

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA *IN VITRO* DO EXTRATO DE ACÁCIA-NEGRA (*Acacia mearnsii*) NA REDUÇÃO DA ECLODIBILIDADE DE OVOS DE *Haemonchus contortus*

NATALIA SOARES MARTINS¹; DIEGO MOSCARELLI PINTO²; NATALIA JANOVIK³; PATRICIO AZEVEDO DOS SANTOS⁴; ROBERT DOMINGUES⁵; ALESSANDRO PELEGREINE MINHO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – nataliasmartins@outlook.com

²Universidade Federal de Pelotas – dimoscarelli@yahoo.com.br

³Universidade da Região da Campanha - natalia_janovik@hotmail.com

⁴ Universidade da Região da Campanha – patricio.azevedo@hotmail.com

⁵Embrapa Pecuária Sul – robert.domingues@embrapa.br

⁶Embrapa Pecuária Sul – alessandro.minho@embrapa.br

1. INTRODUÇÃO

Atualmente a pecuária desempenha um papel fundamental no desenvolvimento da economia brasileira. Na ovinocultura as parasitoses gastrintestinais causam grandes perdas econômicas, sendo a alta prevalência e a dificuldade de realizar um controle efetivo destes parasitos acarretadores de prejuízos ao desempenho zootécnico e ao bem-estar animal. Os nematóides gastrintestinais competem com os ruminantes pelos nutrientes, podendo levar a anemia, diarreia e até mesmo ao óbito em situações extremas (CATTO et al., 2005). Os efeitos da infecção por estes parasitos variam de acordo com a idade do animal, raça, estado fisiológico, intensidade parasitária e das espécies de helmintos envolvidas (SILVA et al., 2012).

No caso dos ovinos, *Haemonchus contortus* é o parasito de maior importância na cadeia produtiva, sendo a espécie dominante em termos de intensidade de infecção, pois os ovinos mostram-se altamente susceptíveis, com alta taxa de estabelecimento da infecção e grande excreção de ovos pelas fêmeas de *H. contortus* (JACQUIET et al., 1998). O parasito adulto é hematófago, causando problemas gástricos e perdas de proteínas séricas, tendo seu efeito agravado pela anemia.

A administração de anti-helmínticos aos animais ainda é a principal medida adotada para o controle da verminose (MILLER; HOROHOV, 2006). Contudo, uma das consequências da ampla utilização dessas drogas foi o favorecimento de nematódeos resistentes, problema que se encontra disseminado nos rebanhos (KAPLAN, 2004). A ineficácia dos químicos ocorre devido ao manejo incorreto, como falta de rotatividade de princípios ativos e bases farmacológicas, uso de diversas doses em curto período de tempo e do diagnóstico impreciso da infecção parasitária (SOUZA et al., 2008).

O uso desenfreado dos vermífugos também contribui para aumento de contaminação dos mananciais e alimentos, bem como a presença de resíduos de antiparasitários na carne e produtos lácteos. Frente a estes fatos, a utilização de plantas apresenta-se como uma alternativa, uma vez que muitas possuem compostos bioativos específicos que lhes conferem relativa resistência ao ataque de patógenos (OLIVEIRA et al., 2011).

A utilização de plantas ricas em taninos condensados (TC) pode servir como alternativa de controle em helmintos em ovinos, possibilitando a redução do uso de químicos, e consequentemente a pressão de seleção sobre os nematódeos gastrintestinais (NGI), bem como os custos de produção. A utilização de TC como

alternativa de controle em helmintos de pequenos ruminantes foi avaliada por Minho et al. (2010), verificando o potencial de redução da eliminação de ovos nas fezes dos animais e, portanto, na contaminação das pastagens.

Considerando estes aspectos, este trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia do extrato de casca de acácia-negra (*Acacia mearnsii*) na inibição da eclodibilidade de ovos de *H. contortus* em ovinos.

