50 ^a
35	22,50 ^{a(+)}	26,16 ^a	21,00 ^a	23,00 ^a	29,83 ^a

^(*) indica o dia de aplicação do tratamento; ⁽⁺⁾ médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si (Tukey, $p > 0,05$); T₁ – CN: Controle Negativo (água destilada); T₂; T₃ e T₄ – EBHA (*H. drasticus*); T₅ – CP: Controle Positivo (albendazole).

A diferença foi significativa ($p < 0,05$) nos valores do hematócrito dos grupos T_3 e T_4 , em relação ao grupo T_5 , tratado com albendazole até os 28 dias de tratamento. Foi também nesses nos grupos T_3 e T_4 que houve manifestação dos menores percentuais do volume globular no período, 17,16% (500 mg/kgPC) e 17,33% (1000 mg/kgPC). A exceção dos animais tratados com albendazole, os demais grupos tiveram oscilações nos valores do hematócrito, que de um modo geral, estiveram abaixo do mínimo de referência (24%) para espécie ovina (JAIN, 1986). Aos 35 dias pós-tratamento houve semelhança ($p > 0,05$) dos valores para todos os grupos tratados. Esses resultados podem ser consequentes da baixa efetividade do EBHA para alguns gêneros de nematódeos, especialmente em se tratando do gênero *Haemonchus* que manifestou elevada persistência nos animais tratados. Esses dados encontram semelhanças com os resultados de MACEDO (2007) trabalhando com ovinos e de DOMINGUES (2008) com caprinos ao relataram persistência de *Haemonchus* nos animais seguidas por diminuição do hematócrito. Esses estudos atribuíram como causam primária da anemia nos animais o parasitismo determinado por *Haemonchus*, reconhecidamente de hábito hematófago.

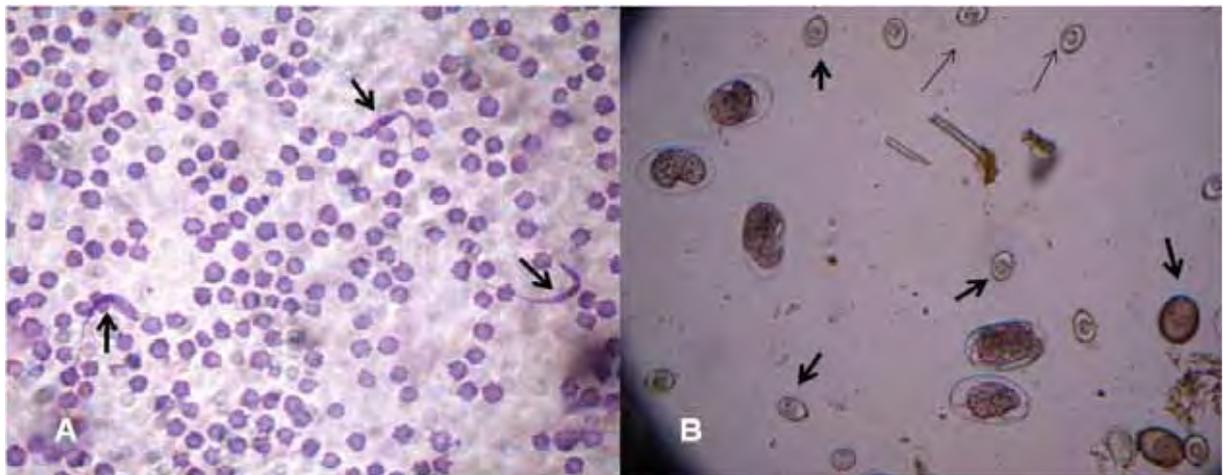


Figura 3. Infecção por protozoários em ovinos experimentais. A) Esfregaço sanguíneo em que as setas indicam *Trypanosoma* spp.; B) Exame coprológico com resultados positivo para *Eimeria* spp. (setas).

3.6 Perfil bioquímico

3.6.1 Metabólitos

Para concentração sérica de uréia no soro sanguíneo dos ovinos experimentais (Tabela 11) não foi verificada significância ($p>0,05$) entre os grupos para os diferentes tratamentos

Tabela 11. Valor médio da concentração sérica de uréia (mg/dL) em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*)

Dia	Tratamento/concentração (mg/kgPC)				
	T1	T2	T3	T4	T5
00 ^(*)	42,66	51,81	48,38	45,35	54,05
07	42,63 ^{a(+)}	38,96 ^a	48,78 ^a	46,25 ^a	44,00 ^a
14 ^(*)	47,33 ^{a(+)}	43,36 ^a	49,01 ^a	47,91 ^a	37,43 ^a
21	41,21 ^{a(+)}	42,16 ^a	43,00 ^a	34,88 ^a	38,16 ^a
28 ^(*)	45,58 ^{a(+)}	39,96 ^a	47,66 ^a	48,30 ^a	35,86 ^a
35	43,90 ^{a(+)}	40,18 ^a	42,20 ^a	36,96 ^a	32,43 ^a

^(*) indica o dia de aplicação do tratamento; ⁽⁺⁾ médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si (Tukey, $p>0,05$); T₁ – CN: Controle Negativo (água destilada); T₂; T₃ e T₄ - EBHA (*H. drasticus*); T₅ – CP: Controle Positivo (albendazole).

De maneira geral, os valores médios da concentração sérica de uréia nos animais manifestaram oscilações momentâneas em relação ao valor (17,12 a 42,8 mg/dL) de referência estabelecido por KANEKO et al. (1997) para ovinos, tendo sido registrado o menor valor (34,88 mg/dL) aos 21 dias em T₄ e o valor mais elevado (49,01 mg/dL) aos 14 dias no grupo T₃. Contudo, ao final do período, observou-se que os grupos tratados com o extrato hidroalcoólico de *H. drasticus* apresentaram valores médios na concentração de uréia compatíveis com os níveis de referência para a espécie.

