

## **AÇÃO OVICIDA DO EXTRATO CPP1 FRENTE A OVOS DE *TOXOCARA* SPP.**

**NIELLE VERSTEG<sup>1</sup>; GABRIELA CAPELLA DE ALMEIDA<sup>2</sup>; NATALIA BERNE PINTO<sup>3</sup> SOLIANE CARRA PERERA<sup>4</sup>; ROGÉRIO ANTONIO FREITAG<sup>5</sup>; MARLETE BRUM CLEFF<sup>6</sup>.**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [nielle.versteg@gmail.com](mailto:nielle.versteg@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [capellavet@gmail.com](mailto:capellavet@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [bernevet@gmail.com](mailto:bernevet@gmail.com)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – [soliane.cp@hotmail.com](mailto:soliane.cp@hotmail.com)

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – [rafreitag@gmail.com](mailto:rafreitag@gmail.com)

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – [marletecleff@gmail.com](mailto:marletecleff@gmail.com)

### **1. INTRODUÇÃO**

As parasitoses em cães estão entre as doenças mais frequentes nos pequenos animais (OTERO et al., 2014). Dentre os endoparasitos, destaca-se o gênero *Toxocara* spp., com uma alta ocorrência na população canina (NEVES et al. 2014). Entretanto, este parasito não infecta apenas cães e gatos, mas também pode infectar humanos (HOLLAND & SMITH, 2006).

A infecção de cães e gatos, que são os hospedeiros definitivos, ocorre pela ingestão de ovos embrionados que se desenvolvem até a forma adulta no intestino do animal parasitado e são capazes de produzir cerca de 200.000 ovos diariamente, estes eliminados juntamente com as fezes do animal infectado (LIMA, 2010). Esses ovos são altamente resistentes a condições climáticas adversas e podem sobreviver no meio ambiente por vários anos (MORRONGO, 2006).

Os filhotes caninos, de três a cinco meses de vida, apresentam a maior carga parasitária, por apresentarem uma resposta imunológica em desenvolvimento. Os cães adultos, com o sistema imune mais eficaz, geralmente não desenvolvem a forma adulta do parasito. As larvas de *Toxocara* spp. migram pelo organismo utilizando a circulação sanguínea e se estabelecem em forma de latência em tecidos ou órgãos. Nessa forma não são capazes de produzir ovos e libera-los para o ambiente, mas podem causar afecções sérias ao animal infectado (BOWMAN et al. 2009).

O tratamento mais adequado é por meio da administração de anti-helmínticos (ALHO et al., 2010). No entanto, diversos tutores não realizam tratamento e profilaxia antihelmíntica de forma adequada. O controle ineficaz pode acarretar resistência aos fármacos e perpetuação dos parasitos através da contaminação ambiental (MARQUES et al., 2012).

Nesse contexto, a fitoterapia é uma alternativa que pode reduzir o uso de antihelmínticos, diminuindo custos com os tratamentos e prolongando a vida útil dos fármacos disponíveis (VASCONCELOS, 2006). Dentre as plantas que vem sendo estudadas, destaca-se o extrato cpp1, devido a amplo uso e distribuição no Brasil, por apresentar atividade antimicrobiana, além de alta estabilidade do óleo essencial (NOLKEMPER et al., 2006). DIAS DE CASTRO (2013) vem estudando fitoterápicos no controle de endoparasitoses. No entanto, ainda existem poucos estudos com o uso desse extrato no controle de parasitoses de pequenos animais. Dessa forma, esse trabalho objetivou avaliar o potencial de inibição de embrionamento do extrato cpp1 frente a ovos de nematódeos do gênero *toxocara* spp.

### **2. METODOLOGIA**

A planta utilizada no estudo foi obtida de distribuidor comercial, com certificação de qualidade e origem. A extração do óleo essencial foi realizada no Laboratório de Química Orgânica da UFPel. Para a extração foi utilizado 100 g das folhas secas e submeteu-se à extração com arraste de vapor em aparelho do tipo Clevenger durante 4 horas, sendo realizadas em triplicata. Após a extração, o óleo obtido foi seco com sulfato de sódio anidro, armazenado em frasco âmbar.

Para a obtenção dos ovos do parasita, foram coletadas fezes de cães do canil do Hospital de Clínicas Veterinária – HCV/ FaVet, com idade entre 30 a 45 dias, após receberem tratamento antihelmíntico. As amostras obtidas foram mantidas refrigeradas e encaminhadas para o Laboratório de Helmentologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia - IB (UFPel). No laboratório, foram retirados os *Toxocara* spp. adultos e realizada separação por sexo. Nos parasitos fêmeas foram realizadas histerectomias para a recuperação dos ovos. Os ovos recuperados foram lavados em água destilada e quantificados para utilização no teste de inibição de embrionamento.

