



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**WAGNER MCKLAYTON ALVES DE SOUZA**

*AVALIAÇÃO In vitro* do EHA de *Lippia sidoides* Cham SOBRE OVOS E  
LARVAS DE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DA FAMÍLIA  
TRICHOSTRONGYLIDAE DE CAPRINOS

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do  
Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária  
como requisito parcial para obtenção do título de  
Mestre em Ciência Veterinária

Orientadora

Profa. Dra. Maria Cristina de Oliveira Cardoso Coelho

Co-orientador

Prof . Dr. Leucio Câmara Alves

Recife  
2008

## FICHA CATALOGRÁFICA

Souza, Wagner Mckayton Alves de

AVALIAÇÃO *In vitro* do EHA de *Lippia sidoides* Cham  
SOBRE OVOS E LARVAS DE NEMATÓDEOS  
GASTRINTESTINAIS DA FAMÍLIA TRICHOSTRONGYLIDAE DE  
CAPRINOS

2008

95 f. : il

Orientadora: Maria Cristina de Oliveira Cardoso Coelho  
Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Uni-  
versidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento  
de Medicina Veterinária.

Inclui anexo e bibliografia.

### CDD

1. Animais de produção
2. Ruminantes
3. Anti-helmínticos
4. Parasitose
5. Plantas Medicinais
6. Extrato Vegetal
7. Produto Natural
- I. Coelho, Maria Cristina de Oliveira Cardoso
- II. Título

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

**AVALIAÇÃO *In vitro* do EHA de *Lippia sidoides* Cham SOBRE  
OVOS E LARVAS DE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DA  
FAMÍLIA TRICHOSTRONGYLIDAE DE CAPRINOS**

Dissertação de Mestrado elaborada por

**WAGNER MCKLAYTON ALVES DE SOUZA**

Aprovada em: 29 de Fevereiro de 2008

**BANCA EXAMINADORA**

Profa. Dra. MARIA CRISTINA DE OLIVEIRA CARDOSO COELHO  
Presidente – Departamento de Medicina Veterinária/UFRPE

Prof . Dr. LÊUCIO CÂMARA ALVES  
Departamento de Medicina Veterinária/UFRPE

Profa. Dra. MARIA BERNADETE DE SOUZA MAIA  
Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFPE

Profa. Dra. ANA PAULA MONTEIRO TENÓRIO  
Departamento de Medicina Veterinária/UFRPE

### **O quando de Deus**

Quando o sonho se desfaz, Deus reconstrói;  
Quando se acabam as forças, Deus renova;  
Quando é inevitável conter as lágrimas, Deus dá alegria;  
Quando não há mais amor, Deus o faz nascer;  
Quando a maldição é certa, Deus transforma em benção;  
Quando parece ser o final, Deus dá novo começo;  
Quando a aflição quer persistir, Deus nos envolve com paz;  
Quando a doença assola, Deus é quem cura;  
Quando o impossível se levantar, Deus o torna possível;  
Quando faltam as palavras, Deus sabe o que queremos dizer  
Quando tudo parece se fechar, Deus abre uma nova porta;  
Quando você diz “não vou conseguir”, Deus diz “não temas, pois estou  
contigo”;  
Quando o coração é machucado por alguém, Deus é quem derrama o bálsamo  
curador;  
Quando não há possibilidades, Deus faz o milagre;  
Quando a noite parece não ter fim, Deus faz amanhecer;  
Quando caímos no profundo abismo, Deus estende sua mão e nos tira de lá;  
Quando tudo é dor, Deus nos dá a direção do céu;  
Quando o calor da provação é grande, Deus nos dá o refrigerio;  
Quando não temos nada, Deus nos dá tudo;  
Quando alguém diz que não somos nada, Deus nos diz que somos mais que  
vencedores;  
Quando difícil se torna caminhar, Deus nos carrega no colo.

Autor desconhecido.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus primeiramente

A minha mãe por tudo que fez por mim

A mãe “nen” pela dedicação amorosa

A todos os meus amigos de luta

A minha esposa Isabel pela luta e amor contínuo

Aos meus filhos Arthur e Augusto por me fazerem tão feliz

A minha Orientadora Cristina, pelos ensinamentos proferidos

Ao professor Lêucio pela experiência repassada

Aos professores e colegas de turma

Aos amigos Sergio, Silvana, Ana Paula, Vanda Lúcia, Fausto, Adeline, Acácio e outros pela cooperação

A todos os alunos da graduação que estiveram conosco nos projetos

Aos meus familiares pela força encorajadora

Aos colegas da parasitária pela ajuda constante

Em fim, a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a minha formação profissional e pessoal.

Muito obrigado!!!!!!

## LISTA DE TABELAS e FIGURAS

EXPERIMENTO	pág
Tabela 1: Estimativa dos parâmetros do modelo.....	56
Tabela 2: Probabilidade de ocorrer sucesso .....	57
Figura 1: Ovo larvado controle água após 48h.....	58
Figura 2: Ovo morulado a esquerda e ovo larvado a direita sem seu desenvolvimento completo na concentração 500mg /mL .....	59
Figura 3: Ovo larvado com total desenvolvimento embrionário com EHA...	60
Figura 4: Probabilidade de evolução larval após tratamento com EHA.....	61
<b>EXPERIMENTO II</b>	
Tabela 1: Análise de variância para o modelo de efeito.....	77
Tabela 2: Estimativas dos parâmetros do modelo de efeito final para o percentual de larvas mortas com a aplicação do extrato.....	78
Tabela 3: Análise de variância para o modelo de efeito final.....	78
Figura 1: Evolução do efeito frente aumento da concentração do EHA....	79
Figura 2: Gráfico demonstrativo dos diferentes resultados na diversas concentrações do EHA de <i>L. sidoides</i> .....	80

<b>SUMÁRIO</b>	<b>pág</b>
<b>CAPÍTULO I</b> .....	04
RESUMO.....	05
1. INTRODUÇÃO.....	07
2. OBJETIVOS.....	11
2.1 OBJETIVO GERAL.....	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	11
3. PROPOSTA DE TRABALHO.....	12
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
5. REFERÊNCIAS .....	31
<b>CAPÍTULO II</b> .....	43
EXPERIMENTOS	
1. Avaliação Ovicida <i>in vitro</i> do EHA seco de <i>Lippia sidoides Cham</i> sobre o desenvolvimento de ovos de nematódeos gastrintestinais (família Trichostrongylidae) de Caprinos.....	44
1.1 RESUMO.....	44

1.2 INTRODUÇÃO.....	46
1.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	50
1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
1.5 CONCLUSÃO.....	63
1.6 REFERÊNCIAS.....	64
EXPERIMENTO II.....	67
2. Ação Larvicida <i>in vitro</i> do EHA de <i>Lippia sidoides Cham</i> sobre larva L3 de nematódeos gastrintestinais (família Trichostrongylidae) de Caprinos.....	67
2.1 RESUMO.....	67
2.2 INTRODUÇÃO.....	69
2.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	73
2.4 RESULTADO E DISCUSSÃO.....	76
2.5 CONCLUSÃO.....	82
2.6 REFERÊNCIAS .....	83
5.CONSIDERAÇÕES .....	87
6.ANEXOS .....	88

## **CAPÍTULO I**

## RESUMO

Avaliou-se *in vitro* a atividade ovicida e larvicida do EHA de alecrim pimenta (*Lippia sidoides Cham*) sobre o desenvolvimento de ovos e larvas de terceiro estágio L3 de nematóides gastrintestinais de caprinos (família Trichostrongylidae). A ação ovicida foi realizada através de análise probabilística de evolução do ovo em suas fases embrionária, foi utilizado 50µL de solução saturada de açúcar contendo aproximadamente 40 ovos imersos em diferentes concentrações do EHA (1mg/mL 2mg/mL, 5mg/mL, 10mg/mL, 20mg/mL, 50mg/mL, 100mg/mL, 150mg/mL, 250mg/mL e 500mg/mL), sendo avaliadas no período de tempo de 1, 3, 6, 12, 24, 48 e 72 horas, água destilada no controle negativo e febendazole 33mg/mL como controle positivo, todos em triplicata. Os resultados demonstraram que a concentração de 500mg/ml apresentou uma probabilidade de 2% de ocorrer evolução do ovo de nematóides gastrintestinais de caprinos. Este resultado foi superior a todos os outros grupos testados, e superior ao grupo controle positivo. A atividade larvicida foi avaliada através de testes de eficiência do EHA sobre larvas de terceiro estágio L3 imersas em solução aquosa de 50µL e sendo aplicada sobre elas o extrato de alecrim pimenta nas concentrações de 1mg/mL, 2mg/mL, 5mg/mL, 10mg/mL, 20mg/mL, 50mg/mL, 100mg/mL, 150mg/mL, 250mg/mL e 500mg/mL e avaliadas ao período tempo de 24, 48 e 72 horas, foi utilizado água destilada no controle negativo e febendazole 33mg/ml como controle positivo, sendo repetidos mais duas vezes. Após o período de exposição ao EHA as larvas vivas foram contadas e separadas entre mortas. Os resultados revelaram que novamente a concentração de 500mg/ml apresentou resultado realmente efetivo com ação de 95,89%, essa atividade foi novamente superior a todos os grupos testado, conseguindo superar em muito o grupo controle positivo que em função de atividade ovicida já pode está demonstrando resistência anti-helmíntica. O cruzamento dos dados dos dois estudos *in vitro* sugere significativa atividade ovicida e larvicida do EHA de *Lippia sidoide Cham* sobre nematóideos gastrintestinais de caprinos (família Trichostrongylidae).

**PALAVRAS - CHAVE:** nematódeos, fitoterapia, extrato vegetal, anti-helmíntico

## 1.1 ABSTRACT

In vitro was evaluated the activity ovicidal and larvicidal of the extract dry Hidroalcoólico of alecrim pepper (*Lippia sidoides* Cham) on the development of eggs and larval of third apprenticeship L3 of nematódeos gastrintestinais (family Trichostrongylidae) of goats. The action ovicidal was accomplished through analysis probabilistic of evolution of the egg in its embryonic phases, it was used 50µL of saturated solution of sugar contends 40 buoyant eggs approximately in the extract with concentration of 1mg/ml, 2mg/ml, 5mg/ml, 10mg/ml, 20mg, 50mg/ml, 100mg/ml, 150mg/ml, 250mg/ml and 500mg/ml, being appraised in the period of time of 1, 3, 6, 12, 24, 48 and 72 hours, water distilled in the negative control and febendazole for 33mg/ml as positive control, all three times in a row. The results demonstrated that the concentration of 500mg/ml presented a probability of 2% of happening evolution of the egg of goat gastrointestinal nematodes. This result went superior to all the other tested groups, and superior to the group it controls positive. The activity larvicidal was evaluated through tests of efficiency of the extract Hidroalcoólico on buoyant larval of third stadium L3 in aqueous solution of 50µL and being applied on them the extract of alecrim pepper in the concentrations of 1mg/ml, 2mg/ml, 5mg/ml, 10mg/ml, 20mg, 50mg/ml, 100mg/ml, 150mg/ml, 250mg/ml and 500mg/ml, evaluated to the period time of 24, 48 and 72 hours, water distilled in the negative control and febendazole for 33mg/mL was used as positive control, being twice repeated. After the exhibition period to the extract the larval were counted and separated among alive and dead larval. The results revealed that again the concentration of 500mg/ml really presented result effective with action of 95,89%, that activity went superior again to all the tested groups, getting to overcome in a lot the group controls positive that in function of activity ovicidal already can it is demonstrating resistance anthelminthic. The crossing of the data of the two studies in vitro can reveal a possible activity anthelminthic of the EHA of *Lippia sidoides* Cham on gastrointestinal nematodes (family Trichostrongylidae).

**KEY WORDS:** nematodes, fitoterapia, vegetable extract, anthelminthic

## 1. INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da civilização humana, os povos da terra têm recorrido aos recursos que mantêm e preservam suas tradições e manifestações culturais, conjugando-as com as exigências do mundo contemporâneo. Ao invés de destruí-los, conseguem potencializar os avanços da técnica sem corromper as bases de sustentação da sociedade, ou seja, não recusam a mudança, e sim a administram para fortalecer e reiterar seus laços sociais.

Nas sociedades onde, o conhecimento popular do potencial terapêutico da flora local, é aliado ao conhecimento científico, sua validação é produzida e, ocorre o reconhecimento de sua eficácia, vindo propiciar com isso, sua incorporação ao sistema oficial de tratamento. Essa incorporação vem a facilitar a vida das comunidades de baixa renda, tendo em vista o elevado custo dos medicamentos da indústria farmacêutica moderna.