2. METODOLOGIA

Empregou-se uma versão adaptada do Teste de Inibição Eclodibilidade de Ovos (TIEO), padronizado por Von Samson-Himmelstjerna et al. (2009). Para a recuperação dos ovos usados na técnica, foram utilizados ovinos doadores infectados mono-especificamente com larvas de *H. contortus* e criados em confinamento, estes possuíam contagem média de 5.000 ovos por grama de fezes (OPG), segundo o método de Gordon & Whitlock modificado (UENO & GOLÇALVES, 1998). As fezes foram maceradas em água morna ($\leq 40^{\circ}\text{C}$) e filtradas com auxílio de quatro tamises com malhas de diferentes diâmetros. Posteriormente, os ovos que ficaram retidos na última peneira foram retirados, acondicionados em tubos de 50mL e centrifugados 3 vezes a 3.000rpm por dois minutos. Por fim, o sobrenadante foi despejado em peneira de 25 μm e lavado lentamente em água morna.

Após a etapa de recuperação de ovos, a solução obtida foi homogeneizada e quatro alíquotas foram utilizadas para estimar a quantidade de ovos por μL da solução. Os ensaios foram realizados em placas de 24 poços, contendo em média 150 ovos por poço. Foram adicionados 1900 μL de solução aquosa com extrato em pó de casca de acácia em cada poço, em diferentes concentrações (100 mg.mL $^{-1}$, 50 mg.mL $^{-1}$, 25 mg.mL $^{-1}$, 12,5 mg.mL $^{-1}$, 6,25 mg.mL $^{-1}$, 3,125 mg.mL $^{-1}$, 1,5625 mg.mL $^{-1}$, 0,78125 mg.mL $^{-1}$, 0,390625 mg.mL $^{-1}$) e controle negativo (água destilada). Cada tratamento foi feito em quadruplicata. As placas foram vedadas com filme plástico e incubadas em estufa à temperatura de $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$, por 24h. Transcorrido o tempo, avaliou-se a ação do extrato testado sobre o desenvolvimento dos ovos, por meio de leitura em microscópio invertido, quantificando todas as estruturas presentes (ovos e larvas de primeiro estágio – L₁).

Para estimar o percentual de eclodibilidade dos ovos de NGI eliminados nas fezes, e sua consequente viabilidade, foi realizada regra de três simples calculando o número de L₁ em 150 estruturas (soma de ovos e larvas). Por meio da curva de dose-resposta, pôde-se determinar o índice CI50, ou seja, a dose do extrato capaz de inibir 50% da eclosão de ovos de *H. contortus*. Utilizou-se o programa estatístico GraphPad Prism (version 5.00).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A curva dose-resposta ajustada para extrato de casca de acácia-negra (*A. mearnsii*) está demonstrada na Figura 1. A concentração efetiva para inibir 50% da eclosão de ovos (CI50) foi 2,983 mg.mL $^{-1}$ com coeficiente de determinação (R^2) de 0,9824. Vale ressaltar, que o coeficiente de determinação é uma medida do grau de ajuste da curva dose-resposta estimada aos dados utilizados, quanto mais próximo de 1 o coeficiente estiver, melhor é o ajuste.

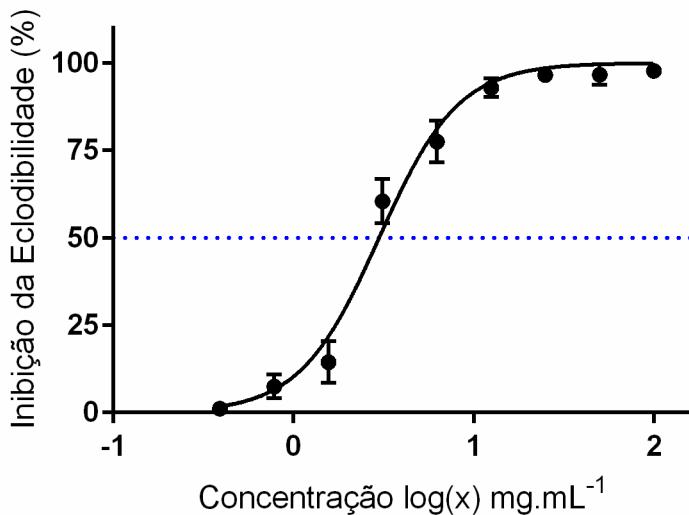


Figura 1. Curva dose-resposta do efeito de inibição da eclodibilidade de extrato de casca de acácia em ovos de *H. contortus*