Esses resultados são indicativos de que não ocorreu redução na taxa de filtração glomerular em função dos tratamentos e que foi mantida a integridade da função renal, tendo em vista que a uréia é livremente filtrada pelos glomérulos renais e cerca de 40 a 80% da quantidade filtrada é reabsorvido, o restante é eliminado na urina. Sendo o

fluxo urinário o fator determinante da reabsorção tubular renal, à medida que o fluxo se reduz, ocorre aumento da reabsorção (ANDREAZZI & CONSOLARO, 1999). De outro modo, a concentração de uréia abaixo do limite inferior de normalidade (17,12 mg/dL) pode está associada à insuficiência hepática ou a dietas com baixos níveis de proteína uma vez que esse metabólito é sintetizado principalmente no fígado e se constitui como o produto final do metabolismo de proteínas e aminoácidos (PUGH, 2005; GONZÁLEZ & SILVA, 2006).

As variações nos valores médios da concentração sérica de creatinina foram mantidas próximas ou dentro do intervalo de normalidade (1,20 a 1,90 mg/dL) para a espécie ovina, conforme KANEKO et al. (1997) e não apresentaram significância ($p > 0,05$) entre os grupos (Tabela 12).

Esses resultados de bioquímica sérica para os valores de uréia e creatinina, assemelham-se aos reportados por PENELUC (2009) que não verificou alterações bioquímicas séricas em ovinos tratados com extrato aquoso de *Zanthoxylum rhoifolium* nas concentrações de 193,7 e 335,0 mg.mL⁻¹ em testes *in vivo* no controle de nematódeos gastrintestinais.

Tabela 12. Valor médio da concentração sérica de creatinina (mg/dL) em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*)

Dia	Tratamento/concentração (mg/kgPC)				
	T1 - CN	T2 - 250	T3 - 500	T4 - 1000	T5 - CP
00 ^(*)	1,60	1,25	1,25	1,25	1,33
07	1,90 ^{a(+)}	1,80 ^a	1,36 ^a	1,90 ^a	1,20 ^a
14 ^(*)	1,25 ^{a(+)}	1,45 ^a	1,30 ^a	1,16 ^a	1,25 ^a
21	0,93 ^{a(+)}	0,96 ^a	1,13 ^a	0,80 ^a	0,86 ^a
28 ^(*)	1,41 ^{a(+)}	1,55 ^a	1,25 ^a	1,33 ^a	1,25 ^a
35	1,53 ^{a(+)}	1,46 ^a	1,53 ^a	1,73 ^a	1,73 ^a

^(*) indica o dia de aplicação do tratamento; ⁽⁺⁾ médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si (Tukey, $p > 0,05$); T₁ - CN: Controle Negativo (água destilada); T₂; T₃ e T₄ - EBHA (*H. drasticus*); T₅ - CP: Controle Positivo (albendazole).

Comparando-se esses valores aos resultados da concentração sérica de uréia, reforça-se a argumentação da não ocorrência de lesão renal nos animais tratados com

EBHA de *H. drasticus*, segundo ANDREAZZI & CONSOLARO (1999) a creatinina é o melhor indicador da função renal, pois em situações de normalidade esta é livremente filtrada pelos glomérulos renais, não ocorrendo em condições fisiológicas, significativa secreção ou reabsorção tubular. Portanto o maior determinante do nível sérico é a sua função na filtração glomerular e uma vez que não é reabsorvida e nem reaproveitada pelo organismo, em casos de insuficiência renal sua concentração no sangue se eleva de forma rápida e significativa (PUGH, 2005). De outra forma, a diminuição da concentração sérica de creatinina no soro sanguíneo geralmente está associada aos casos de caquexia com perda significativa de massa muscular (GONZÁLEZ & SILVA 2006).

A concentração sérica de proteína total (g/dL) nos grupos tratados com EBHA de *H. drasticus* sofreu pequenas oscilações e não revelou significância ($p>0,05$) quando comparados ao grupo controle negativo e tratado com albendazole (Tabela 13).

Tabela 13. Valor médio da concentração sérica de proteína total (g/dL) em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*)

Dia	Tratamento/concentração (mg/kgPC)				
	T1 - CN	T2 - 250	T3 - 500	T4 - 1000	T5 - CP
00 ^(*)	5,25	4,43	4,31	4,05	5,06
07	5,03 ^{a(+)}	5,03 ^a	4,51 ^a	4,63 ^a	6,33 ^a
14 ^(*)	5,83 ^{ab(+)}	5,76 ^{ab}	4,65 ^b	5,08 ^{ab}	7,05 ^a
21	5,88 ^{ab(+)}	4,80 ^{ab}	4,55 ^{ab}	3,96 ^b	6,16 ^a
28 ^(*)	4,56 ^{a(+)}	4,71 ^a	4,30 ^a	4,10 ^a	5,26 ^a
35	5,25 ^{a(+)}	5,63 ^a	5,48 ^a	4,90 ^a	6,50 ^a

^(*) indica o dia de aplicação do tratamento; ⁽⁺⁾ médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si (Tukey, $p>0,05$); T₁ - CN: Controle Negativo (água destilada); T₂; T₃ e T₄ - EBHA (*H. drasticus*); T₅ - CP: Controle Positivo (albendazole).

No geral os valores estiveram abaixo do limite superior de normalidade (7,9 g/dL) estabelecido por KANEKO et al. (1997) para a espécie ovina. Esses resultados são respaldados por GONZÁLEZ & SILVA (2006) ao descreverem que as alterações na proteína total são reflexos das modificações nas concentrações de albumina e globulinas, sobretudo de albumina que é a proteína mais abundante no plasma e sua

diminuição pode estar associada ao déficit alimentar de fontes protéicas e ao elevado parasitismo gastrintestinal.