As informações etnomedicinais remanescentes têm subsistido de pai para filho, de geração a geração, através da transmissão oral e na maioria das vezes, podem ser obtidas nas feiras livres, através de “raizeiros” e vendedores de plantas medicinais. Tratando-se de uma expressão do folclore popular, a prática da etnomedicina possui um caráter mágico, ritualístico, ao qual muitas vezes se associam a fatores religiosos, originando condições que são julgados pela crença popular imprescindíveis à obtenção dos efeitos curativos desejados.

O mundo de hoje participa de uma grande reforma na correção de vida. Valores naturais e ecológicos retornam com grande força na determinação de novos preceitos em todas as áreas do conhecimento e da vida prática. Na medicina veterinária produtos originários de plantas medicinais ocupam espaços cada vez maiores como alternativa de tratamento.

Segundo Baladrin et al (1985), muitas plantas acumulam substâncias orgânicas que podem ser extraídas em quantidade suficiente para serem economicamente utilizadas para as mais variadas aplicações científicas, tecnológicas e comerciais.

A idéia primordial na indicação do uso de remédios a base de plantas na medicina veterinária não é substituir medicamentos registrados e já comercializados, mas sim aumentar a opção terapêutica dos profissionais da área ofertando medicamentos equivalentes, também registrados, talvez com menor custo, com indicações terapêuticas complementares às medicações existentes.

Várias plantas já são conhecidas popularmente como medicinais, suas folhas, raízes, frutos, sementes e caules são usados diariamente por uma população que vê nesta prática uma alternativa para a cura de diversas enfermidades. No Nordeste brasileiro esse hábito encontra-se bastante difundido e com raízes profundas na cultura local. Entre as muitas espécies utilizadas popularmente algumas delas tem se destacado no cenário local pela sua variedade de funções, entre elas a *Lippia sidoides Cham.*

*Lippia sidoides Cham* é conhecida popularmente como alecrim, alecrim pimenta e estrepa cavalo, pertence à família Verbanaceae, sendo encontrada na vegetação do semi-árido nordestino principalmente entre Mossoró- RN e Tabuleiro do Ceará. Bastante usada na fitoterapia local pelos elevados teores de timol e carvacrol, onde o timol é um potente anti-séptico do grupo do fenol, possuindo uma forte atividade contra bactérias e fungos (MATOS e OLIVIERA, 1998).

A caprinovinocultura é uma atividade largamente explorada nos países tropicais visando à produção sustentada de carne, leite e peles. No Nordeste brasileiro essa atividade está relacionada diretamente com a sobrevivência da população sertaneja, e o interesse pelo uso de tecnologias com objetivo de aumentar a produção já é significativo. Entretanto as endoparasitoses gastrintestinais se constituem no principal fator limitante para a produção de caprinos e ovinos em todo o mundo.

O parasitismo por nematóides gastrintestinais provoca elevadas perdas econômicas em pequenos ruminantes do Nordeste brasileiro (PINHEIRO et al., 2000). Dentre os nematóides, *Haemonchus contortus* é responsável por diminuição da produtividade e elevada mortalidade dos animais, particularmente dos jovens (AROSEMENA et al., 1998). O controle destes parasitos é usualmente realizado com anti-helmíntico, visando reduzir os níveis de infecção dos animais e promover a descontaminação das pastagens (CAHARLES, 1989). Porém o rápido aparecimento de nematóides resistentes ao anti-helmínticos associado ao alto custo do tratamento, seus resíduos em alimentos e a poluição ambiental causada por sua utilização incentivaram a

pesquisa de alternativas, como os fitoterápicos (JACKSON et al., 1993; WALLER et al., HERD, 1996 ).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a ação do extrato hidroalcoólico seco de *Lippia sidoides* Chan sobre o desenvolvimento de ovos e larvas de nematódeos gastrintestinais (família Trichostrongylidae) de Caprinos.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

2.2.1 Avaliar a atividade ovicida in vitro do EHA de *Lippia sidoides* Cham sobre o desenvolvimento de ovos de nematódeos gastrintestinais (família Trichostrongylidae) de Caprinos

2.2.2 Avaliar a atividade larvicida do EHA de *Lippia sidoides* Cham sobre o desenvolvimento de larvas (L3) infectante de nematódeos gastrintestinais (família Trichostrongylidae) de Caprinos

### 3. PROPOSTA DE TRABALHO

A "sabedoria popular" muitas vezes tem indicado que determinadas plantas podem ser utilizadas na fitoterapia. Muitas pesquisas têm atestado a ação destas plantas, mas ao mesmo tempo podem demonstrar suas reações tóxicas no organismo hospedeiro. A relação entre efeito da planta, dosificação bem como sua toxicidade, deve ser muito bem investigada, para que os conhecimentos adquiridos possam ser passados de maneira clara e eficiente no momento da utilização prática do fitoterápico. A realização dos testes laboratoriais é essencial no início da investigação, no sentido de estimar a possibilidade de uso de determinado fitoterápico. É muito comum uma relação não linear entre concentração e ação do extrato e acredita-se que isto ocorra em função do processo de extração do princípio ativo e produção do extrato. Deve-se levar em consideração também, o efeito sinérgico observado na constituição de alguns extratos vegetais, onde o efeito sobre o agente alvo é provocado por vários constituintes do extrato e a união dos mesmos potencializa seu efeito. A validação da eficácia se dá através de uma série de testes para se chegar ao ajuste final da fórmula.

A *Lippia sidoides* *chan* mais conhecida popularmente como alecrim pimenta foi escolhida para se testar uma possível ação ovicida e larvicida *in vitro* devido às várias referências de sua potencialidade terapêutica em diversas enfermidades e agentes parasitários. Se tratando de uma planta que tem ampla distribuição na nossa região, fazendo parte da flora local sertaneja. Podendo ser no futuro uma alternativa eficaz no controle das parasitoses gastrintestinais de caprinos.

Este trabalho foi dividido em duas etapas. Na primeira etapa foram realizados os estudos sobre a ação ovicida do extrato hidroalcoólico seco da *Lippia sidoides* chan sobre a evolução embrionária dos ovos de nematóides gastrintestinais de caprinos, observando-se se a referida planta pode interferir de alguma forma no desenvolvimento do ovo, retardando ou até inibindo a sua eclosão, tornando-o inviável para o desenvolvimento das larvas. Na segunda etapa foi estudada a ação larvicida do extrato hidroalcoólico seco da *Lippia sidoides* chan sobre as larvas L3 infectantes de nematóides gastrintestinais de caprinos, observando-se a ação do extrato na motilidade das larvas, com total inibição e conseqüente morte larval.

#### **4 REVISÃO DE LITERATURA**

O uso de plantas para a prática da medicina popular é bastante antigo não só no Brasil como no mundo, tendo até os dias atuais a sua importância na cura e na prevenção de eventuais enfermidades. Por ser um campo bastante amplo, existindo milhares de espécies distintas com propriedades terapêuticas e diferentes formas de uso para cada grupo, pesquisas estão sendo feitas em todo o país visando contribuir para um melhor aproveitamento dessa flora, em virtude da sua enorme aplicabilidade (JUNIOR et al., 2005).

O interesse dos povos em relação ao meio ambiente, e em especial aos vegetais, data de milhares de anos. Registros históricos demonstram que na antiguidade, o homem já conhecia diversas propriedades das plantas, dentre estas, destaca-se as suas propriedades medicinais. O conhecimento sobre o valor terapêutico das espécies vegetais vem sendo transmitido, ao longo dos tempos, de geração a geração, formando, juntamente com outras práticas, um sistema médico, conhecido como tradicional (FERNANDES, 1982; SIMÕES et al. 1999).

Logo, sentiu-se necessidade de se estudar o uso e o conhecimento das plantas pelos grupos humanos de diferentes culturas e, dessa forma, captar informações que pudessem ser empregadas na procura de substâncias biologicamente ativas que fossem a partir daí utilizadas na produção de medicamentos. Assim, surgiu a etnobotânica, representando a área da pesquisa destinada à investigação das relações entre povos e plantas, destacando-se dentre essas relações, o estudo das práticas medicinais, envolvendo vegetais utilizados na medicina popular (DISTASI, 1996).

Planta medicinal é aquela que contém um ou mais princípios ativos que conferem atividade terapêutica (ASSIS, 2000). Extratos são preparações concentradas obtidas de drogas vegetais ou plantas frescas por meio de um solvente apropriado seguido de sua evaporação total ou parcial e ajuste do concentrado a padrões previamente estabelecidos (OLIVEIRA e AKISUE, 1997).

Droga vegetal é a planta ou suas partes que do processo de coleta, preparo e conservação (secagem, estabilização), justifique seu emprego na preparação de medicamentos, utilizando então o(s) princípio(s) ativo(s). Já a fitoterapia é o método de tratamento de enfermidades que emprega vegetais frescos, drogas vegetais ou extratos vegetais (OLIVEIRA e AKISUE, 1997).

Segundo Vasconcelos (2002), a etapa inicial dos testes clínicos com animais envolve a determinação da toxicidade aguda, sub-crônica e crônica no hospedeiro, realizadas em animais de laboratório como ratos e camundongos. Além destes testes, deve-se também investigar a toxicidade do desenvolvimento (reprodução e teratologia), efeitos neurotóxicos e efeitos carcinogênicos e/ou mutagênicos.

Várias são as estratégias capazes de determinar a atividade de produtos de origem natural. De uma maneira geral, inicia-se com extratos brutos de plantas, preparados com diversos solventes (hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e água). Em seguida os extratos ativos são fracionados através de métodos cromatográficos existentes e as frações obtidas são retestadas, repetindo-se o processo até a obtenção do(s) princípio(s) ativo(s). Deve-se então escolher o bioensaio mais apropriado para determinar a

atividade, que depende dos hábitos do parasito com o qual se deseja fazer o ensaio (BEGNINE, 2001).

Ao longo dos tempos vários profissionais correlacionados com a área de saúde, tiveram o interesse em descobrir e comprovar propriedades terapêuticas de plantas medicinais. São vários os medicamentos que foram desenvolvidos de fontes naturais, especialmente, de plantas que incluem entre outras a morfina, os curares, os digitálicos e diversos medicamentos no tratamento do câncer (vimblastina, vincristina e taxol). Atualmente, os produtos naturais são responsáveis por cerca de 40% dos fármacos disponíveis para o tratamento de varias enfermidades, além do que há um grande interesse das indústrias farmacêuticas pelo uso da biodiversidade como fonte de novos fármacos (CALIXTO, 2002). Assim sendo, a Fitoterapia constitui uma forma de terapia medicinal que vem crescendo nesses últimos anos, ao ponto que atualmente o mercado mundial de fitoterápicos gira em torno de 22 bilhões de dólares (PINTO, 2002).

A procura por produtos que possam ser eficientes, isentos de resíduos químicos sintéticos, que não poluam o meio ambiente, não afetem a qualidade do produto final tem sido um grande nicho de mercado: a produção orgânica, tanto de origem vegetal quanto animal. Atualmente, há no Brasil 270 milhões de hectares destinados à produção orgânica. As empresas certificadoras já cadastraram 7.000 produtores envolvidos na atividade, sendo 95% desta produção de base familiar (Jornal do Leite, 2003). Dessa forma a fitoterapia pode contribuir para aumentar os lucros da criação, uma vez que reduz o uso

de anti-helmínticos convencionais, além de estender a vida útil dos produtos químicos disponíveis (VIEIRA et al.,1999).

Hammond et al. (1997) relataram que uma vez identificada à planta com a ação desejada, esta deve ser incluída em áreas determinadas da pastagem ou em bancos de plantas medicinais na propriedade ou região. Os autores citados acreditam que, com passar do tempo, possamos incluir a planta em um programa de nutrição. Podendo ser também possível através da biotecnologia, aumentar a produção dos compostos anti-helmínticos ou subsidiar o cultivo comercial das espécies e possibilitando o maior desenvolvimento da indústria farmacêutica fitoterápica.

Extratos de plantas têm sido utilizados como inseticidas pelo homem desde nossos ancestrais romanos. Uma prática que continua até os dias atuais com mais de duas mil plantas com propriedades pesticidas conhecidas. Os países desenvolvidos têm esta prática mais desenvolvida, utilizando plantas locais com baixo custo para os pequenos produtores em relação aos produtos químicos tradicionais. No entanto, somente poucas destas plantas têm sido utilizadas comercialmente nos Estados Unidos como fonte de pesticidas. As mais importantes economicamente foram as piretrinas (*Chrysanthemum* - Asteracea), além da rotenona, rotenóides (*Derris*, *Lonchocarpus*, *Tephrosia*, *Mundulea* - Leguminosae) e a nicotina (*Nicotiana* - Solenaceae), que é um alcalóide natural (Balandrin et al., 1985).