O teste de eclodibilidade foi realizado em placas de microcultivo de 24 poços, onde foram distribuídas seis concentrações (3 a 0,093%) do extrato cpp1 juntamente com a suspensão contendo aproximadamente 100 ovos de *Toxocara* spp. e Tween 0,5%. O ensaio foi acompanhado de controles negativo contendo cloridrato de Tiabendazole (0,025 mg/mL) e dois controles positivos com água destilada e Tween 0,5%. Todos os tratamentos foram realizados em quadruplicata e as placas lacradas com filme plástico e incubadas em estufa B.O.D. a 28°C com 80% de umidade relativa por trinta dias. Após esse período, foram realizadas as leituras das placas com o auxílio de um microscópio de luz invertida.

Os resultados do experimento foram expressos pela média percentual da inibição de embrionamento, sendo a eficácia de cada tratamento no teste determinada conforme a equação: % de inibição do embrionamento =  $n^{\circ}$  de ovos não embrionados x  $n^{\circ}$  total de ovos<sup>-1</sup> x 100. Os resultados obtidos no experimento foram analisados por meio da análise de variância ANOVA e as médias foram comparadas através do teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ), usando o software Assistat (7.7 beta).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos após 30 dias de contato do extrato cpp1, juntamente com a suspensão contendo ovos de *Toxocara* spp. estão demonstrados na tabela 1. Após o período de 30 dias foi observado que as três maiores concentrações (0,75% a 3%) apresentaram 100% de inibição de embrionamento, enquanto que a concentração de 0,375% apresentou 98,45%. Todas as concentrações do extrato cpp1 testadas não apresentaram diferença estatística entre si.

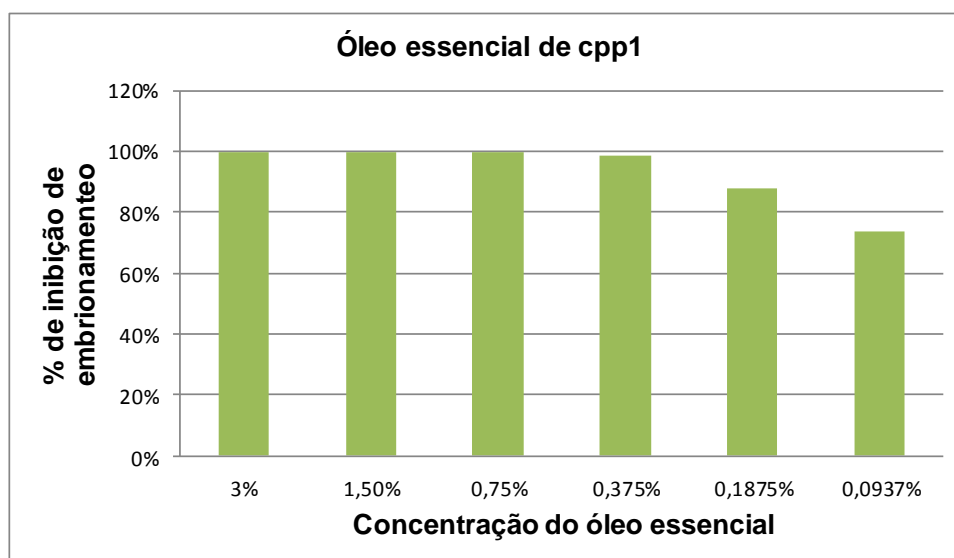
As concentrações de 0,1875% e 0,0937% apresentaram diferença estatística entre si e com as demais concentrações do extrato cpp1, resultando em médias de inibição de embrionamento de 87,65% e 73,97%, respectivamente. Com relação ao extrato cpp1 todas as concentrações avaliadas apresentaram diferença estatística com o controle de água destilada e de tween, não havendo interferência do tween no desenvolvimento embrionário dos ovos de *Toxocara* spp., pois este se mostrou estatisticamente igual a água destilada. O anti-helmintico revelou 100% de inibição do embrionamento dos ovos, que difere dos dados obtidos por CARROCCIA (2013),

apesar deste avaliar a motilidade das larvas em ovos embrionados, o albendazol apresentou apenas uma moderada redução na motilidade das larvas de *T. Canis*.

Os resultados obtidos com extrato cpp1 divergem dos obtidos por CARROCCIA (2013) que observou efeito moderado da curcumina frente ao *Toxocara canis*.