Nesse estudo não foi possível aferir os níveis séricos de albumina, porém, tendo como referência os resultados coproparasitológicos dos animais tratados com extrato de *H. drasticus*, em que foi expressiva a infecção por *Haemonchus* nos diferentes momentos do tratamento, e, considerando ainda que somente uma alimentação básica de manutenção estava à disposição dos animais por todo o período, pressupõe-se que a síntese metabólica protéica no organismo do hospedeiro foi afetada pela ação espoliativa dos parasitos e que não houve compensação pelos nutrientes da dieta, nessas circunstâncias, conforme BOWMAN et al. (2006) e GOUVEIA et al. (2010) a diminuição de proteínas plasmáticas é frequente e quase sempre evolui para um diagnóstico de hipoproteinemia.

3.6.2 Enzimas

Não foram verificadas diferenças ($p>0,05$) na atividade sérica das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) entre os grupos experimentais. Para os animais tratados com o extrato hidroalcoólico de *H. drasticus* os valores de AST (Tabela 14) situaram-se entre 62,75 a 148,33 U/L, abaixo do limite superior (350 U/L) de referência (KANEKO et al., 1997).

Tabela 14. Valor médio da atividade sérica de aspartato aminotransferase AST (U/L) em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*)

Dia	Tratamento/concentração (mg/kgPC)				
	T1 - CN	T2 - 250	T3 - 500	T4 - 1000	T5 - CP
00 ^(*)	118,08	128,91	131,41	128,91	139,16
07	126,58 ^{a(+)}	148,33 ^a	119,58 ^a	122,33 ^a	129,83 ^a
14 ^(*)	104,50 ^{ab(+)}	122,91 ^{ab}	108,70 ^{ab}	117,25 ^{ab}	99,41 ^{ab}
21	91,75 ^{a(+)}	106,33 ^a	97,41 ^a	107,58 ^a	103,08 ^a
28 ^(*)	74,75 ^{a(+)}	89,33 ^a	92,33 ^a	68,00 ^a	86,41 ^a
35	59,18 ^{a(+)}	62,75 ^a	73,50 ^a	75,50 ^a	72,25 ^a

^(*) indica o dia de aplicação do tratamento; ⁽⁺⁾ médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si (Tukey, $p>0,05$); T₁ - CN: Controle Negativo (água destilada); T₂; T₃ e T₄ - EBHA (*H. drasticus*); T₅ - CP: Controle Positivo (albendazole).

Os dados de ALT (Tabela 15) estiveram entre 15,33 a 31,83 U/L, sendo também compatíveis com o limite superior de normalidade para a espécie ovina (30 U/L), conforme (KANEKO et al.,1997).

Tabela 15. Valor médio da atividade sérica de aspartato alanina aminotransferase - ALT (U/L) em ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*)

Dia	Tratamento/concentração (mg/kgPC)				
	T1 - CN	T2 - 250	T3 - 500	T4 - 1000	T5 - CP
00 ^(*)	26,00	24,33	27,00	29,83	26,16
07	37,66 ^{a(+)}	31,83 ^a	25,66 ^a	26,66 ^a	30,66 ^a
14 ^(*)	19,00 ^{a(+)}	19,83 ^a	16,00 ^a	18,16 ^a	22,16 ^a
21	19,83 ^{a(+)}	18,00 ^a	22,50 ^a	17,50 ^a	24,66 ^a
28 ^(*)	21,33 ^{a(+)}	20,33 ^a	16,33 ^a	19,33 ^a	21,16 ^a
35	17,16 ^{a(+)}	15,33 ^a	16,83 ^a	17,50 ^a	17,33 ^a

^(*) indica o dia de aplicação do tratamento; ⁽⁺⁾ médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si (Tukey, $p>0,05$); T₁ - CN: Controle Negativo (água destilada); T₂; T₃ e T₄ - EBHA (*H. drasticus*); T₅ - CP: Controle Positivo (albendazole).

Esses resultados são indicativos de que a função hepática não foi afetada pela ação dos tratamentos, corroborando com as informações de PUGH (2005) ao relatar que somente a elevação acentuada dessas enzimas no soro sanguíneo servirá como indicativo de lesão hepatocelular grave e/ou necrose.

3.7 Variação do peso corporal

Durante o período experimental não foi verificado redução no peso corporal nos animais tratados com extrato hidroalcoólico de *H. drasticus* (Tabela 16).

O menor peso corporal (PC) ocorreu no grupo não tratado (T₁), resultado que possivelmente estaria relacionado ao maior parasitismo gastrintestinal. Dados que se assemelham aos relatados por DOMINGUES (2008) quando trabalhou com caprinos naturalmente infectados, tratados com resíduo líquido de *A. sisalana*, não ocorrendo variação no peso corporal entre os grupos testados, tendo sido observado diminuição do peso corporal nos animais que não tiveram tratamento.

Tabela 16. Média do peso corporal inicial (D0), intermediário (D14) e final (D35), seguidos da variação média do peso corporal (VPC) de ovinos sem padrão racial definido (SPRD), naturalmente infectados e tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de janaúba (*H. drasticus*)

Tratamento/concentração (mg/kgPC)	D0 (kg)	D14 (kg)	D35 (kg)	VPC (kg)
T ₁ - CN	17,50 ^{a(+)}	18,91 ^{a(+)}	18,00 ^{a(+)}	0,50
T ₂ - 250	13,16 ^a	15,21 ^a	15,66 ^a	2,50
T ₃ - 500	15,86 ^a	17,53 ^a	18,65 ^a	2,80
T ₄ - 1000	15,90 ^a	17,411 ^a	19,08 ^a	3,18
T ₅ - CP	18,90 ^a	21,25 ^a	22,70 ^a	3,80

(⁺) médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si (Tukey, $p > 0,05$); T₁ - CN: Controle Negativo (água destilada); T₂; T₃ e T₄ - EBHA (*H. drasticus*); T₅ - CP: Controle Positivo (albendazole).