A caprinovinocultura no Nordeste brasileiro assume um papel relevante na economia do país por apresentar o maior rebanho e pelo aproveitamento dos seus produtos e subprodutos. Atualmente o caprino vem demonstrado interesse na política econômica do país, isto por ser considerado um animal de grande rusticidade, os quais sobrevivem em áreas secas e desprovidas de agricultura estável (Anuário Estatístico do Brasil, 1991).

O consumo de carnes e derivados no país é altamente favorável à caprinovinocultura, se encontrando em pleno processo de expansão, pois as estatísticas oficiais mostram um consumo de 700g habitante/ano, enquanto que o consumo nos países do primeiro mundo varia de 20 a 28 kg/pessoa/ano (SILVA SOBRINHO, 1997).

Segundo Couto (2001), o mercado da carne de ovinos e caprinos é altamente comprador e a atividade vem crescendo a passos largos, em todas as regiões do país, destacando-se as regiões nordeste, centro-oeste e norte.

Pernambuco tem aproximadamente 1,5 milhões de caprinos e cerca de 600 mil ovinos (PERNAMBUCO de AZ, 2004), o que representa uma área importantíssima para a economia do estado, principalmente para as regiões do agreste e sertão.

As parasitoses gastrintestinais e principalmente os helmintos encontram-se distribuídos por todo o planeta, constituindo uma das principais causas de prejuízos na exploração da caprinovinocultura. Os helmintos têm ação espoliadora, obstrutivas e de hematofagismo interferindo no desempenho de rebanhos quando neles instalados. Tornando-se uma das principais causas de

prejuízos na exploração da caprinovinocultura. Nos países em desenvolvimento os parasitos gastrintestinais representam um dos fatores mais importantes na diminuição da produtividade dos rebanhos (PRASLICKA, 1995; WALLER et al., 1996). E segundo Amarante (2004), praticamente 100% dos ruminantes domésticos são portadores de pelo menos uma espécie de endoparasito.

Entre os parasitas que infestam pequenos ruminantes, estão os chamados Trichostrongilídeos, pertencentes à família Trichostrongylidae, que compreende os gêneros *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Nematodirus* e *Cooperia* (FORTES, 1997).

Arosemena et al (1998) relatam que dentre os nematóides, *Haemonchus contortus* é responsável por diminuição da produtividade e elevada mortalidade dos animais, particularmente dos jovens.

Com relevante importância para as condições brasileiras aparece a espécie *Trichostrongylus colubiformis* (AMARANTE, 2004). Encontra-se parasitando o intestino delgado e estando de forma presente em todas as criações de ovinos. São vermes que causam lesão na mucosa intestinal provocando isolamento de proteínas séricas para o lúmen intestinal. Dessa maneira, em situações de infecções com alta carga parasitaria os animais podem apresentar anorexia, diarreia e edema submandibular (REINECK, 1983).

Segundo Urquart (1998), o gênero *Ostertagia* distribui-se mundialmente, destacando-se regiões de clima temperado e subtropical com chuvas no inverno. São parasitas do abomaso que levam as alterações importantes na

secreção das glândulas gástricas, causando anorexia e perda de proteínas plasmáticas pelo trato intestinal.

O ciclo parasitário inicia-se com a postura de ovos blastomerados pelas fêmeas presentes no trato gastrintestinal. Estes ovos chegam ao meio externo conjuntamente com as fezes, e em temperatura favorável evoluem para um ovo larvado em primeiro estágio (L1). Após algumas horas os ovos eclodem e liberam as larvas rabditóides. Livres, essas larvas prosseguem o desenvolvimento, passando pela fase de segundo estágio e culminando com uma larva de terceiro estágio (L3) infectante (FURTADO 2006). Fortes (1997) relatou que o período aproximado para que os parasitas trichostrongilídeos atinjam a fase adulta é de duas semanas.

O período de infecção no animal inicia-se com a ingestão da larva (L3). Uma vez ingerida, a larva sofre digestão em porções anteriores do trato digestório migrando para o local de preferência, onde completa o desenvolvimento larval, tornando-se adulta em um tempo médio de três semanas. O ciclo de um modo geral é do tipo direto e não migratório (FURTADO, 2006).

O Nordeste brasileiro com suas regiões áridas e semi-áridas, onde as estações chuvosa e seca são bem definidas, o clima e a precipitação são os fatores mais importantes no aparecimento das infecções por nematódeos gastrintestinais nos rebanhos caprino e ovino. Estudos epidemiológicos desenvolvidos no Nordeste têm demonstrado que os caprinos em pastejo permanente, sem tratamento anti-helmíntico, encontram-se parasitados durante todo o ano. Entretanto, a introdução de caprinos traçadores (animais livres de

infecção por nematódeos gastrintestinais) em pastagem contaminada mostrou que os animais se infectam apenas de meados do período chuvoso ao início do período seco, uma vez que nesse período, as pastagens encontram-se altamente contaminadas por larvas infectantes (COSTA e VIEIRA, 1984).

Segundo Costa (1982 b) o manejo da pastagem visando o aumento da capacidade de suporte tem contribuído significativamente para o aumento da contaminação das pastagens e o parasitismo do rebanho. Em condições naturais, com disponibilidade de pastagem, os caprinos se alimentam de vegetação alta, o que de certa forma, os protege em parte das larvas infectantes dos nematódeos gastrintestinais, visto que estas migram no máximo até 12,5 cm da superfície do solo (LE JAMBRE e ROYAL, 1976). Entretanto, visando o melhor aproveitamento das áreas de pastejo, através do emprego de técnicas, como o raleamento da caatinga, tem proporcionado maior produção de extrato herbáceo e, conseqüentemente, aumento da taxa de lotação. Dessa forma, os animais são forçados ao pastejo mais próximo ao solo, favorecendo, portanto, a infecção com as larvas infectantes (COSTA et al., 1991).

O controle das parasitoses em caprinos e ovinos, ainda é essencialmente químico, através de drogas que liberam resíduos no animal e no meio ambiente, além de elevarem a índices irrecuperáveis o custo de produção. Atualmente os programas de controle parasitário visam, não só curar as doenças clínicas, que se caracteriza por altas taxas de mortalidade, mas principalmente, reduzir os prejuízos provocados pelo parasitismo subclínico. Ressalta-se a necessidade de difusão de métodos alternativos de controle da

verminose, contemplando desde a utilização de vermífugos naturais a orientação sobre práticas de manejo que favorecerão a este controle (COSTA e VIEIRA, 1984).

Os anti-helmínticos hoje disponíveis exercem seus efeitos sobre o parasito através da interferência nos processos de metabolismo energético, coordenação neuromuscular e integridade celular dos helmintos (MARTIN, 1997). Um dos grandes problemas da criação de ovinos e caprinos é a resistência dos parasitos, em especial *Haemonchus contortus*, a vários princípios ativos (ECHEVERIA et al., 1996; SCOCCOL et al., 1996). O problema da resistência dos nematódeos aos anti-helmínticos é uma preocupação mundial (WALLER, 1994).

Com a necessidade de se buscar alternativas de controle das parasitoses gastrintestinais, foram desenvolvidas medidas de manejo que podem contribuir para esta finalidade. Essas medidas são chamadas de Controle Integrado de Parasitos (CIP) que é a combinação de métodos químicos e não químicos com a função de manter níveis aceitáveis de produção, sem a eliminação total do parasito presente. Contribuindo de forma relevante no retardo do desenvolvimento da resistência anti-helmíntica (NARI e EDDI, 2002).

Os helmintos não estão no rebanho de maneira uniforme. Os hospedeiros parasitados albergam em sua maioria poucos parasitos, em contraposição, poucos animais apresentam-se infectados com percentual maior da população de parasitas (Distribuição Binomial negativa). Esse fator ocorre em função da resposta imunológica não ser a mesma em animais de um

mesmo rebanho. Animais que desenvolveram uma resistência parasitaria são capazes de suprimir o estabelecimento dos parasitos e ou eliminar os já estabelecidos. Selecionar raças ou indivíduos que apresentem esta característica pode ser um método de redução do numero necessário de vermifugações anuais, colaborando desta forma para a diminuição da resistência anti-helmíntica e da presença de resíduos nos animais e no ambiente (HALLEY et al., 1993).

Em relação ao fator hospedeiro parasita, animais jovens são mais susceptíveis as infecções por nematódeos gastrintestinais. No entanto, se as condições de equilíbrio hospedeiro parasito sofrerem alterações como ingestão no número excessivo de larvas, prenhez, lactação e subnutrição poderão ocasionar níveis de infecções graves em todos os animais do rebanho, independentemente em que faixa etária se encontre os animais (SANTA ROSA et al., 1986).

Avaliando a resistência genética as parasitoses gastrintestinais, Costa et al., (2000) acompanharam a variabilidade na resposta a infecção por nematódeos gastrintestinais, entre e dentro do mesmo genótipo, em fêmeas jovens da raça Canindé, Anglo Nubiana e Bhuj, expostas a infecção natural, através da contagem de ovos nas fezes, determinação do hematócrito e hemoglobina. Houve variação dentro de cada uma das raças e em todos os parâmetros avaliados. Quanto à variabilidade entre raças, a Anglo Nubiana, apresentou a melhor resposta a infecção por nematódeos gastrintestinais que as demais raças.

Em função do surgimento da resistência anti-helmíntica surgiu um novo enfoque de controle da verminose, através do método “famacha”, que consiste em vermifugar o menor número de animais o possível e com menor frequência. Neste método, são medicados apenas os animais que apresentam sintomas clínicos acentuados de verminose, deixando sem tratamento aqueles que não apresentam anemia clínica. Neste caso, permanecera no meio ambiente uma população sensível aos anti-helmínticos, ou seja, que não sendo exposta ao tratamento anti-helmíntico, não sofrerá, portanto, pressão de seleção, retardando o aparecimento de resistência anti-helmíntica. O método “famacha” contribui para a redução dos custos com aquisição de anti-helmínticos, bem como a contaminação por resíduos químicos no meio ambiente e nos alimentos de origem animal (MELO et al., 1998).

De acordo com Van Wyk et al. (1997) e Vatta et al. (2001), existe uma correlação significativa entre a coloração das mucosas aparentes e o volume globular, permitindo identificar aqueles animais capazes de suportar uma infecção por *Haemonchus contortus*. Outra vantagem é que o sistema de identificação dos animais a serem vermífugados é simples, pouco oneroso e fácil de ser transmitido, inclusive para pessoas com baixo nível de escolaridade. Entretanto, a limitação do método “famacha” é com a sua aplicabilidade, uma vez que se adapta apenas para animais infectados com nematódeos hematófagos, como é o caso do *Haemonchus contortus*.

Outra forma de se combater as parasitoses gastrointestinais é através de agentes biologicamente ativos. Os parasitos gastrointestinais podem se encontrar no meio ambiente em suas formas não parasitárias (ovo e larvas),

podendo sofrer desta maneira a ação de vários inimigos naturais. Dentre estes, os fungos têm sido mencionados como os mais importantes agentes causadores da redução da densidade populacional de larvas infectantes na pastagem (FINCHER, 1973). O papel dos fungos no controle biológico de nematódeos parasitos de animais domésticos tem despertado a atenção de vários pesquisadores, em diversas partes do mundo. Os fungos antagonistas de nematódeos podem ser classificados como predadores, endoparasitas, oportunistas (parasitos de ovos e de fêmeas parasitas de plantas) e produtores de metabólitos tóxicos aos nematódeos (MANKAU, 1980; JATALA, 1986; MORGAN-JONES e RODRIGUES-KÁBANA, 1987).

Araújo (1996) observou que fungos nematófagos passaram intactos pelo trato gastrintestinal de bovinos e se reproduziram no meio ambiente, reduzindo o nível de contaminação das pastagens pelos estágios de vida livre de nematódeos gastrintestinais de bovinos. Em caprinos, no Brasil, o primeiro relato da habilidade do fungo *Monacrosporium thaumasium* em manter a atividade predatória, após passagem através do trato gastrintestinal de caprinos, foi descrito por Melo et al. (2003). Estes autores constataram atividade predatória contra *Panagrellus* spp. em placas contendo fezes coletadas 21 e 24 horas após a administração do fungo *M. thaumasium*. Em adição, observaram uma redução média de 79,24 % no número de larvas infectantes de *Haemonchus contortus*, provenientes de coproculturas preparadas com fezes coletadas 24 horas após a administração do fungo, quando comparado ao controle. Posteriormente, estes resultados foram confirmados por Viera e Cavalcante (2003) onde foram observados, também, redução da carga parasitária e ganho de peso superior em animais medicados,

semanalmente e quinzenalmente, com 10 gramas de pelets do fungo *M. thaumasium*.

O óleo destilado em vapor de sementes secas e frescas de *C. papaya* demonstrou propriedades nematicidas sobre *Caenorhabditis elegans* e *Meloidogyne* incógnita. O princípio ativo benzilisothiocinato foi identificado como responsável por essa ação, demonstrando, *in vitro*, atividade nematicida superior a do carbofurano (NAGESH et al., 2002).

