

## **AÇÃO DE *Ocimum basilicum* NA INIBIÇÃO DA MIGRAÇÃO LARVAL DE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DE OVINOS**

**LEONARDO MORTAGUA DE CASTRO<sup>1</sup>; NATÁLIA BERNE PINTO<sup>2</sup>; TAIRAN OURIQUE MOTTA<sup>2</sup>; WESLEY DOUGLAS DA SILVA TERTO<sup>2</sup>; ROGERIO ANTONIO FREITAG<sup>2</sup>; MARIA ELISABETH AIRES BERNE<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pelotas – leonardomortagua@gmail.com

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas – nbernevet@gmail.com

<sup>3</sup> Universidade Federal de Pelotas – bernemea@gmail.com

### **1. INTRODUÇÃO**

A produção de ovinos no Brasil se apresenta em forte expansão, devido à valorização de sua carne que atualmente atinge o grande centro consumidor e sua lã que volta a ter importância nas indústrias têxteis. Os nematódeos gastrintestinais são a principal ameaça na criação de ovinos (WALLER, 2006), sendo os trichostrongylídeos os responsáveis pelos maiores desafios a que são submetidos os ovinos e o seu manejo sanitário. Isto se deve principalmente a ampla resistência apresentada por estes parasitos aos diferentes fármacos em todo o mundo (PAPADOPOULOS, 2012).

Dentre esses parasitos destaca-se o *Haemochus contortus*, parasita do abomaso de ruminantes. Este causa espoliação na mucosa, devido seu comportamento hematófago que podem levar a severos casos de anemia, perda de peso e a mortalidade (AMARANTE, 2001).

Para o possível controle destes parasitos é necessário à utilização de novas alternativas juntamente com os antihelmínticos comerciais. Entre os métodos alternativos o uso de fitoterápicos apresenta destaque nas pesquisas atuais, alcançando resultados promissores contra nematódeos gastrintestinais de ovinos (CARVALHO, 2012 e OLIVEIRA, 2009).

O *Ocimum basilicum*, conhecido popularmente como manjerição, pertencente à família Lamiaceae, muito utilizado como condimentos em todo o mundo, tem sido estudado por diversos pesquisadores contra nematódeos (CARVALHO, 2012), protozoários (ALMEIDA, 2009) e fungos (DAMBOLENA, 2010).

O presente estudo tem por objetivo avaliar a eficiência do óleo essencial de *Ocimum basilicum*, popularmente conhecido como manjerição, na inibição da migração larval de nematódeos gastrintestinais de ovinos.

### **2. METODOLOGIA**

Para a obtenção do óleo essencial foram utilizadas folhas secas de *O. basilicum* adquiridas de distribuidor comercial (Luar Sul<sup>®</sup>) com certificação de qualidade e origem. Para obtenção do óleo essencial, as folhas secas foram submetidas à extração com arraste de vapor em aparelho Clevenger, durante 4h. O óleo obtido foi seco com sulfato de sódio anidro P.A, armazenado em frasco âmbar e mantido a -18°C até a utilização. O óleo essencial foi submetido à cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa para a detecção de seus principais constituintes.

Amostras de fezes foram colhidas diretamente da ampola retal de cordeiros, naturalmente parasitados por nematódeos gastrintestinais. Os ovos

foram quantificados de acordo com a técnica de Gordon & Whitlock (1939), e a partir das amostras positivas foi realizada coprocultura pela técnica de ROBERTS E O'SULLIVAN (1950). Estas foram mantidas por sete dias em estufa a 28 °C e UR acima de 80%, quando então foram recuperadas, contadas e identificadas às larvas de terceiro estágio (L3).

Para a realização do teste de Inibição da Migração Larval utilizou-se a técnica segundo JACKSON E HOSTE (2010) com modificações. Primeiramente as larvas foram colocadas para migrar por uma hora em placas de polietileno de seis poços para seleção das larvas viáveis, após essa seleção inicial, as L3 foram colocadas em contato com 0,6% da solução de desembainhamento (hipoclorito de sódio 2%) por aproximadamente 20min. Seguindo-se três lavagens através de centrifugação, a 3000rpm por 2min com água destilada e a adequação final para concentração de 150 larvas em 100µL. Estas foram incubadas com 900µL do óleo essencial de *O. basilicum* em quatro diferentes concentrações, 6,25%; 3,12%; 1,56% e 0,75% e também com o controle positivo (anti-helmíntico) e controle negativo (água destilada) por 24 horas em estufa a 28 °C. Todas as avaliações foram testadas em triplicatas.