Embora não tenha sido verificada significância ($p > 0,05$) entre as médias de peso ao final do experimento, foi possível evidenciar uma melhor performance no peso dos animais que foram submetidos ao tratamento anti-helmíntico tanto com o uso do fitoterápico, quanto com o composto químico. Comportamento que vai ao encontro das informações de VIEIRA (2008) ao mencionar que a menor espoliação parasitária em animais favorece um maior aproveitamento dos nutrientes da dieta, com influência positiva no aumento do peso corporal.

3.8 Exames necroscópico e histopatológico

Na avaliação do aparelho digestivo “*post-mortem*” observou-se no animal do grupo não tratado (T₁) infestação por vermes adultos de *Haemonchus* no abomaso e *Oesophagostomum* no intestino grosso. Nos animais dos grupos tratados com extrato (T₂, T₃ e T₄) e com albendazole (T₅) foram encontrados no abomaso apenas vermes adultos de *Haemonchus*. Resultados que concordam com OLIVEIRA et al. (2009) quando trataram infecções naturais por helmintos em ovinos com extrato de acetato de etila extraído da fibra do coco verde (*Cocos nucifera*) na concentração de 400 mg/kg do peso corporal e encontraram infestações por *Haemonchus* no abomaso e de *Oesophagostomum* no intestino grosso.

Quanto aos vermes adultos de *Trichostrongylus* e *Cooperia* não foram evidenciados macroscopicamente em nenhum dos animais necropsiados pertencentes

aos diferentes tratamentos, provavelmente em virtude do tamanho dos parasitos que para identificação exigem métodos de observações mais elaborados (BOWMAN et al. 2006).

No exame necroscópico do fígado, rins e baço pertencentes aos animais dos diferentes grupos não foram encontradas alterações relacionadas com lesões sugestivas de intoxicação. A análise das alterações histológicas (Figura 4) demonstrou que o fígado apresentou alteração nos hepatócitos caracterizada por citoplasma claro em torno do núcleo o que define degeneração hidrópica (COELHO, 2002).

Essas alterações foram evidenciadas no animal tratado com a maior concentração do extrato (T₄) e também no animal tratado com albendazole (T₅). A histologia hepática nos animais do grupo não tratado (T₁) e dos grupos T₂ e T₃ não revelou alteração de comprometimento nesse órgão. Dados que corroboram com PENELUC (2009) que não verificou alterações nas análises histopatológicas sugestivas de toxicidade em ovinos tratados com extrato aquoso de *Zanthoxylum rhoifolium* nas concentrações de 193,7 e 335,0 mg.mL⁻¹ no controle de nematódeos gastrintestinais.

Embora a degeneração hidrópica nos hepatócitos tenha sido o achado mais contundente pela forma difusa no parênquima hepático, o núcleo das células afetadas manteve sua integridade preservada o que caracteriza lesão moderada e reversível no órgão (COELHO, 2002). Os demais órgãos examinados (rins e baço) não apresentaram alterações histológicas sugestivas de lesões em função da terapia testada.

O fígado é o principal órgão para metabolização e detoxificação do organismo, portanto a hepatotoxicidade tem sido retratada em vários estudos e ensaios pré-clínicos envolvendo as lesões neste órgão e constitui um desafio para uso terapêutico de novas drogas (LORETTI et al. 1999; ILHA et al. 2001; ROZZA et al. 2006; MIRANDA et al. 2008; HELAYEL et al. 2009).