Vieira et al. (1999) administraram sementes de mamão, trituradas em água, para cabras e concluíram que houve uma redução de 32,2% na contagem de ovos de *H. contortus*, porém não observaram mortalidade de parasitas adulta durante a necropsia.

Furtado et al. (2005) estudaram *in vitro* a ação do extrato aquoso e de óleo de sementes maduras de *Carica papaya* e extrato etanólico e látex puro de *Musa paradisiaca* sobre o desenvolvimento de ovos de nematódeos gastrintestinais de ovinos, onde não foi evidenciado efeito de inibição de desenvolvimento destes ovos, nestes testes.

Revilla (2004), e Lans et al (2000) relataram que sementes e látex do fruto do mamão são usadas eficazmente como anti-helmíntico, porém os dados são baseados apenas em levantamentos etnobotânicos.

Maciel (2004) testou a ação do extrato de *Molia azedarach* sobre *H. contortus*. O extrato etanólico de sementes foi mais ativo sobre a inibição de ovos ( $CL_{50}$ : 0,36 mg mL<sup>-1</sup>), enquanto o extrato etanólico de folhas ( $CL_{50}$ : 9,18 mg mL<sup>-1</sup>), foi mais eficaz sobre a inibição do desenvolvimento das larvas.

Costa et al (2002) estudaram efeitos de sementes de *Mangifera indica* sobre *H. contortus* e detectou inibição de 95,66% da eclodibilidade a uma concentração de 50mg/ml e que este efeito foi dependente da dose.

Pietrosemoli et al. (1999) observaram o efeito das folhas secas em bovinos e concluíram que ocorre controle efetivo de carga parasitária, sem efeito no ganho de peso dos animais. Pessoa (2001) testou os efeitos obtidos *in vitro* da semente de *Azadirachtina* sobre *H. contortus* e encontrou 68,3% de inibição na eclodibilidade deste verme numa concentração de 1%.

Pereira e Famadas (2004) avaliaram a eficiência do extrato de raízes de *Dahlstedtia pentaphylla* (Taub.) Burk. sobre amostras de teleóginas e larvas não alimentadas de *Boophilus microplus* de bovinos da região do Vale do Paraíba, onde de um modo geral os testes laboratoriais evidenciaram ação carrapaticida, quando o extrato foi extraído em etanol, acetona e água. Albuquerque et al. (2004) estudaram o efeito parasitológico do mastruz *chenopodium ambrosioides* em vários répteis, onde nas primeiras aplicações expeliram os parasitos.

Ketzis et al. (2002) estudando o *Chenopodium ambrosoides* (matruz) demonstrou não ser eficaz em três diferentes triagens com caprinos com infecção de *H. contortus*.

Entre as várias plantas com potencial anti-helmíntico, *Tynnantus fasciculatus* (cipó-cravo) (AMORIM et al.,1991a), *Nauclea latifolia* (ASUZU & NJUKO, 1996), *Punica granatum* (romã) (AMORIM et al., 1996), e *Spigelia*

*anthelmia* (erva lombrigueira) (BATISTA et al., 1999; ASSIS et al., 2003) apresentaram resultados promissores nos testes, *in vitro*, com larvas.

O gênero *Lippia* é bastante vasto, sendo composto por aproximadamente 200 espécies de ervas, arbustos e pequenas árvores pertencentes à família Verbenaceae. Entre as principais espécies deste gênero estão: *L. gracillis* H.B.K., *L. sidoides* Cham., *L. alba* Mill N.E. Brown, *L. mycophylla* Cham., *L. gravelous*, *L. alnifolia*, *L. aristata*, *L. grata*, *L. triphylla*, *L. thymoides*, *L. citiodora*, *L. adoensis* e *L. schimperi* (TERBLANCHÉ e KORNELIUS, 1996).

*Lippia sidoides* Chan conhecida popularmente por alecrim pimenta é um arbusto caducifólio, ereto, muito ramificado e quebradiço, podendo chegar a 2-3 m de altura. Suas folhas são pecioladas e simples, de dois a três centímetros, muito aromáticas e picantes, as flores são pequenas, esbranquiçadas, reunidas em espigas de eixo curto nas axilas das folhas. Até o momento não foram encontradas sementes desta espécie, a sua propagação é assexuada, através do processo de estaquia, usando os ramos mais finos (LORENZI e MATOS, 2002) ou estacas herbáceas com folhas (MENDONÇA, 1997).

Nas folhas do alecrim-pimenta (*Lippia sidoides chan*) que é a parte medicinal, encontram-se até 4,5% de óleo essencial rico em timol, que é seu princípio ativo majoritário e o responsável pelo seu cheiro característico (MATOS, 2002). Matos et al. (1999) conseguiram extrair das folhas de alecrim pimenta até 73,1% do óleo essencial.

O óleo essencial de *L. sidoides* de acordo com vários autores apresenta a seguinte composição química: monoterpenos (carvacrol, p-cimeno, timol,  $\alpha$ -felandreno), sesquiterpene ( $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -copaeno,  $\alpha$ -humuleno) (MACAMBIRA et al., 1986; LEMOS et al., 1990; TERBLANCHÉ e KORNELIUS, 1996). Radünz et al. (2001b) constataram um percentual de 2,93% de óleo essencial nas folhas de alecrim-pimenta e a depender da temperatura e do local de secagem este valor é alterado. Em outro trabalho Radünz et al. (2001a), observaram que o processo de secagem das folhas desta espécie pode ser otimizado com o aumento da temperatura, sem que o mesmo implique em prejuízo quantitativo no teor do óleo essencial.

O óleo essencial apresenta forte ação antifúngica, antibacteriana, antimicrobiana, contra *Staphylococcus aureus* que causa infecções na pele e na garganta, *Streptococcus mutans* responsável pela cárie dentária, *Corynebacterium xerosis* que causa mau cheiro nas axilas e nos pés, *Candida albicans* ou *Monilia* encontrada nas aftas e corrimento vaginal, *Trichophytum rubrum* e *T. interdigitale* que causam micoses na pele, ação moluscida contra o caramujo hospedeiro da esquistossomose *Biomphalaria glabra*, e ação larvicida contra o mosquito transmissor da dengue *Aedes aegypti* (LEMOS et al., 1990; LACOSTE et al., 1996; MATOS, 2000; LORENZI e MATOS, 2002).

Trevisan et al. (2003), observaram que o extrato de *L. sidoides* tem atividade anticolinesterase para o tratamento da doença de Alzheimer, com inibições que variam de 7 a 77%, dependendo do extrato e da parte da planta utilizada na composição do mesmo.

Além do óleo essencial, o extrato etanólico de alecrim-pimenta controlou gengivites marginais em cães, e também foi observada uma atividade antiinflamatória (GIRÃO et al., 2001). Nunes (1999) desenvolveu um creme dental eficiente no controle da placa bacteriana bucal e confirmou que a grande eficiência do produto se deve ao alto teor de timol. Carvalho et al. (2003) e Cavalcanti et al. (2004) comprovaram atividade larvicida do óleo essencial puro de *L. sidooides*, em pesquisa realizada com as larvas do *Aedes aegypti* L., onde a mortalidade foi de 100% .

## 5 REFERÊNCIAS

AHMED, N.U., MOSTAFA, M., AWAL, M.A., ALAM, M.N., Comparative efficacy of modern anthelmintics with that of neem seeds against gastrointestinal nematodiasis in sheep. Bangladesh veterinary Journal, v.28, n. 1-4, p. 21-23, 1994.

ALBUQUERQUE, H.N.; ALBUQUERQUE, I.C.S.; MONTEIRO, j.; BARBOSA, A.R.; Uso de Plantas Medicinais no Tratamento de répteis em cativeiro, Rev. de Biologia e Ciências da Terra. Vol.04.n.01-1 2004

AMARANTE, A.F.T. Controle de endoparasitoses dos ovinos. Disponível em: <[http:// www.fmvz.unesp.br/ovinos/repman4.htm](http://www.fmvz.unesp.br/ovinos/repman4.htm)>2005.

AMORIM, A., BORBA, H.R. , RODRIGUES, M.L.A. Ação anti-helmíntica de plantas. V Influência da casca do caule do cipó cravo ( *Tynnanthus fasciculalus* Miers; Bignoniaceae) in vitro sobre larvas de primeiro e terceiro estágios de strongilídeos intestinais de eqüino. Revista Brasileira de Farmácia, v. 72 p.53-54, 1991 a

AMORIM, A., BORBA, H.R., RODRIGUES, M.L.A. Ação anti-helmíntica de plantas XII Influência de extratos vegetais in vitro na viabilidade de larvas de nematódeos gastrintestinais de bovinos. Revista Brasileira de Farmácia, v.77 p. 47-8,1996

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL, fundação Instituto Brasileiro de Geografia e estatística, v.51, 1024p (1991).

ARAÚJO, J. V. Interação entre larvas infectantes de *Cooperia punctata* e fungos predadores do gênero *Arthrobotrys*, caracterização de isolados de *Arthrobotrys* e seu uso no controle biológico de nematódeos parasitos gastrintestinais de bovinos. Belo Horizonte: UFMG, 1996. 110p. Tese (Doutorado em Parasitologia).

AROSEMENA, N.A.E., BEVILAQUA, C.M.L., MELO, A. C. F. L. & GIRÃO, M. D. (1999). Seasonal variations of gastrointestinal nematodes in sheep and goats from semi-arid area in Brazil. *Rev. Med.Vet.* 150:11-14

ASSIS, L.M. Atividade anti-helmíntica in vitro de extratos de *Spigelia anthelmia* e *Momordica charantia* sobre o nematódeo de ovinos *Haemonchus contortus*. 2000. 44f. dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, UECE.

BALANDRIN, M.F., KLOCKE, J.A., WURTELE, E.S., BOLLINGER, W.H. Natural plant chemicals: sources of industrial and medical materials. *Science*, v.228, p. 1154-1160, 1985.

BATISTA, L.M., BEVILAQUA, C.M.L., MORAES, S.M. In vitro ovicidal and larvicidal effect of the plants *Spigelia anthelmia* and *Monocardia charantia* against the nematode *Haemonchus contortus*. *Ciência animal*, v.9, p.67-73, 1999.

BEGNINI, M.L. Potencial do uso, produção de extratos de plantas brasileiras e desenvolvimento de produtos para o controle de pragas e ectoparasitos em animais e seres humanos: plantas inseticidas. 2001 Uberaba.

CALIXTO, J.B. Plantas Medicinais sob a ótica da química moderna. 1. ed. Chapecó; Argos- Editora Universitária, 2001. 77p. Cap. 2; Estudo farmacológico pré-clínico de plantas medicinais.

CARVALHO, A.F.U.; MELO, V.M.M.; CRAVEIRO, A.A.; MACHADO, M.I.L.; BANTIM, M.B.; RABELO, E.F. Larvicidal activity of essential oils from *Lippia sidoides* Cham. against *Aedes aegypti* Linn. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 98, p.569-571, Junho 2003.

CAVALCANTI, E.S.B.; MORAIS, S.M.de.; LIMA, M.A.A.; SANTANA, E.W.P. Larvicidal activity of essential oils from brazilian plants against *Aedes aegypti* L. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 99, p.541-544, 2004.

CHARLES, T. P. (1989) Seasonal Prevalence of Gastrointestinal Nematodes of Goats in Pernambuco State, Brazil. Vet. Parasitol. 30:335-343.

COLES, G.C., BAUER, C., BORGSTEED, F.H.M.; GEERTS, S., KLEI, T.R., TAYLOR, M.A., WALLER, P.J. World association for the Advancement of veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. Veterinary Parasitology, V. 44, p.35-44, 1992

COSTA, C. A. F. Importância do manejo na epidemiologia dos nematódeos gastrintestinais de caprinos. In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 1., 1982, Recife. Anais... Recife: Sociedade Pernambucana de Medicina Veterinária, 1982b. p.249-265.

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

COSTA, C. A. F.; VIEIRA, L. da S.; BERNE, M. E. A. Influência das instalações de pernoite, do tipo de pastagem e da suplementação volumosa sobre o parasitismo por nematódeos em caprinos. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 26, p. 521-533, 1991.

COUTINHO, A. A. A evolução da Caprinovinocultura. O Berro, n. 98, p.146-148, Jan., 2007.

DI STASI, L. C. Plantas medicinais: arte e ciência. São Paulo: Editora Afiliada, 1996. 230p.

FARIAS, M.P.O. Avaliação "in vitro" da atividade ectoparasiticida e anti-helmíntica da andiroba (*Carapa guianenses* Aubli.) Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco – Departamento de Medicina Veterinária- 2007. 134f

FERNANDES, V. Guia básico de plantas medicinais. Rio de Janeiro: Instituto de Estudos da Amazônia, 1982. 80p.