A atividade de fitoterápicos contra parasitos já foi demonstrada em estudos anteriores em parasitos de cães e ruminantes. DIAS DE CASTRO (2012) obteve uma alta inibição de eclodibilidade de ovos de *Ancylostoma* recuperados de fezes de cães. Nesse estudo na concentração de 2,5% do óleo essencial atingiu 100 de inibição de eclodibilidade. AZAMBUJA (2013) observou um resultado semelhante com a utilização do óleo essencial de *Origanum majorana* frente ao *Ancylostoma caninum*.

Tabela 1. Percentagem de inibição de embrionamento em diferentes concentrações do extrato cpp1.



#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que o extrato cpp1 apresentou atividade ovicida com eficácia semelhante ao antihelmintico padrão. No entanto, para a utilização do extrato no controle do *Toxocara* spp. ainda são necessários mais estudos visando esclarecer o mecanismo de ação e a toxicidade.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALHO, A.M. et al., 2010. Formas larvares dos helmintas: o elo mais forte na desparasitação do cão e do gato. **Veterinary Medicine**, 12(71), pp. 33-46.

AZAMBUJA, R. H. M. ; CASTRO, L. L. D. ; WALLER, S. B. ; CAPELLA, G. A. ; BERNE, M. E. A. ; Cleff, M.B. . Ação in vitro do óleo de *Origanum majorana* sobre a eclodibilidade de ovos de *Ancylostoma caninum*. In: XV Encontro de Pós-Graduação - UFPel, 2013, Pelotas - RS. Anais do XV Encontro de Pós-Graduação - UFPel, 2013.

BOWMAN, D.D. et al., 2014. **Georgis' parasitology for veterinarians** 10th ed., St. Louis, Missouri: Elsevier

DIAS DE CASTRO, L. L.; GIORDANI, C. ; MADRID, I. M. ; SILVA, L. G. C. ; AGUIAR, C. L. G. ; Berne, M. E. A. ; CLEFF, M. B. ; LEITE, F. P. L. . Potencial Ovicida do Extrato Aquoso de *Origanum vulgare* em Nematódeos de Bovinos. In: VI Simpósio Iberoamericano de Plantas Medicinais, Ponta Grossa. **Anais do VI Simpósio Iberoamericano de Plantas Medicinais**, 2012.

HOLLAND, C. V. & SMITH, H.V., 2006. *Toxocara*: the enigmatic parasite, Wallingford: CABI Publishing. Katagiri, S. & Oliveira-Siqueira, T.C.G., 2007. Zoonoses causadas por parasitas intestinais de cães e o problema do diagnóstico. **Arquivos do Instituto Biológico**, 74(2), pp. 175-184.

LIMA, W.S. Larva Migrans. In: Neves DP. **Parasitologia humana**. 11ª ed., São Paulo: Atheneu; 2010. p. 279-83.

MARQUES, J.P.; GUIMARÃES, C.R.; VILAS BOAS, A.; CARNAÚBA, P.U.; MORAES, J. Contamination of public parks and squares from Guarulhos (São Paulo State, Brazil) by *Toxocara* spp. and *Ancylostoma* spp. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v.54, p.267–271, 2012.

MORRONGO, P.; DÍEZ-MORRONGO, C.; PEDREIRA, J.; DÍEZ-BAÑOS, N.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; PAZ-SILVA, A.; DÍEZ-BAÑOS, P. *Toxocara canis* larvae viability after disinfectant – exposition. **Parasitol Res.** 2006:558-61.

NEVES, D. et al., 2014. Frequency of intestinal parasites in pet dogs from an urban area (Greater Oporto, northern Portugal). **Veterinary parasitology**, 200(3-4), pp. 295-8.

NOLKEMPER, S.; REICHLING, J.; STENTZING, F.C.; CARLE, R.; ACHNITZLER, P. Antiviral effect of aqueous extracts from species of the Lamiaceae family against Herpes simplex virus type 1 and type 2 in vitro. **Planta Med.**, v.72, n.15, p.1378-1382, 2006.

OTERO, D. et al., 2014. Prevalência de ovos de *Toxocara* spp. no solo de parques públicos da área da Grande Lisboa, Portugal – resultados preliminares. **Acta Parasitológica Portuguesa**, 20(1/2), pp. 47-50.

RUSENOVA, N.; PARVANOV, P. Antimicrobial activities of twelve essential oils against microorganisms of veterinary importance. *Trakia J. Sci.*, v.7, p.37-43, 2009.

VASCONCELOS, A.L.F.; COSTA, C.T.C.; CASTRO, C.M.S. Ovicidal and larvicidal activity of *Melissae extractum* on *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**. Vol. 140. Pg. 98-104. 2006.