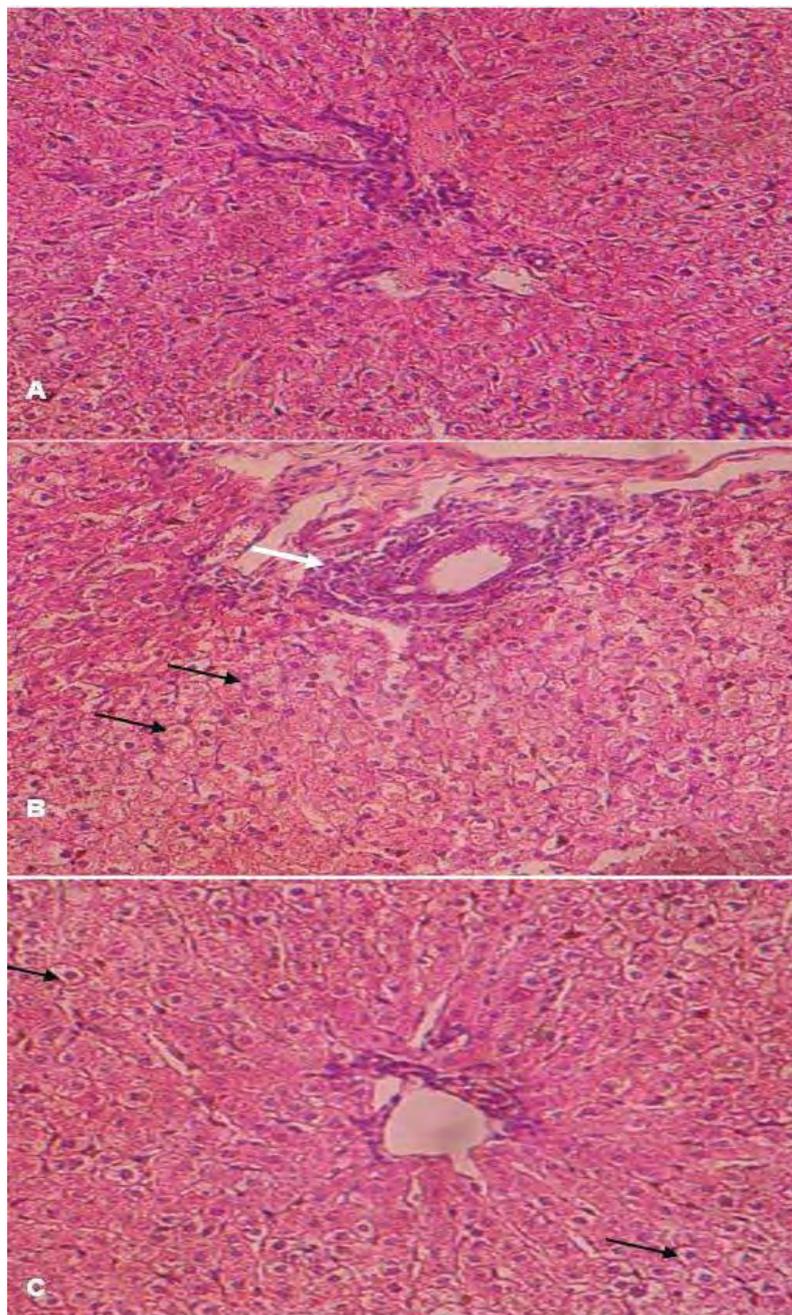


Figura 4. Fotomicrografias de seções histológicas em fígados de ovinos experimentais: A) animal do grupo T₁, sem alterações das células do parênquima hepático; B) animal do grupo T₅, em que a direção das setas de cor preta indica processo de degeneração hidrópica nos hepatócitos e a seta de cor branca indica infiltrado inflamatório periportal; C) animal do grupo T₄, em que as setas de cor preta indicam degeneração hidrópica nos hepatócitos (H&E, 200X).

4. CONCLUSÕES

O extrato bruto hidroalcoólico de janaúba (*H. drasticus*), nas concentrações utilizadas e nas condições em que foi realizado o teste *in vivo*, apresentou redução de ovos e larvas de nematódeos gastrintestinais em ovinos.

O eritrograma dos animais tratados com as concentrações do extrato bruto hidroalcoólico de *H. drasticus*, evidenciou uma condição de anemia para os valores do volume globular.

Os valores dos marcadores bioquímicos séricos que avaliaram as funções hepática e renal nos animais testados com extrato bruto hidroalcoólico de *H. drasticus*, mantiveram-se nos níveis de compatibilidade para a espécie ovina, enquanto que os valores de proteínas plasmáticas manifestaram uma condição de hipoproteinemia.

Durante o período experimental, os animais testados com extrato bruto hidroalcoólico de *H. drasticus* manifestaram desenvolvimento do peso corporal.

Macroscopicamente, não foram encontradas alterações no fígado, rins e baço dos ovinos tratados com extrato bruto hidroalcoólico de *H. drasticus* e, nas análises histológicas, as alterações degenerativas foram de caráter discreto.

A administração oral do extrato bruto hidroalcoólico de *H. drasticus*, nas concentrações de 250; 500 e 1000 mg/kg do peso corporal em ovinos, não manifestaram alterações de comportamento e laboratoriais sugestivas de intoxicação.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de *H. drasticus* sobre nematódeos gastrintestinais em ovinos, *in vitro*, mostrou efetividade anti-helmíntica. Essa atividade *in vivo* em ovos e larvas de nematódeos gastrintestinais apresentou caráter discreto, porém promissor. Condição que possibilita a utilização da espécie vegetal como fitoterápico para o controle de nematódeos gastrintestinais em ovinos.

Para consolidação da efetividade dos compostos ativos do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de *H. drasticus* no controle de nematódeos gastrintestinais em pequenos ruminantes, tornam-se necessários estudos mais abrangentes para que sejam investigadas todas as etapas para sua validação anti-helmíntica, envolvendo desde o processamento (extração e concentrações dos princípios ativos) até as estratégias de controle (doses e duração de tratamentos).

Para fins de utilização anti-helmíntica, o extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de *H. drasticus* poderá oferecer possibilidades para o controle integrado, funcionando como coadjuvante em tratamentos profiláticos, os quais utilizam drogas anti-helmínticas convencionais, com diminuição do número de aplicações, redução de resíduos nos produtos de origem animal e desaceleração no desenvolvimento de cepas resistentes.

O extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de *H. drasticus* poderá constituir uma alternativa para o controle dos nematódeos gastrintestinais, tanto no âmbito da agricultura familiar, quanto em sistemas orgânicos de produção animal.

REFERÊNCIAS

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. 223-235, 2005.

AHID, S. M. M.; CAVALCANTE, M. D. A.; BEZERRA, A. C. D. S.; SOARES, H. S.; PEREIRA, R. H. M. A. Eficácia anti-helmíntica em rebanho caprino no Estado de Alagoas, Brasil. **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, RN, v. 1, n. 2, p. 56-59, 2007.

ALMEIDA, W. V. F.; SILVA, M. L. C. R.; BOTURA, M. B.; FARIAS, E. B.; ATHAYDE, A. C.R.; SILVA, W.W. Avaliação de plantas medicinais em caprinos da região do Semi-árido Paraibano naturalmente infectados por nematóides gastrintestinais. **Caatinga**, Mossoró, RN, v. 20, n. 3, p. 01-07, 2007.

ANDREAZZI, M. A.; CONSOLARO, M.E. Avaliação da toxicidade do gossipol em caprinos machos. **Akrópolis** – Umuarama, PR, v. 5. n. 17, p. 11-18, 1999.

ATHANASIADOU, S.; KYRIAZAKIS, I. Plant secondary metabolites: antiparasitic effects and their role in ruminant production systems. **Proceedings of the Nutrition Society**, London, v. 63, n. 4, p. 631-639, 2004.

BARRETO, M. A.; ALMEIDA, M. A. O.; SILVA, A. SILVA, L. E. B.; BITENCUR, C. P. Eficácia anti-helmíntica do levamisole, albendazole e ivermectina em ovinos na região semi-árida da Bahia. In: COCONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 14.; SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKETTSIOSES, 2., 2006. Ribeirão Preto. **Resumos...** Ribeirão Preto: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2006. p. 226.