FINCHER, G. T. Dung beetles as biological control agents for gastrointestinal parasites acquired by grazing cattle. The Journal of Parasitology, v. 59, n. 2, p.369-399, 1973.

FORTES, E. Parasitologia Veterinária. Porto Alegre: Sulina, 1997. p . 315-322

FURTADO. K.S.; NEGRELLE. R.B.; MIGUEL. O.G.; ZANILO. S.R., KAPRONEZAI. J.; RAMOS. J.S.; SOTELLO. A; Efeito de Carica paya L. e Musa paradisiaca Linn. Sobre o desenvolvimento de ovos de Nematódeos gastrintestinais de ovinos. – arq. Inst. Biol. , São Paulo, v.72, n.2p.191-197. 2005.

GIRÃO, V.C.C.; NUNES-PINHEIRO, D.C.S.; MORAIS, S.M.de; GIOSO, M.A. Efeitoprotetor do extrato etanólico de *Lippia sidoides* (Alecrim-pimenta) nas gengivites marginais de cães. Ciência Animal, v. 11, n.1, p. 13-17, 2001.

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

HALLEY, B. A.; WILLIAM, J. A.; VANDENHEUVEL; WISLOCKI, P. G. Environmental effects of the usage of avermectin in Livestock. Veterinary Parasitology, v. 48, p. 1/4, p.109-125, 1993.

HERD, R. (1996). Impactos ambientais associados aos compostos endectocidas. “Controle dos nematóides gastrintestinais em ruminantes” (T. Padilha, Ed.), pp.95-111. EMBRAPA – CNPGL, Coronel Pacheco, MG.

HOUNZANGBE-ADOTE, M.S.; PAOLINI, V.; FOURASTE, I.; MONTAIROU, K.; HOST, H. in vitro effects of four tropical plants on three life-cycle stages of the parasitic nematode, *Haemonchus contortus*. Research in Veterinary Science, London,v.78,p.155-160,2005.

JATALA, P. Biological control of plant-parasitic nematodes- Annual Review of Phytopathology, v. 24, p. 453-489, 1986.

JORNAL DO LEITE. A pesquisa e o Produtor. EMBRAPA Gado de Leite. 2003. Disponível em <http://www.cnpqgl.embrapa.br/jornaleite/>.>

JUNIOR, J. P. A.; AYALA-OSUNA, J. T.; QUEIROZ, S. R. O. D., et al. Levantamento etnobotânico e etnofarmacológico de plantas medicinais do município de Itaberaba-BA para cultivo e preservação. Sitientibus Série Ciências Biológicas 5 (1): 39-44. 2005.

KUMAR,D.; MSHRA, S.K.; TRIPATHI, H.C. Mechanism of anthelmintic action of benzylisothiocyanate. Fitoterapia, v.62, n.5,p.403-410,1991

LACOSTE, E.; CHAUMONT, J.P.; MANDIN, D.; PLUMEL, M.M.; MATOS, F.J.A. Antiseptic properties of essential oil of *Lippia sidoides* Cham.; application to the cutaneous microflora. Annales Pharmaceutiques Françaises, v.54, p.228-230, 1996.

LANS,C.; HARPER, T.;GEORGES, K.; BRIDGEWATER, E. Medicinal plants used for dogs in Trinidad and Tobago. Preventive Veterinary Medicine, v.45, n.3/4, p.201-220, 2000.

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

LEMOS, T.L.G.; MATOS, F.J.A.; ALENCAR, J.W.; CRAVEIRO, A.A.; CLARK, A.M.; McCHESNEY, J.D. Antimicrobial activity of essential oils of Brazilian plants. *Phytotherapy Research*, v.4, n.2, p.82-84, 1990.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. *Plantas medicinais no Brasil; nativas e exóticas*. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

MACAMBIRA, L.M.A.; ANDRADE, C.H.S.; MATOS, F.J.A.; CRAVEIRO, A.A. Naphtoquinoids from *Lippia sidoides*. *Journal of Natural Products*, v.49, p. 310-312, 1986.

MACIEL.M.V.; Atividade ovicida e larvicida de extratos de *Melia azerach* L. sobre *Haemonchus contortus*-Tese de mestrado UFRRJ 2004

MARTIN, R.J. Modes of actino of anthelmintic drugs. *The Veterinry Journal*, v. 154, p.11-34,1997.

MATOS, F.J.A. de. *Farmácias vivas: Sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades*. 4. ed. ver. ampliada., Fortaleza: Editora UFC. 2002. 267p.

MATOS, F.J.A.; MACHADO, M.I.L.; CRAVEIRO, A.A.; ALENCAR, J.W.; SILVA, M.G. Medicinal plants of Northeast Brazil containing thymol and carvacrol – *Lippia sidoides* Cham. and *L. gracilllis* H.B.K. (Verbenaceae). *Journal of Essencial Oil Research*, v.11, n.6, p.666-668, 1999.

MATOS, F.J.A.; OLIVEIRA,F.; . *Revista Brasileira Farmácia* v.79,p.84-87.1998.

MELO, L. M.; BEVILÁQUA, C. M. L.; ARAÚJO, J. V.; MELO, A. C. F. L. Atividade predatória do fungo *Monacrosporium thaumasium* contra o nematóide *Haemonchus contortus*, após passagem pelo trato gastrintestinal de caprinos. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 33, n. 2, p. 189-171, 2003.

MENDONÇA, C.da S. Efeito do ácido indol butírico no enraizamento de estacas de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.). Fortaleza: UFC, 1997. 43p (Dissertação- Mestrado em Fitotecnia).

MOLAN, A.L.; WAGHORN, G.C.; McNAAB, W.C.E. Effect of condensed tannis on egg hatching and larval development of *Trichostrongylus columbriformis* in vitro. *The Veterinary Record*, London, v. 19, n. 150, jan, 2002.

MORGAN-JONES, G.; RODRIGUES-KABANA, R. Fungal biocontrol for the management of nematodes. In: VEECH, J.A.; DICKSON, D.W. (Ed). *Vistas on nematology: a commemoration of the twenty-fifth anniversary of the Society of Nematologists*. Hyattsville: Society of Nematologists, 1987. 509p. p. 94-99

NARI, A.; EDDI, C. Control integrado de lãs parasitosis. In: Reunion de especialistas em parasitologia veterinária em Argentina, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay; Encutro de veterinários endoparasitologico Rio Platenses, 11., 2002, Tandil, Argentina.

NUNES, R.S. Desenvolvimento galênico de produtos, de uso odontológico (creme dental e enxaguatório bucal) a base de *Lippia sidoides* Cham Verbenaceae alecrim pimenta. Olinda: UFPE, 1999. 300p. (Dissertação - Mestrado em Ciências Farmacêuticas).

PADILHA, T.; MARTINEZ, M. L.; GASBARRE, L.; VIEIRA, L. da S. Genética: a nova arma no controle de doenças. Balde Branco, v. 36, n. 229, p. 58, jul. 2000

PAULA, G.A.. Modelos de Regressão com apoio computacional. Instituto de Matemática e Estatística – Universidade de São Paulo, 2003

PEREIRA, J.R., FAMADAS, K.M., Avaliação “in vitro” da Eficiência do extrato da raiz do timbó (*Dahlstedtia pentaphylla*) sobre *Boophilus microplus*. Arq. Inst. Biol. São Paulo; v.71, n.4, p. 443-450, 2004.

PESSOA, L.M. Atividade ovicida in vitro de plantas medicinais contra *haemonchus contortus*. 2001 68f.

PINHEIRO, R. R., GOUVEIA, A. M. G., ALVES, F.S.F. & HADDAD, J.P.A. (2000). Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. Arq. Brás. Méd Vet. Zootec. 52:534-543

PINTO, A.C.; SILVA, D.H.S.; LOPES, N. E. et al. Produtos Naturais; atualidade, desafio e perspectivas. Quiim. Nova, v. 25, supl. 1, p. 45- 61, 2002.

PRASLICKA, J. Some aspects of the spread of anthelmintic resistance. Helminthologia, v.32 n.1/2, p.75-77, 1995.

RADÜNZ, L.I.; MELO, E.C.; BERBERT, P.A.; GRANDI, AM.de; ROCHA, R.P. Secagem em camada delgada de folhas *Lippia sidoides* Cham. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola-Conbea, 30., 2001(a), Foz do Iguaçu. Anais eletrônicos... Foz do Iguaçu: Mabu Hotel & Resort, 2001.

RENECK, R. K. Veterinary helminthology. Dulham: Butterworths buplisher Ltda.  
1983

REVILLA, J.D. Cultivando a saúde em hortas caseiras e medicinais. Manaus:  
Ed. Sebrae, 2004.

SANTA ROSA, J.; BERNE, M. E. A.; JOHNSON, E. H.; OLANDER, H. J.  
Doenças de caprinos diagnosticadas em Sobral, CE. In: REUNIAO TECNICO  
CIENTIFICA DO PROGRAMA DE APOIO A PESQUISA COLABORATIVA DE  
PEQUENOS RUMINANTES, 1., 1986, Sobral, CE. Anais... Sobral: Embrapa-  
CNPIC: SR-CRSP, 1986. p.235-241 (Embrapa-CNPIC. Documentos, 6).

SILVA, W.J.,SILVA, W.C. BORGES, L.M.F. Avaliação de duas formulações  
comerciais de Azadirachta indica, sobre fêmeas de Boophilus microplus (acari:  
Ixodidae). anais In :XII CONGRESSO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA ,  
12., 2002, Rio de Janeiro.

SILVA, R. R. O agronegócio brasileiro da carne caprina e ovina; Salvador.  
2002. 111p.

SIMÕES, C. M.O; SCKENKEL, E. P; GOSMANN, G; MELO, J. C. P. de;  
MENTZ, L. A; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento.  
Florianópolis: Editora da UFSC, 1999. 821p.

TERBLANCHÉ, F.C.; KORNELIUS, G. Essencial oil constituents of the genus  
*Lippia* (Verbenaceae) - A literature review. Journal of Essencial Oil Research, n.  
8, 471- 485,1996.

TREVISAN, M.T.S. & MACEDO, F.V.V. Seleção de plantas com atividade anticolinesterase para tratamento da doença de Alzheimer. Química Nova, v. 26, n. 3, p. 301-304, 2003.

VAN WYK, J. A.; MALAN, F. S., BATH, G. F. Rapant, anthelmintic resistance in sheep in South África What are teh opinions? In: AN WYK & VAN SCHALKWYK (Eds.). Managing anthelmintic resistance in endoparasites. [S.l.: s.n.], 1997. p.51-63. (Workshop held at the International Conference of The World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, 16, Sun City, 1997.

VASCONCELOS, A.L.C.F. Estudo farmacológico e toxicológico do extrato acetato de etila de *Spigelia anthelmia* Linn em animais de laboratório. 2002 93f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinária)- Faculdade de Medicina Veterinária, UECE.

VATTA, A. F.; LETTY, B. A.; VAN DER LINDER, M. J. Testing for clinical anaemia caused by *Haemonchus* spp. In goats farmed under resource: poor conditions in South Africa using na eye colour chart developed for sheep. Veterinary Parasitology, v. 99, p.14, 2001.

VIEIRA, L.S.; CAVALCANTE, A.C.R.; PEREIRA, M.F.; DANTAS, L.B. XIMENES, L.J.F. Evaluation of anthelmintic efficacy of plantas available in Ceará state, North East Brazil, for the control of goat gastrointestinal nematodes. Revue Medicine Veterinary, v.150, n.5p.447-452, 1999.

VIEIRA, L. da S.; CAVALCANTE, A. C. R. Resistência anti-helmíntica em rebanhos caprinos no Estado do Ceará. Pesquisa Veterinária Brasileira, Brasília, v. 19, n. 3/4, p. 99-103, 1999.

VIEIRA, L. da S.; CAVALCANTE, A. C. R. Avaliação de fungos nematófagos no biocontrole de nematódeos gastrintestinais de caprinos. Sobral: Embrapa Caprinos, 2003. 11 p. ( Embrapa. Programa 06. Produção Animal. Subprojeto 06.2003.115.03. Subprojeto concluído).