Após o período de incubação, o conteúdo de cada poço contendo as L3 foi transferido para tamises com malha de abertura de 25µm e acondicionadas novamente em estufa a 28 °C por 24 horas. Após este período os tamises foram removidos e lavados com água destilada para retirar o conteúdo retido, seguindo-se a contagem em microscópio invertido das larvas que migraram e das larvas que ficaram retidas nos tamises.

As médias de inibição da migração larval para cada tratamento foram calculadas através da equação: % inibição da migração larval =  $\frac{\text{Número de larvas que não migraram}}{(\text{Número de larvas que não migraram} + \text{Número de larvas que migraram})} \times 100$ .

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise dos nematódeos presentes nas fezes de ovinos utilizados no presente estudo foram diagnosticados os seguintes gêneros, *Haemonchus* spp., *Ostertagia* spp. e *Trichostrongylus* spp. (Figura 1). *Haemonchus* spp. foi o nematódeo mais frequente confirmando estudos já realizados neste pequeno ruminante (KRECEK & WALLER, 2006).

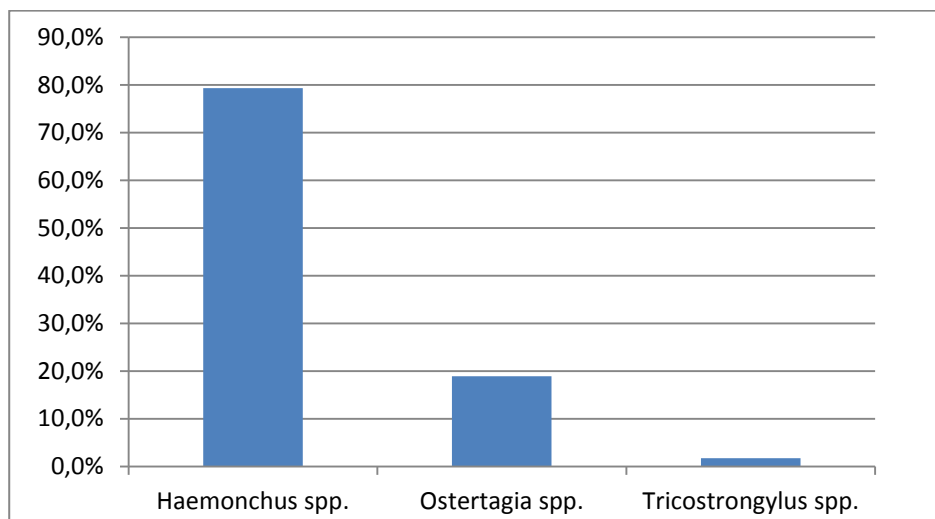


Figura 1: Percentual de gêneros de larvas de nematódeos gastrintestinais presentes nas fezes dos ovinos infectados naturalmente.

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa apresentou como os principais constituintes do óleo essencial de *O. basilicum* o Chavicol (34,68%) e o Beta Linalool (27,68%). Já citados com ação sobre parasitos (CASTRO, 2012).

O óleo essencial mostrou percentagem de inibição de migração de larvas de nematódeos gastrintestinais de ovinos de no máximo de 47,6% na concentração de 1,56% (Figura 2), portanto mostrando atividade nematicida, fato este também verificado em estudos conduzidos com óleos extraídos de outras plantas (BOSENBECKER, 2006).

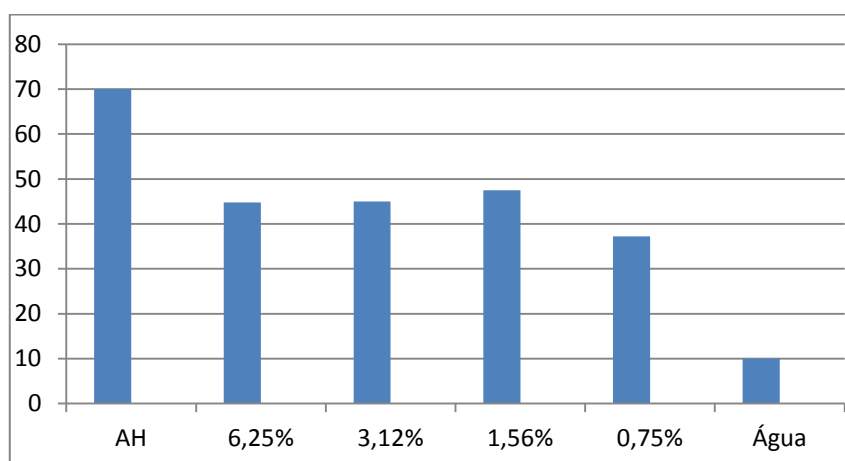


Figura 2: Percentual da atividade do óleo essencial de *O. basilicum* na inibição da migração larval de nematódeos gastrintestinais de ovinos.