BATATINHA, M. J. M.; SANTOS, M. M.; BOTURRA, M. B.; ALMEIDA, G. M.; DOMINGUES, L. F.; ALMEIDA, M. A. O. Efeitos *in vitro* dos extratos de folhas de *Musa*

cavendishii Linn. e de sementes de *Carica papaya* Linn. sobre culturas de larvas de nematódeos gastrintestinais de caprinos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, SP, v. 7, n. 1, p. 11-15, 2004.

BIRGEL, E. H.; LARSON, N. H. M. A. HAGIWARA, M. K. **Patologia clínica veterinária**. São Paulo: SPMV, 1982, 260p.

BOWMAN, D. D.; LYNN, R. C.; EBERHARD, M. L.; ALCARAZ, A. **Parasitologia veterinária de Georgis**. Tradução: Cid Figueiredo e Thais H. Bittencourt Figueiredo – 8. ed. – Barueri, SP : Manole, 2006. 422 p.

BRASIL - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 48, de 12 de maio de 1997. Regulamento técnico para licenciamento e/ou renovação de licença de produtos antiparasitários de uso veterinário. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, n.92, Brasília, 16 de maio de 1997, Seção 1., p. 10165.

BUTTER, N. L.; DAWSON, J. M.; WAKELIN, D.; BUTTERY, P. J. Effect of dietary tannin and protein concentration on nematode infection (*Trichostrongylus colubriformis*) in lambs. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 134, n. 1, p. 89-99, 2000.

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

CAVALCANTI, A. S. R.; ALMEIDA, M. A. O.; DIAS, A. V. S. Efeito de medicamentos homeopáticos no número de nematódeos nas fezes (OPG) e no ganho de peso em ovinos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, BA, v. 8, n. 3, p. 162-169, 2007.

CENSI, F. B.; LUOVANDINI, H.; MCMANUS, C. M.; DELL'PORTO, A.; COSTA, D. M.; ARAUJO, S. C.; MINHO, A. P.; ABADALLA, A. L. Effects of condensed tannin from

Acacia mearnsii on sheep infected naturally with gastrointestinal helminthes. **Veterinary Parasitology**, London, v. 144, n. 1-2, p. 132-137, 2007.

CHARLES, T. P.; POMPEU, J.; MIRANDA, D. B. Efficacy of three broad-spectrum anthelmintics against gastrointestinal nematode infections of goats. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 34, n. 1-2, p. 71-75, 1989.

COELHO, H. E. **Patologia veterinária**. São Paulo: Manole, 2002.

CONDER, R. G. E.; CAMPBELL, W. C. Chemotherapy of nematode infections of veterinary importance, with special reference to drug resistance. **Advances in Parasitology**, London, v. 35, n. 4, p. 1-83, 1995.

DOMINGUES, L. F. **Avaliação da atividade anti-helmíntica do resíduo líquido de *Agave sisalana* Perr. (sisal) em caprinos**. 2008. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2008.

EURICO, A. S. M.; BIANCHIN, I.; SILVA, K. F.; CATTO, B. C.; HONER, M. R.; PAIVA, F. Resistência anti-helmíntica de nematóides gastrintestinal em ovinos, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica RJ, v. 30, n. 3, p. 229-236, 2010.

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

FARIAS, S. P.; SILVA, M. M.; SHEIBEL, M.; MARTINS, M. F.; RABELLO, P.; BERTAGNON, H. G.; GARCIA, M. Uso da contagem fecal de ovos de nematóides

(OPG) para estimar a condição clínica em caprinos. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife, PE, v. 5, n. 2-3, p. 86-92, 2002.

FERNANDES, L. H.; SENO, M. C. Z.; AMARANTE A. F. T.; SOUZA, H.; BELLUZZO C. E. C. Efeito do pastejo rotacionado e alternado com bovinos adultos no controle da verminose em ovelhas. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte MG, v. 56, n. 6, p. 733-740, 2004.

FERRARI, E. F.; RIBEIRO, W.; SALVADOR, M. J.; BELTRAME JR, M.; DREUX, E. C.; COGO, J. C. Obtenção do extrato hidroalcoólico de *Vernonia scorpioides* para teste de ação anti-ofídica. In ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 10; ENCONTRO LATINO AMERICANO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 6., 2006, São José dos Campos: Universidade do Vale do Paraíba, 2006. p. 204-207 Disponível em: http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2006/inic/inic/02/INIC000088_ok.pdf. Acesso em: 23 ago. 2011.

FRANCIS, G.; KEREM, Z.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. The biological action of saponins in animal systems: review. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.88, p. n. 6 p. 587-605, 2002.

GATHUMA, J. M., MBARIA, J. M., WANYAMA, J., KABURIA, H. F. A., MPOKE, L., MWANGI, J. N., SAMBURU AND TURKANA HEALERS. 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.

GITHIORI, J. B.; HÖGLUND, J.; WALLER, P. J.; BAKER, R. L. Anthelmintic activity of preparations derived from *Myrsine Africana* and *Raponea melanophloeos* against the nematode parasite, *Haemonchus contortus*, of sheep. **Journal of Ethnopharmacology**, Shannon Co, v. 80, n. 2-3, p. 187-191, 2002.

GONZÁLES, F.H.D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2ª ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2006. 364p.

GORDON, H. M.; WHITLOCK, H. V. A. New technique for counting nematodes eggs in sheep feces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research Australian**. Melbourne, v. 1, n. 12, p. 50-52, 1939.

GOUVEIA, A. M. G.; CARVALHO JÚNIOR, C. A.; TARTARI, S. L. **Manejo para a saúde de ovinos**. Brasília DF: LK Editora, 2010. 128 p.

HELAYEL, M. A.; FRANÇA, T. N.; SEIXAS, J. N.; NOGUEIRA, V. A.; CALDAS, S. A.; PEIXOTO, P. V. Morte súbita em bovinos causada pela ingestão de *Pseudocalymma elegans* (Bignoniaceae) no município de Rio Bonito, RJ. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 29, n. 7, p. 498-508, 2009.