WALLER, P.J.; DASH, K.M.; BARGER, L.A.; LEJAMBRE, L.F.; PLANT, J. (1995). Anthelmintic resistance in nematodes parasites of sheep: learning from the Australian experience. Vet. Rec. 136:411-413

WALLER, P.J.; ECHEVARRIA, F.; EDDI, C.; MACIEL, S.; NARI, A.; HANSEN, J.W. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: General Overview. Veterinary Parasitology, v.62, p.181-187.1996

## **CAPITULO II**

### **EXPERIMENTOS**

# 1. Avaliação Ovicida do EHA de *Lippia sidoides Cham* sobre o desenvolvimento de ovos de nematódeos gastrintestinais (família *Trichostrongylidae*) de Caprinos

SOUZA, W. M. A<sup>1</sup>; RAMOS, R.A. N<sup>2</sup>,LIRA, N.M.S<sup>2</sup>; ALVES,L.C<sup>3</sup>; COELHO,M. C. O. C.<sup>3</sup>

1.Programa de pós-graduação em Ciência Veterinária ( Doutorado) – UFRPE. Trav Rui Barbosa,279 Vila Rica – Jaboatão dos Guararapes CEP: 54100-500 – [isabelwagner@uol.com.br](mailto:isabelwagner@uol.com.br)

2. Aluno da Graduação em Ciência Veterinária –

3. Prof. Adjunto do Departamento de Medicina Veterinária - UFRPE Av. D. Manoel Medeiros s/n Dois Irmãos – CEP 52171-900

## 1. 1 RESUMO

As plantas medicinais têm encontrado cada vez mais espaço no tratamento de parasitoses gastrintestinais dos pequenos ruminantes. Novos estudos têm apontado várias plantas com futuro promissor nesta área. Em função do exposto, avaliou-se in vitro a atividade ovicida do EHA de *Lippia sidoides Cham* sobre o desenvolvimento de ovos de nematóides gastrintestinais de caprinos. A atividade ovicida foi realizada através de análise probabilística de evolução do ovo nas fases embrionárias, foi utilizado 50µL de solução saturada de açúcar contendo aproximadamente 40 ovos emersos no extrato em 12 concentrações diferentes, sendo avaliadas no período de tempo de 1, 3, 6, 12, 24, 48 e 72 horas, um grupo com água destilada (negativo) e outro feabendazole a 33mg/ml (positivo), todos em triplicata. Os resultados demonstraram que a concentração de 500mg/ml apresentou uma probabilidade de 2% de ocorrer evolução do ovo de nematóides gastrintestinais de caprinos. Este resultado foi superior a todos os outros grupos testado e superior ao grupo controle positivo. Podemos considerar desta forma que a baixa probabilidade de evolução dos ovos até a sua fase final deve-se a adição do extrato de *Lippia sidoides cham* sobre os mesmos, revelando atividade ovicida..

**PALAVRAS-CHAVE:** Ovicida, planta medicinal, fitoterápico, terapêutica .

# 1. Evaluation Ovicidal of the EHA of *Lippia sidoides* Cham on the development of eggs of gastrointestinal nematodes (family Trichostrongylidae) of goats

## 1.2 ABSTRACT

The medicinal plants have been finding space more and more in the treatment of ruminant parasitoses gastrintestinais of the small ones. New studies have been aiming several plants with promising future in this area. In function of the exposed, it was valued in vitro the ovicidal activity of the EHA of *Lippia sidoides* Cham was evaluated on the development of eggs of goat gastrointestinal nematodes. The activity ovicidal was accomplished through analysis probabilistic of evolution of the egg in the embryonic phases, it was used 50 µL of saturated solution of sugar which contain 40 buoyant eggs approximately in the extract in 12 different concentrations, being appraised in the period of time of 1, 3, 6, 12, 24, 48 and 72 hours, a group with distilled water (negative) and outo febendazole for 33mg/ml (positive), all three times in a row. The results demonstrated that the concentration of 500mg/ml presented a probability of 2% of happening evolution of the egg of goat gastrointestinal nematodes. This result went superior to all the tested other groups and superior to the group it controls positive. We can consider this way that the low probability of evolution of the eggs to its final phase is due the addition of the extract of *Lippia sidoides* Cham on the same ones, revealing activity ovicida..

**KEY WORDS:** Ovicidal, medicinal plants, fitoterapic, therapeutics.

## 1.2 INTRODUÇÃO

Atualmente a fitoterapia pode contribuir para melhoria de vida do homem do campo, fornecendo-lhe uma fonte alternativa no tratamento das enfermidades, contribuindo para aumentar os lucros da criação reduzindo o uso dos sistemas convencionais disponíveis. Além disso, a sociedade atual experimenta uma grande reforma na correção de vida. Valores naturais e ecológicos ganham grande força na determinação de novos preceitos em todas as áreas do conhecimento e da vida prática. Produtos originários de plantas medicinais ocupam espaços cada vez maiores como alternativa de tratamento na medicina veterinária (VIEIRA et al.1999).

Viertler (1999) destaca que no atual cenário mundial, é fundamental garantir a sobrevivência dos recursos necessários à vida no planeta, através da criação de manejos inteligentes, planejamentos racionais ou modalidades de “desenvolvimentos sustentados” que viabilizem a continuidade de um número de diversidade das formas de vida no planeta, ressaltando que a idéia de “desenvolvimento sustentável” não é tão somente um conceito de natureza científica, mas antes uma condição desejada de equilíbrios biossociais.

Na região Nordeste do Brasil, o uso das plantas medicinais possui uma forte relação com a questão socioeconômica, visto que é uma área onde o sertanejo geralmente não tem serviços de saúde adequados e sobrevive à custa de fitoterápicos para suprir suas necessidades. Contudo, as plantas medicinais apresentam-se como uma solução de fácil acesso e baixo custo

quando comparados com aqueles medicamentos comercializados pelo setor formal (Brasil, 1998)

Os extratos vegetais das plantas medicinais podem ser extraídos de diversas formas e com variados tipos de solventes (hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e água). Podendo desta forma, variar as estratégias capazes de determinar a atividade de produtos de origem natural. Para obtenção dos princípios ativos isoladamente deve-se fracionar os extratos vegetais através de métodos cromatográficos e as frações obtidas retestadas até a total obtenção do princípio. Então, de acordo com os hábitos do parasita devemos escolher o ensaio a se realizar (BEGNINE, 2001).

*Lippia sidoides Cham* é uma planta bastante usada na fitoterapia nordestina destacando-se pelos altos teores de timol e carvacrol, onde o timol é um anti-séptico do grupo do fenol que possui forte atividade contra fungos e bactérias. Sua utilização se dá através das folhas e flores, sendo realizados extratos vegetais na maioria das vezes. A *Lippia sidoides* ou alecrim pimenta como é conhecida popularmente, pertence à família Verbanaceae (MATOS & OLIVIERA, 1998).

O consumo de carnes nos países do primeiro mundo é algo entorno de 20 a 28 kg/pessoa/ano, enquanto que no Brasil segundo as estatísticas oficiais é de 700g habitante/ano, o que favorece a expansão da caprinovinocultura como fonte alternativa alimentar e geradora de renda (SILVA SOBRINHO, 1997).

Amarante (2004) relata que praticamente 100% dos ruminantes domésticos são portadores de pelo menos uma espécie de endoparasito. Segundo Fortes (1997) os chamados Trichostrongilídeos, pertencentes à família Trichostrongylidae são os mais comuns encontrados parasitando dos pequenos ruminantes, a esta família ganham destaque os gêneros *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Nematodirus* e *Cooperia*.

Nos países em desenvolvimento os parasitos gastrintestinais representam um dos fatores mais importantes na diminuição da produtividade dos rebanhos (WALLER et al, 1996).

Para se combater as parasitoses gastrintestinais usam-se um tratamento essencialmente químico, onde as drogas utilizadas deixam resíduos nos animais e no meio ambiente, além de elevarem a índices irrecuperáveis o custo de produção. Tentando minimizar esse efeito contrário diversos pesquisadores ressaltam a necessidade de difusão de métodos alternativos de controle da verminose, contemplando desde a utilização de vermífugos naturais a orientação sobre práticas de manejo que favorecerão a este controle (COSTA & VIEIRA, 1984).

Pessoa (2001) encontrou nos óleos essenciais de *Chenopodium ambrosioides*, *Ocimum gratissimum*, *Lippia sidoides* e *Cróton zehntneri*, ação sobre *H. contortus*.

Farias (2007) avaliando *in vitro* a atividade ectoparsitocida e anti-helmintica da *Carapa guianensis* Aubl (andiroba), pode observar 100% de resultado positivo nas diversas concentrações testadas em *Boophilus*

*microplus*, *Rhipicephalus sanguineos* e *Anocentor nitens*. Contra a L3 da *Musca domestica* obteve-se o resultado de 20,0% de mortalidade larval na concentração de 100% e 62,5% de inibição de emergência de adultos. Nos testes de redução do LPG de nematóides gastrintestinais, os resultados revelaram redução alternativa efetiva (>90%) no número de larvas totais para os tratamentos 100%, 50% e 30% em caprinos e em todos os tratamentos para a espécie ovina.

A possibilidade de se desenvolver novas alternativas de controle parasitário, sem resíduos químicos e viáveis ao pequeno criador, fez-se selecionar uma planta com provável potencial terapêutico para as parasitoses gastrintestinais de caprinos. Este trabalho objetivou avaliar a ação ovicida do EHA de *Lippia sidoides* Cham sobre a evolução de ovos de nematódeos gastrintestinais (família Trichostrongylidae) de Caprinos.

## **1.3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **1.3.1 Obtenção do extrato ( EHA)**

O extrato vegetal de *Lippia sidoides Cham* foi preparado no laboratório de produtos bioativos de departamento de Fisiologia e Farmacologia, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Pernambuco. Foram utilizadas folhas secas de *L. sidoides Cham* oriundas da região do Semi-árido pernambucano. As folhas foram trituradas e secas em estufa durante 1h a 50°C. Em seguida colocadas em Becker e extraídas em etanol/H<sub>2</sub>O 70°GL (1:1), o conjunto foi agitado, tampado e incubado em banho-maria a 70°C por 1h e 30 min. Após este período foi realizada a filtração em funil com algodão. O extrato obtido foi concentrado em rota evaporador (com pressão reduzida à temperatura de 50°C 90rpm), A *L. sidoides Cham* foi identificada e tombada no Herbário IPA sob nº 82505 pela botânica Olívia Cano, funcionária da mesma instituição.

### **1.3.2 Determinação da atividade ovicida**

Para a obtenção dos ovos de helmintos foi utilizada uma versão modificada do teste de eclodibilidade para determinação de resistência anti-helmintica, proposto pela World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V. P.) ( Colps et al., 1992). Para tanto foram utilizados 20 animais da espécie caprina criados em sistema semi-intensivo no município de Jaboatão dos Guararapes – PE, Brasil. Foram coletadas cerca de 10g de fezes diretamente da ampola retal, sendo acondicionadas em sacos plásticos e

encaminhadas sob temperatura refrigerada ao laboratório de parasitologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

As fezes (gr) foram trituradas em gral contendo solução de açúcar hipersaturada e filtrada em tamiz de malhas de 250nm e 180nm. O material obtido passou por um OPG para padronização do número de ovos a serem utilizados. Foram selecionados três animais com OPG superior a 3000 ovos. Obtendo-se uma pasta (10g) de fezes concentrada com número superior a 3000 ovos de nematóides, sendo adicionado solução saturada de açúcar em volume de 60ml, novamente filtrada e retirada amostras de 50µL da solução para contagem e padronização da quantidade de ovos presentes na solução, realizando-se em quintuplicata . Após a determinação média da concentração dos ovos em 50µL da solução foi retirado novamente igual volume acondicionado em placas de Elisa para a realização dos testes seguindo a técnica DrenchRite test.

O efeito in vitro do extrato vegetal sobre o desenvolvimento dos ovos e larvas foi analisado utilizando-se o teste de eclodibilidade para determinação de eficácia anti-helmíntica; proposto por Batista et al. (1999), assim como também a evolução dos mesmo. Placas de Elisa, em triplicata, contendo 50µL da suspensão de ovos em diferentes concentrações do EHA ou (T) tratamentos (T<sub>1</sub> controle água destilada, T<sub>2</sub> 1,0mg/mL, T<sub>3</sub> 2,0mg/mL, T<sub>4</sub> 5,0mg/mL, T<sub>5</sub> 10mg/mL, T<sub>6</sub> 20mg/mL, T<sub>7</sub> 50mg/mL, T<sub>8</sub> 100mg/mL, T<sub>9</sub> 150mg/mL, T<sub>10</sub> 250mg/mL e T<sub>11</sub> 500mg/mL do extrato vegetal e T<sub>12</sub> febendazole 33mg/mL). Em seguida em placas incubadas em temperatura ambiente de 26°C sendo

avaliado o desenvolvimento da atividade anti-helmíntica nos tempos de 1h, 3h, 6h, 12h, 24h, 48h e 72h, após cada período o material foi colocado em laminas e analisado em microscopia ótica de 100x, para classificar todos os ovos presentes na amostra, de acordo o estágio evolutivo de desenvolvimento em que se encontravam (blástula, mórula e ovo larvado) observando-se principalmente a eclosão de ovos e presença de larva livres nas amostras.