Como alternativa aos métodos *in vivo*, um crescente número de testes *in vitro* para a detecção de resistência anti-helmíntica vem sendo desenvolvido e adaptado para diferentes grupos de drogas. Costa et al. (2002) analizaram a atividade dos extratos hexânico e etanólico da semente de manga (*Mangifera indica*) sobre ovos de *H. contortus*. O extrato etanólico, rico em taninos e saponinas, inibiu 95,66% da eclosão dos ovos a 50 mg.mL⁻¹, entretanto o extrato hexânico na mesma concentração não apresentou efeito significativo. No presente trabalho, uma concentração menor foi capaz de obter o mesmo efeito, o CI95 foi de 13,22 mg.mL⁻¹.

Em longo prazo, a utilização do extrato de acácia-negra poderia servir como uma alternativa para a diminuição no número de aplicações de anti-helmínticos, aumentando o intervalo entre os tratamentos. Dessa maneira, a pressão de seleção sobre as populações de helmintos diminuiria, reduzindo assim o risco de desenvolvimento de parasitos resistentes aos princípios ativos utilizados nos rebanhos ovinos.

4. CONCLUSÕES

Por meio deste estudo, conclui-se que o extrato de acácia-negra foi capaz de inibir a eclodibilidade de ovos de *H. contortus*, tendo potencial para reduzir a contaminação da pastagem e a reinfecção de animais por este parasito.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CATTO, J. B.; BIANCHIN, I.; TORRES JUNIOR, R. A. A. Efeitos da everminação de matrizes e de bezerros lactentes em sistema de produção de bovinos de corte na região de Cerrado. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 3, n. 1, p. 188- 194, 2005.
- COLES, G. C.; BAUER, C.; BORGSTEEDE, F. H. M.; et al. Avaliação comparativa da ação anti-helmíntica e do desenvolvimento ponderal de bezerros tratados com diferentes avermectinas de longa duração. **A Hora Veterinária**, v.24, n.139, p.31-34, 2004.
- COSTA, C.T.C.; MORAIS, S.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; et al. Ovicidal effect of *Mangifera indica* seeds extracts on *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 11, n.2, p.57-60, 2002.
- JOSHI, B.R. et al. Effect of feeding *Sericea lespedeza* leaf meal in goats experimentally infected with *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v.178, p.192-197, 2011.
- KAPLAN, R.M. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. **Trends in Parasitology**, v.20, p.477-481, 2004.
- MILLER, J.E.; HOROHOV, D.W. Immunological aspects of nematode parasite control in sheep. **Journal of Animal Science**, v.84, p.124-132, 2006.
- MINHO, A.P.; FILIPPSEN, L.F.; AMARANTE, A. F. T.; et al. Efficacy of condensed tannin presents in acacia extract on the control of *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. **Ciência Rural**, v.40, n.6, p. 1360-1365, 2010.
- OLIVEIRA, L. M. B.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, S. M. de; et al. Plantas taniníferas e o controle de nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, v.41, n.11, 2011.
- SILVA, J. B. da; SOARES, J. P. G.; FONSECA, A. H. da. Avaliação da carga parasitária de helmintos e protozoários em bezerros manejados em sistema orgânico. Semina: **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 3, p. 1103-1112, 2012.
- SOUZA, A. P.; RAMOS, C. I.; BELLATO; et al. Resistência de helmintos gastrintestinais de bovinos a anti-helmínticos no Planalto Catarinense. **Ciência Rural**, v.38, n.5, p.1363-1367, 2008.
- UENO, H.; GONÇALVES, P.C. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes. 4^a ed. Tokyo: Japan International Cooperation Agency, 1998. 143p.
- VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., COLES, G.C., JACKSON, F., et al. Standardization of the egg hatch test for the detection of benzimidazole resistance in parasitic nematodes. **Parasitology Research**. v.105, p. 825–834, 2009.