ILHA, M. R. S.; LORETTI, A. P.; BARROS, S. S.; BARROS, C. S. L. Intoxicação espontânea por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em ovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 21, n. 3, p. 123-138, 2001.

IQBAL, Z., LATEEF, M., ASHRAF, M., JABBAR, A. MUHAMMAD, G., KHAN, M.N., Anthelmintic activity of *Calotropis procera* (Ait.) flowers in sheep. **Journal of Ethnopharmacology**, Pakistan, v. 102, n. 1-3, p. 256-261, 2005.

JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febinger, 1986. 1221 p.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed. New York: Academic Press, 1997. 932 p.

KAWANO, E. L.; YAMAMURA, M. H.; RIBEIRO, E. L. A. Efeitos do tratamento com anti-helmíntico em cordeiros naturalmente infectados com helmintos gastrintestinais sobre os parâmetros hematológicos, ganho de peso e qualidade da carcaça. **Arquivos da Faculdade de Veterinária** Porto Alegre, RS, v. 29, n. 3, p. 113-121, 2001.

LÊ JAMBRE, L.M.; ROYAL, W.M.A., A comparison of worm burdens in grazing merino shepp and Angora goats. **Australian Veterinary Journal**, Sidney, v. 52, p.181-183, 1976.

LIMA, M. M.; FARIAS, M. P. O.; ROMEIRO, E. T.; FERREIRA, D. R. A.; ALVES, L. C.; FAUSTINO, M. A. G. Eficácia da moxidectina, ivermectina e albendazole contra helmintos gastrintestinais em propriedades de criação caprina e ovina no Estado de Pernambuco. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, GO, v.11, n. 1, p. 94-100, 2010.

LÓPEZ, E. M.; PONCE, J. D. M.; GUERRA, Y. L.; BONNE, V.; GARCIA NOYA, M. E. Correspondencia entre El nível de infestación parasitaria y El eritrograma. **Revista Eletrônica de Veterinaria**, Málaga, Spain, v. 6, n. 3, 2005. Disponível em: <<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030305/030503.pfd>>. Acesso em: 02 mai. 2011.

LORETTI, A. P.; Bezerra, P. S.; ILHA, M. R. S.; BARROS, S. S.; BARROS, C. S. L. Intoxicação experimental pelos frutos de *Xanthium cavanillesii* (Asteraceae) em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica RJ, v. 9, n. 2, p. 71-78, 1999.

LUNA, L. G.; Preparation of tissue. In: LUNA, L.G. (Ed.) **Manual of the histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 3.ed. New York: McGraw Hill, 1968. 258p.

MACEDO, F. da. R. **Efeitos da administração da folha de Nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss) no controle de helmintos em ovinos infectados naturalmente.**

Brasília, 2007. 45f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1998, 141p.

MATOS, M. J. de.; GERMER, M.; CASTRO, E. S. Eficácia do ivermectin sobre endoparasitos de caprinos no RS. In: CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 13, 1997., Gramado, RS. **Anais...** Gramado: Sociedade de Veterinária do Rio Grande do Sul, 1997. p.198.

MELO, A. C. F. L.; REIS, I. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; VIEIRA, L. S. ECHEVARRIA, F. A. M.; MELO, L. M. Nematóides resistentes a anti-helmínticos em rebanhos de ovinos e caprinos do estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 33, n. 2, p. 339-344, 2003.

MINHO, A. P. **Efeito anti-helmíntico de taninos condensados sobre nematódeos gastrintestinais em ovinos**. 2006. 164 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

MIRANDA, P. C.; SANTOS, P. C. G. dos. Degeneração hidrópica. **Revista Científica Eletônica de Medicina Veterinária**, Garça, ano 6, n. 10, 2008. Disponível em: <<http://www.revista.inf.br/veterinaria10/revisao/edic-vi-n10-RL26.pdf>> Acesso em: 06 ago. 2011.

NOGUEIRA, D. M. Utilização de folhas da bananeira no controle de nematódeos gastrintestinais de ovinos na região Semiárida. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, RS, v. 4, n. 2, p. 2767- 2771, 2009.

NOGUEIRA, D. M.; MOURA, E. J. de.; NASCIMENTO, T. V. C. Avaliação de extratos de plantas medicinais no controle de nematódeos gastrintestinais de cordeiros criados em sistemas de produção de frutas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, ZOOTEC., 2009, Águas de Lindóia, SP – **Anais...** Brasília, DF: ABZ, 2009.

OLIVEIRA FILHO, J.; TSUJI, T. **Plano popular de desenvolvimento regional do Estado do Maranhão – PRDR** - São Luís: SEPLAN; MESCC, 2008. 621p. (Estudos de Regionalização, 7).

OLIVEIRA, D. B.; AMORIM, A.; BRAGA, M. M.; MATTOS JÚNIOR, D. G.; ALMOSNY, N. R. P. Atividade anti-helmíntica de bananeira (*Musa sp.*) em caprinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, 15., 1997, Salvador. **Doenças parasitárias e o ano da saúde no Brasil: programa, anais.** Salvador: Sociedade Brasileira de Parasitologia, 1997. p. 65.

OLIVEIRA, L.M.B.; BEVILAQUA, C.M.L.; COSTA, C.T.C.; MACEDO, I.T.F.; BARROS, R.S.; RODRIGUES, A.C.M.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L.F.; MORAIS, S.M.; LIMA, Y.C.; VIEIRA, L.S.; NAVARRO, A.M.C. Anthelmintic activity of *Cocos nucifera* L. against sheep gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, London, v. 159, n. 1, p. 55-59, 2009.

OLIVEIRA, L. N.; DUARTE, E. R.; NOGUEIRA, F. A. SILVA, R. B.; FARIA FILHO, D. E.; GERASEEV, L. C. Eficácia de resíduos da bananicultura sobre a inibição do desenvolvimento larval em *Haemonchus* ssp. provenientes de ovinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 40, n. 2, p. 488-490, fev. 2010.