Com o intuito de alcançar os objetivos do estudo foi padronizado um índice para as categorias dos tratamentos da seguinte forma:

A tipificação da atividade ovicida foi realizada após padronização de um índice determinado para as diferentes categorias dos tratamentos de acordo com a seguinte fórmula:

- Calculou-se o modelo logístico dado

$$\log \left\{ \frac{\pi(x)}{1-\pi(x)} \right\} = \beta_1 + \sum_{i=1}^{12} \alpha_i P_i + \sum_{j=1}^7 \gamma_j H_j + \sum_{i=1}^{12} \sum_{j=1}^7 \delta_{ij} (P.H)_{ij}$$

Onde;  $\pi(x)$  é a probabilidade de sucesso. P é a variável com relação ao protocolo utilizado; H é a variável com relação à hora de observação; (P.H) é a variável com relação a iteração entre protocolo utilizado e hora de observação;  $\beta_1$  é o intercepto do modelo;

$\alpha_i$  para  $i = 1, \dots, 12$  são parâmetros referentes aos tratamentos;  $\gamma_j$  para  $j = 1, \dots, 7$  são parâmetros referentes as horas de observação;  $\delta_{ij}$  para  $i = 1, \dots, 12$  e  $j = 1, \dots, 7$  são parâmetros referente a iteração de P e H.

Foram feitas duas repetições do experimento constituindo assim um total de 252 unidades experimentais.

Os dados foram tabulados na planilha eletrônica Microsoft Excel no qual também foram feitas as figuras e gráficos necessários. Para análise estatística foram utilizados os softwares R versão 2.2.1 e EPI6. Todas as decisões foram tiradas ao nível de significância de 5%.

## 1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os seguintes resultados foram obtidos a partir do modelo proposto para as estimativas dos parâmetros analisados (anexo 1).

Observou-se que somente a partir da 12<sup>ª</sup> hora de análise começaram a aparecer sucessos (evolução do ovo das larvas) em todos os tratamentos utilizados, indicando que diferenças significativas começam a ocorrer após 12 horas de utilização do produto. A não observação de alterações nas primeiras horas do experimento se deve principalmente a própria evolução fisiológica do parasito, que segundo Furtado (2006) só ocorre após algumas horas de presença no meio ambiente.

Sendo assim, foi feito um novo modelo utilizando apenas as observações feitas após a quarta hora (12<sup>ª</sup> hora) da variável. Ou seja, o modelo passa a ser dado por:

$$\log \left\{ \frac{\pi(x)}{1-\pi(x)} \right\} = \beta_1 + \sum_{i=1}^{12} \alpha_i P_i + \sum_{j=4}^7 \gamma_j H_j + \sum_{i=1}^{12} \sum_{j=4}^7 \delta_{ij} (P.H)_{ij}$$

Onde: P é a variável com relação ao protocolo utilizado; B é a variável com relação a hora de observação; (P.H) é a variável com relação a iteração entre protocolo utilizado e hora de observação;  $\beta_1$  é o intercepto do modelo;  $\alpha_i$  para  $i = 1, \dots, 12$  são parâmetros referentes aos tratamentos;  $\gamma_j$  para  $j = 4, \dots, 7$  são parâmetros referentes as horas de observação;  $\delta_{ij}$  para  $i = 1, \dots, 12$  e  $j = 4, \dots, 7$  são parâmetros referente a iteração de P e H.

Após retirar as observações feitas antes das 12 horas obtivemos um total de 144 unidades observacionais das quais apenas 19 (aproximadamente 13%) apresentaram valores iguais à zero. No (anexo 2) temos a estimativa do novo modelo através da qual observamos que os níveis do ( $\gamma_{24}$ ,  $\gamma_{48}$  e  $\gamma_{72}$ ) não são significativos na análise de dados conjuntamente com mais da metade das iterações (tratamento x hora), ao análise a esta interação não evidenciado diferenças significativas após 48 e 72h depois da aplicação do EHA de *L. sidoides* sobre os ovos. Demonstrando que se bastava apenas à exposição de 24h ao extrato para que obtivéssemos resultados positivo.

A tabela 1 indica os resultados para as estimativas dos parâmetros do modelo final. Observa-se que todos os níveis do tratamento são significativos exceto os parâmetros  $\beta_1$  e  $\alpha_{12}$ , esses se apresentavam como grupo controle negativo e controle positivo respectivamente, conseqüentemente não sendo significativo.

TABELA 1 - Estimativa do modelo Logístico usado na probabilidade evolução larval a partir da 12h.

<b>Tratamento</b>	<b>Estimativa</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>Valor de Z</b>	<b>p-valor</b>
$\beta_1$	-0,07	0,10	-0,77	0,439
$\alpha_2$	-1,64	0,18	-9,11	<0,001 <sup>1</sup>
$\alpha_3$	-1,66	0,18	-9,24	<0,001 <sup>1</sup>
$\alpha_4$	-1,59	0,18	-8,88	<0,001 <sup>1</sup>
$\alpha_5$	-1,92	0,20	-9,40	<0,001 <sup>1</sup>
$\alpha_6$	-2,16	0,22	-10,02	<0,001 <sup>1</sup>
$\alpha_7$	-2,07	0,22	-9,61	<0,001 <sup>1</sup>
$\alpha_8$	-2,76	0,27	-10,04	<0,001 <sup>1</sup>
$\alpha_9$	-2,64	0,27	-9,85	<0,001 <sup>1</sup>
$\alpha_{10}$	-2,74	0,27	-10,25	<0,001 <sup>1</sup>
$\alpha_{11}$	-3,80	0,42	-8,97	<0,001 <sup>1</sup>
$\alpha_{12}$	-0,13	0,14	-0,98	0,327

<sup>1</sup>P. se p-valor<0,05

A (tabela 2) demonstra a probabilidade de ocorrer o sucesso (desenvolvimento dos ovos de larvas) em cada tratamento utilizado.

TABELA 2. Probabilidade de ocorrer sucesso e razão de chance entre os níveis dos fatores com a referência.

<b>Tratamento</b>	<b>Estimativa</b>	<b>Probabilidade de evolução larval</b>	<b>Interpretação</b>
$\beta_1$	-0,07	0.4825071 ou 48%	-
$\alpha_2$	-1,64	0.1624651 ou 16%	-0.8060200
$\alpha_3$	-1,66	0.1597620 ou 16%	-0.8098610
$\alpha_4$	-1,59	0.1693839 ou 17%	-0.7960744
$\alpha_5$	-1,92	0.1278616 ou 13%	-0.8533930
$\alpha_6$	-2,16	0.1034005 ou 10%	-0.8846749
$\alpha_7$	-2,07	0.1120470 ou 11%	-0.8738142
$\alpha_8$	-2,76	0.0595244 ou 6%	-0.9367082
$\alpha_9$	-2,64	0.0666080 ou 7%	-0.9286387
$\alpha_{10}$	-2,74	0.0606539 ou 6%	-0.9354297
$\alpha_{11}$	-3,80	0.0218813 ou 2%	-0.9776292
$\alpha_{12}$	-0,13	0.4675457 ou 47%	-0.1219046

No grupo controle água T<sub>1</sub>: A probabilidade de ocorrer evolução de um ovo quando tratado com esta solução é de aproximadamente 0,48 ou 48% ocorrendo neste percentual evolução total da larva (figura 1). Os tratamentos T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> apresentaram-se com probabilidades praticamente equivalentes e sem diferenças significativas entre si, mas quando comparados ao grupo T<sub>1</sub>, seus resultados de ocorrer evolução do ovo foram 16%, 16% e 17% respectivamente. Além disso, eles possuem cerca de 80% vezes chance a menos de evolução que o controle T<sub>1</sub>.

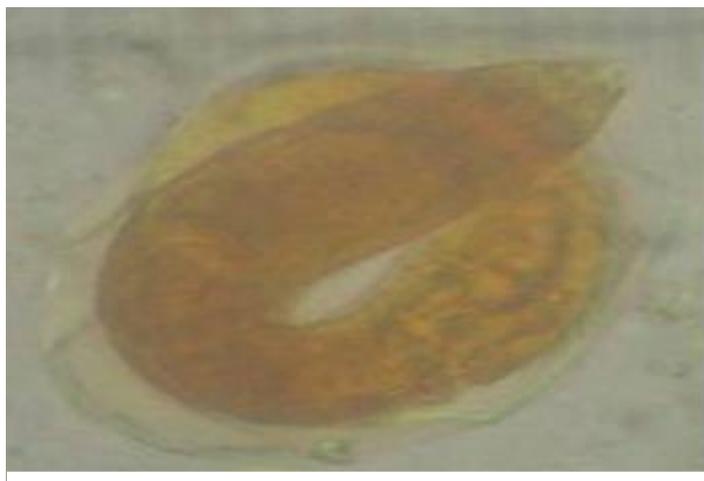


FIGURA 1 - Ovo larvado controle água após 48h.  
Aumento de 100X.

No grupo de tratamento T<sub>5</sub> a probabilidade de ocorrer evolução de um ovo quando tratado em 10mg é de aproximadamente 0,13 ou 13%. Além disso, esse grupo possui cerca de 85% vezes chance a menos de evolução que o tratamento água. Quando comparado ao controle positivo Febendazole (T<sub>12</sub>) os resultados encontrados são bem superiores, uma vez que, o T<sub>12</sub> apresentou 0,46 ou 46% de probabilidade de evolução e apenas 12% vezes de chances a menos que o T<sub>1</sub>.

Os tratamentos T<sub>6</sub> e T<sub>7</sub> também se apresentaram com probabilidades praticamente equivalentes e sem diferenças significativas entre si, mas quando comparados ao grupo T<sub>1</sub>, seus resultados foram 10% e 11% respectivamente. Além disso, eles possuem cerca de 88% e 87% vezes chance a menos de evolução que o controle T<sub>1</sub> demonstrando também a sua superioridade em relação ao T<sub>12</sub>

Foi observado uma equivalência de probabilidade sem diferenças significativas entre os grupos T<sub>8</sub>, T<sub>9</sub> e T<sub>10</sub> com resultados na ordem de 0,06 ou

6% de chance de evolução do ovo tratado e cerca de 94% vezes chance a menos de evolução que o tratamento T<sub>1</sub>. O grupo Tratamento T<sub>11</sub> apresentou uma probabilidade de ocorrer evolução de um ovo quando tratado em 500mg de aproximadamente 0,02. Além disso, esse tratamento possui cerca de 98% vezes chance a menos de evolução que o tratamento água. Com esse resultado, o T<sub>11</sub> foi o que se mostrou com melhor desempenho probabilístico, não permitindo o total desenvolvimento larval (figura 2) superando todos os grupos testados e em muito, superior ao controle positivo T<sub>12</sub>.

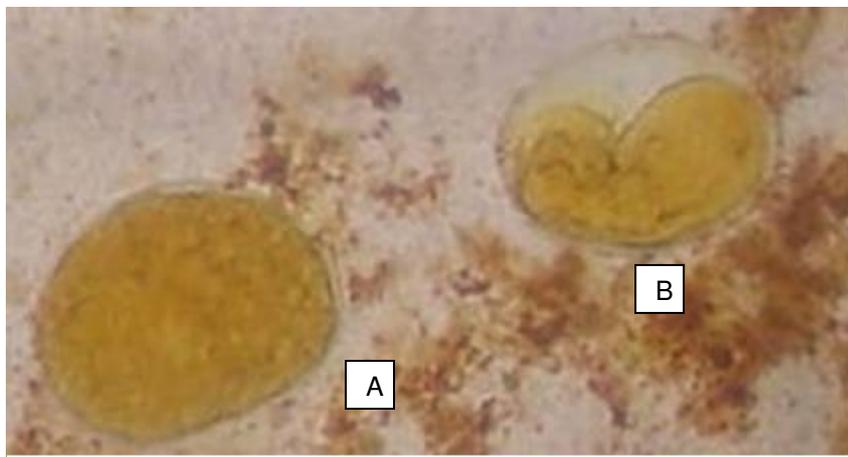


FIGURA 2 - A - Ovo morulado sem organização celular. B – Ovo larvado mal desenvolvido. Ambos após exposição ao EHA na concentração de 500mg/mL após 48h.

No grupo controle positivo T<sub>12</sub> a probabilidade de ocorrer evolução de um ovo quando tratado em febendazole é de aproximadamente 0,47. Além disso, possui cerca de 12% vezes chance a menos de evolução que o tratamento água permitindo em alguns casos a evolução embrionária (figura 3).



FIGURA 3 - Ovo larvado com total desenvolvimento embrionário após 48h de observação no grupo controle febendazole 33mg/mL. Aumento de 100X

As análises dos testes nos tempos referidos não apresentaram diferenças significativas, nos revelando que a variação probabilística se dava apenas nas mudanças das concentrações usadas no experimento (figura 4).