Quanto aos métodos empregados na avaliação do óleo *in vitro*, estes são amplamente utilizados e destacam-se por serem rápidos, menos trabalhosos e com menores custos (DEMELETER et al. 2012), sendo adequados para a triagem para testes *in vivo*. O teste de inibição da migração larval, especificamente, dentre outras avaliações mostra-se importante para avaliar a ação de fitoterápicos.

#### 4. CONCLUSÕES

Baseado nos resultados obtidos no presente estudo pode-se concluir que nas condições em que foi testado o óleo essencial de *Ocimum basilicum* apresentou moderada inibição da migração larval de nematódeos gastrintestinais de ovinos. Futuros estudos utilizando o óleo em maiores concentrações são necessários, bem como testes *in vivo*, para que este possa vir a ser uma opção no controle destes nematódeos.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, I., ALVIANO, D. S., VIEIRA, D. P., ALVES, P. B., BLANK, A. F., LOPES, A. H., et al. Antigiardial activity of *Ocimum basilicum* essential oil. **Parasitology Research** 101, 443–452, 2007.
- AMARANTE, A. F. T. Controle de endoparasitoses dos ovinos. In: Mat-tos, W.R.S. (Ed.), A produção animal na visão dos brasileiros. Fealq/SBZ, Piracicaba, pp. 461–473, 2001.
- BOSENBECKER, V. K. Efeitos de óleos essenciais de plantas bioativas no controle de *Phytophthora Infestans* e *Meloidogyne javanica* em batata (*Solanum tuberosum* L.). Tese (Doutorado) -Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 65 p, 2006.
- CARVALHO, C. O., CHAGAS, A. C. S., COTINGUIBA, F., FURLAN, M., BRITO, L. G., CHAVES, F. C. M., et al. The anthelmintic effect of plant extracts on *Haemonchus contortus* and *Strongyloides venezuelensis*. **Veterinary Parasitology**, v. 183, p. 260– 268, 2012.
- CASTRO, L. M. Atividade ovicida de *Ocimum basilicum* em nematódeos gastrintestinais de ovinos. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 41 p, 2012.
- DAMBOLENA, J. S., ZUNINO, M. P., LOPEZ, A. G., RUBINSTEIN, H. R., ZYGADLO, J. A., MWANGI, J. W., et al. Essential oils composition os *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. from Kenya and their inhibitory effects on growth and fumonisim production by *Fusarium verticillioides*. **Innovative Food Science and Emmerging Technologies**, v.11, p. 410-414, 2010.
- DEMELE, J., KLEINSCHMIDT, N., KÜTTLER, U., KOOPMANN R. & SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. Evaluation of the Egg Hatch Assay and the Larval Migration Inhibition Assay to detect anthelmintic resistance in cattle parasitic nematodes on farms. **Veterinary Parasitology**. 61:614-618, 2012.
- FORTES, F. S., MOLENTO, M. B. Resistência anti-helmíntica em nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes: avanços e limitações para seu diagnóstico, **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 33(12):1391-1402, dezembro 2013.
- GORDON, H. M., WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**, v.12, p.50-52, 1939.
- JACKSON, F., HOSTE, H. In vitro methods for primary screening of plant products direct activity against ruminant gastrointestinal nematodes. London: **Springer**,. p. 25-45. 2010.
- KRECEK, R.C., WALLER, P.J. Towards the implementation of the “basket of options” approach to helminth parasite control of livestock: Emphasis on the tropics/subtropics. **Veterinary Parasitology**, v.139, p.270–282, 2006.
- ROBERTS, F.H. S., O’SULLIVAN SP. Methods for egg counts and larvae cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.1, p.99-102, 1950.
- OLIVEIRA, L. M. B., BEVILAQUA, C. M., COSTA, C. T., Anthelmintic activity of *Cocos nucifera* L. against sheep gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology** v.159, p.55–59, 2009.