PARRA, C. L. C.; OLIVO, C. J.; FLORES, F. S.; AGNOLIN, C. A.; PIRES, C. C.; BOLZAN, A. M. S. Alteração da carga de endoparasitas em ovinos submetidos a diferentes níveis de folha de bananeira na alimentação. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, RS, v. 6, n. 2, p 111-116, 2011.

PEDROSA, K. Y. F.; BARRÊTO Jr. R. A.; COSTA, E. S.; LEITE, A. I.; PAULA, V. V. de. Aspectos epidemiológicos e sanitários das criações de caprinos na zona Noroeste do Rio Grande do Norte. **Caatinga**, Mossoró, RN, v.16, n.1-2, p. 17-21, 2003.

PENELUC, T.; DOMINGUES, L. F.; ALMEIDA, G. N. de.; AYRES, M. C. C.; MOREIRA, E. L. T.; CRUZ, A. C. F. da.; BITTENCOURT, T. C. B. S. C. de.; ALMEIDA, M. A. O. de.; BATATINHA, M. J. M. Atividade anti-helmíntica do extrato aquoso das folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. (*Rutaceae*). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, SP, v. 18, supl. 1, p. 43-48, 2009.

PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2005, 513p.

RAMOS, C. I.; BELLATO, V.; ÁVILA, V. S.; COUTINHO, G. C.; SOUZA, A. P. Resistência de parasitos gastrintestinais de ovinos a alguns anti-helmínticos no Estado de Santa Catarina, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v.32, n.3. p. 473-477, 2002.

ROBERTS, F. H. S.; O' SULLIVAN, P. J. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infecting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v. 1. n. 1, p. 99-102, 1950.

RODRIGUES, A. B.; ATHAYDE, A. C. R.; RODRIGUES, O. G.; SILVA, W. W.; FARIA, E. B. Sensibilidade dos nematóides gastrintestinais de caprinos a anti-helmínticos na mesorregião do Sertão Paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 27, n. 4, p. 162-166, 2007.

ROMERO, Q. L. F.; OSORIO, C. J. C.; BILBAO, M. Efecto antiparasitário de los extractos etanólicos y etéreos de *Ficus obtusifolia* Kunth (*Moraceae*) frente a parasitos de clase nematodos (*Toxocara cati* y *Toxocara canis*). **Infectio**, Bogotá, v. 13, n. 4, 2009.

ROZZA, D. B.; RAYMUNDO, D. L.; CORRÊA, A. M.R.; LEAL, J.; SEITZ, A. L.; DRIEMEIER, D.; COLODEL, E. M. Intoxicação espontânea por *Baccharis coridifolia* (Compositae) em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 26, n.1, p. 21-25, 2006.

SANDEEP, R. K.; SHRINIVAS, K. M.; JAYKUMAR, S. S. Antihelmintic activity of aqueous and methanolic extracts of *Euphorbia thymifolia* LINN. **International Journal of PharmaTech Research**, Mumbai, v. 1, n. 3, p. 666-669, 2009.

SAS, Institute. SAS/STAT 9,2 User's Guide. SAS Institute Inc. Cary. NC, 2011.

SHOOP, W. L.; MICHAEL, B. F.; HAINES, H. W.; C. H. Anthelmintic activity of paraherquamide in calves. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 43, n. 3, p. 259-263, 1992.

SILVA, C. F.; ATHAYDE, A. C. R.; SILVA, W. W.; RODRIGUES, O. G.; VILELA, V. R. L.; MARINHO, P. V. T. Avaliação da eficácia de tabos (*Typha domingensis* Pers.) e batata-de-purga [*Operculina hAMILTONII* (G. Don) D. F. Austin & Staples] in natura sobre nematóides gastrintestinais de caprinos, naturalmente infectados, em clima semi-árido. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, SP, v. 12, n. 4, p. 466-471, 2010.

SILVA, V. C.; CARVALHO, M. G.; BORBA, H. R.; SILVA, S. L. C. Atividade anti-helmíntica dos flavonóides isolados das raízes de *Andira anthelmia* (Leguminosae) **Revista Brasileira de Farmacognosia**. João Pessoa, PB, v.18, n. 4, p. 573-576, 2008.

THOMAZ-SOCCOL, V.; CASTRO, E. A.; POHL, F.; MORAES, F. R.; SOTOMAIOR, C. Anthelmintic resistance in sheep. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, PR, v. 47, n. 1, p. 41-47, 2004.

THRALL, A. M. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2006, 582p.

UENO, H.; GUTIERRES, V. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1983.

UENO, H.; GONÇALVES, P. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 4 ed., Tokyo. Japan International Cooperation Agency, 1998. 143 p.

VANDAMME, T. H. F.; LLLIS, K. J. Issues and challenges in developing ruminal drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 10, p. 1415-1436, 2004.

VAN KRUIJNGEN, H.J. **Veterinary Autopsy Procedure**. Philadelphia: Lippincott, 1954, 78p.

VIEIRA, L. S. Métodos alternativos de controle de nematóides gastrintestinais em caprinos e ovinos. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, PB, v. 2, n. 2, p. 49-56, 2008.

VIEIRA, L. S.; BERNE, M. E. A.; CAVALCANTE, A. C. R.; COSTA, C. A. F. *Haemochus contortus* resistance to ivermectin and netobobolin in Brazilian sheep. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 45, n. 1-2, p. 111-116, 1992.

VILELA, V. L.R.; FEITOSA, T. F.; LÔBO, K. M. S.; BEZERRA, D. A. C.; ATHAYDE, A. C. R. Potencial anti-helmíntico da raiz de *Solanum paniculatum* Linnaeus (1762) em ovelhas do semi-árido paraibano. **Acta Veterinária Brasilica**, Mossoró, RN, v. 3, n. 1, p. 20-24, 2009.

WINTER, H. **Guia para la Necropsia de los Ruminantes Domesticos**. Zaragoza: Acribia, 1969. 118p.