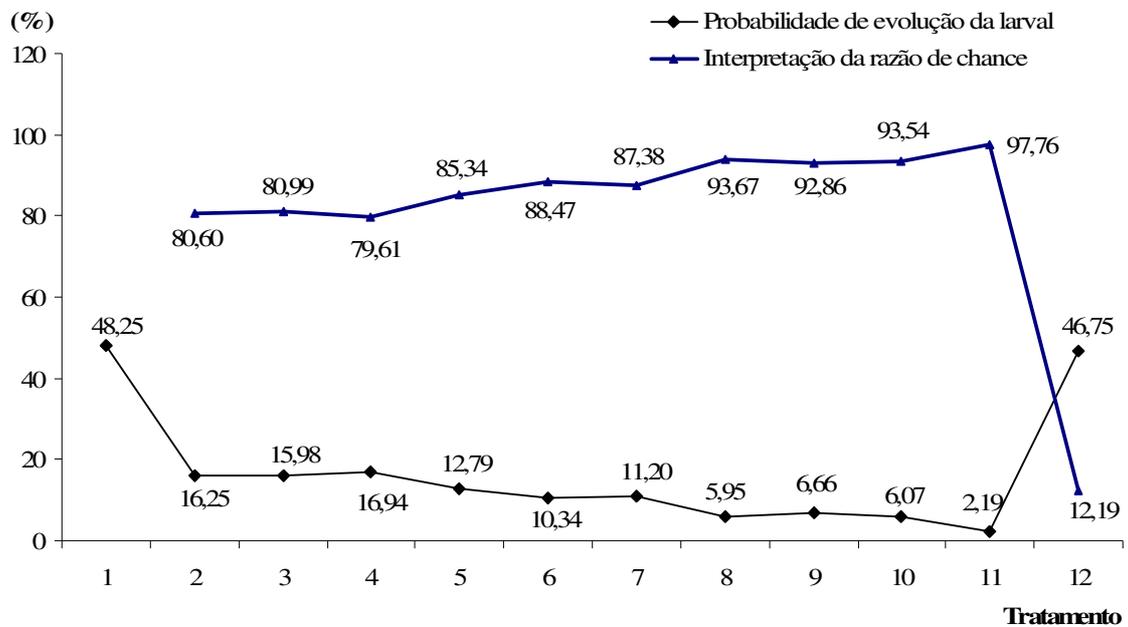


FIGURA 4 - Probabilidade de evolução larval após tratamento com EHA de *L. sidoides* nas diferentes concentrações.

Durante o período de desenvolvimento da metodologia a ser aplicada não havia valores de referencia para a utilização do EHA de *Lippia sidoides Cham*, então foi realizado um primeiro teste com solução concentrada de ovos de nematóides gastrintestinais de caprinos com aproximadamente 40 ovos em 50 µL e sendo aplicado a concentração 1g/mL e ao final de 24h, 48h e 72h, foi feito a contagem dos ovos, onde não foi encontrada nenhuma fase dos parasitos, ou seja, ausência total de ovos e larvas na solução. Podemos considerar com este fato, e com a evolução dos resultados probabilísticos, que efeito do extrato seco de *Lippia sidoides Cham* é dependente da dose.

Após as 72h de análise dos ovos de nematóides gastrintestinais de caprinos não foi observado nos grupos testados com o EHA de *Lippia sidoides Cham* e em suas diversas concentrações nenhuma eclosão de ovos e conseqüentemente presença de Larvas L<sub>1</sub> livres na solução. O mesmo não ocorreu com o grupo controle água, que ao final do mesmo período além de um grande número de ovos larvados apresentou 29 larvas livres no meio aquoso. O grupo controle positivo com febendazole apresentou-se também sem verificação de eclosão, mas com um número maior de ovos desenvolvidos quando comparados os outros grupos testados. Os dados observados neste estudo discordam com Furtado (2006) ao relatar que estes ovos ao chegarem ao meio externo conjuntamente com as fezes, e em temperatura favorável evoluem para um ovo larvado em primeiro estagio (L1) e após algumas horas os ovos eclodem e liberam as larvas rabditóides. O que não ocorreu neste experimento durante os períodos testados, provavelmente a adição do extrato

da *L. sidoides* . Podemos considerar desta forma que a inibição da evolução dos ovos até a sua fase final deve-se provavelmente a adição do extrato de *Lippia sidoides Cham* sobre os mesmos, desenvolvendo uma ação ovicida.

Os resultados encontrados revelam um potencial ovicida in vitro desenvolvido pelo EHA de *Lippia sidoides Cham* sobre nematóide gastrintestinal de caprinos, corroborando com os dados de Bevillaqua et al (2005) que avaliaram a atividade ovicida do óleo essencial de *Lippia sidoides* sobre os mesmos parasitos, encontrando 100% de nas contrações de 2%, 1% e 0,5%. Essa atividade também foi confirmada por Pessoa (2001) que encontrou nos óleos essenciais de *Chenopodium ambrosioides*, *Ocimum gratissimum*, *L. sidoides* e *Cróton zehntneri*, ação sobre *H. contortus*.

Em relação ao tempo de observação, em todos os trabalhos pesquisados os autores usaram apenas 48 horas exceto por Furtado (2006), interrompendo-se a evolução, no momento da leitura, com a adição de lugol a 1%. Neste experimento, optou-se por realizar as observações em diferentes tomadas de tempo que variavam de uma até 72 horas. Com isto se buscou observar se o extrato embora demonstrasse ser probabilisticamente efetivo em 24 horas, permitisse uma evolução nas 48 horas restantes, ou seja, não inibindo a evolução e sim retardando o desenvolvimento dos ovos. Também possibilitou observar o contrário, identificando a concentração que permitissem um desenvolvimento larval em 48horas, mas impedissem que esta larva eclodisse em 72 horas. Assim, conforme Batista et al. (1999), o retardo da eclosão de ovos e a atuação do extrato sobre larvas podem resultar numa inviabilização total de ovos eliminados pelo parasito.

No protocolo utilizado neste experimento não se objetivou o isolamento das substâncias presentes na *Lippia sidoides* e sim a avaliação da eficácia do EHA em diferentes concentrações e a possível relação na evolução das doses testadas, observando este efeito positivo, pode-se concordar com Molan et al., (2002) que ao purificarem os taninos encontrados nas plantas *Lótus pedunculatus*, *Lotus corniculatus*, *Dorycnium pentaphyllum*, *Dorycnium rectum* e *Rumex obtusifolius* e, aplicaram diferentes concentrações destes extratos sobre ovos de *Trichostrongylus columbriformis*. Como resultados, observaram que a eclosão dos ovos diminuiu à medida que aumentava a concentração dos extratos, que apesar ser diferente do EHA de *L. sidoides* deste experimento, também evoluiu conforme o aumento da concentração, principalmente na concentração de 500mg/mL que apresentou uma probabilidade de eclosão de ovos de 2% concordando com Costa et al., (2002) que estudaram efeitos de sementes de *Mangifera indica* sobre *H. contortus* e detectou inibição de 95,66% da eclodibilidade a uma concentração de 50mg/mL e que este efeito foi dependente da dose.

## **1.5 CONCLUSÃO**

O EHA de *Lippia sidoides Cham* na concentração de 500mg/mL obteve ação ovicida ao reduzir a 2% *in vitro* a probabilidade de evolução embrionária dos ovos de nematóides gastrintestinais de família *Trichostrongylidae* de caprinos.

## 1.6 REFERÊNCIAS

AMARANTE, A.F.T. Controle de endoparasitoses dos ovinos. Disponível em: <[http:// www.fmvz.unesp.br/ovinos/repman4.htm](http://www.fmvz.unesp.br/ovinos/repman4.htm)>2005.

**ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL**, fundação Instituto Brasileiro de Geografia e estatística, v.51, 1024p (1991).

BATISTA, L.M., BEVILAQUA,C.M.L., MORAES, S.M. In vitro ovicidal and larvavical effect of the plants *Spigelia anthelmia* and *Monocardia charantia* against the nematode *Haemonchos contortus*. **Ciência animal**, v.9,p.67-73,1999.

BEGNINI, M.L. Potencial do uso, produção de extratos de plantas brasileiras e desenvolvimento de produtos para o controle de pragas e ectoparasitos em animais em seres humanos: **plantas inseticidas**. 2001 Uberaba.

BEVILAQUA, C.M.L.; VASCONCELOS, A.L.F.; MORAIS, S.M. Ovicidal and larvicidal activity of *Lippia sidoides* and *Ocimum gratissimum* essencial oils against *Haemonchus contortus*. **20th International conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology**, session D, 2005.

BRASIL. 1998. Ministério do Meio Ambiente. **Sertão do baixo São Francisco sergipano**. CODEVASF: UFS/CNPq.

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

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária. Porto Alegre**: Sulina, 1997. p . 315-322

FURTADO. K.S.; NEGRELLE. R.B.; MIGUEL. O.G.; ZANILO. S.R., KAPRONEZAI. J.; RAMOS. J.S.; SOTELLO. A; Efeito de Carica paya L. e Musa paradisiaca Linn. Sobre o desenvolvimento de ovos de Nematódeos gastrintestinais de ovinos. – **Aquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.2p.191-197. 2006

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

JORNAL DO LEITE. A pesquisa e o Produtor. EMBRAPA Gado de Leite. 2003. Disponível em <http://www.cnpqg.embrapa.br/jornaleite/>.>.

PESSOA, L.M. **Atividade ovicida in vitro de plantas medicinais contra haemonchos contortus** .2001 68f. Campina Grande-PB, Brasil.

PRASLICKA, J. **Some aspects of the spread of anthelmintic resistance. Helminthologia**, v.32 n.1/2, p.75-77, 1995.

VIEIRA, L. da S.; CAVALCANTE, A. C. R. Resistência anti-helmíntica em rebanhos caprinos no Estado do Ceará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 3/4, p. 99-103, 1999.

VIERTLER, R.B. **A idéia de “sustentabilidade cultural”**: algumas considerações críticas a partir da Antropologia, p. 17-35. *In*: JB, 1999.

WALLER, P.J.; ECHEVARRIA, F.; EDDI, C.; MACIEL, S.; NARI, A.; HANSEN, J.W. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: General Overview. **Veterinary Parasitology**, v.62, p.181-187.1996

## **2. 1. Avaliação larvicida do EHA de *Lippia sidoides Cham* sobre o desenvolvimento de ovos de nematódeos gastrintestinais (família Trichostrongylidae) de Caprinos**

SOUZA, W. M. A<sup>1</sup>; RAMOS, R.A. N<sup>2</sup>;LIRA, N.M.S<sup>2</sup>; ALVES,L.C<sup>3</sup>; COELHO,M. C. O. C.<sup>3</sup>

1.Programa de pós-graduação em Ciência Veterinária ( Doutorado) – UFRPE. Trav Rui Barbosa,279 Vila Rica – Jaboatão dos Guararapes CEP: 54100-500 – [isabelwagner@uol.com.br](mailto:isabelwagner@uol.com.br)

2. Aluno da Graduação em Ciência Veterinária – UFRPE

3. Prof. Adjunto do Departamento de Medicina Veterinária - UFRPE Av. D. Manoel Medeiros s/n Dois Irmãos – CEP 52171-900

### **2.1 RESUMO**

Avaliou-se *in vitro* a atividade larvicida do extrato hidroalcoólico de alecrim pimenta (*Lippia sidoides Chan*) sobre larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos. Esta avaliação foi realizada através de testes de eficiência do extrato hidroalcoólico sobre larvas de terceiro estágio L3 emersas em solução aquosa de 50µL e sendo aplicada sobre elas o extrato de *Lippia sidoides Cham* nas concentrações de 1mg/mL, 2mg/mL, 5mg/mL, 10mg/mL, 20mg/mL, 50mg/mL, 100mg/mL, 150mg/mL, 250mg/mL e 500mg/mL, avaliadas aos períodos tempo de 24, 48 e 72 horas, como grupo controle foi utilizado água destilada no controle negativo e febendazole a 33mg/mL como controle positivo, os testes foram repetidos três vezes. Após o período de exposição ao extrato as larvas foram contadas e separadas entre larvas vivas e mortas. Os resultados encontrados demonstraram que a concentração de 500mg/ml apresentou resultado efetivo e com uma capacidade de ação de 95,89%, essa atividade foi superior a todos os grupos testado, conseguindo superar o grupo controle positivo. Revelando desta forma um possível potencial uso terapêutico anti-helmíntico para esse extrato.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fitoterapia, parasitoses, anti-helmíntico,alecrim pimenta.

## **2. 1. Evaluation Larvicidal of the EHA of *Lippia sidoides* Cham on the development of eggs of gastrointestinal nematodes (family Trichostrongylidae) of goats**

### **2.1 ABSTRACT**

*In vitro* the activity larvicidal of the EHA of alecrim pepper was evaluated (*Lippia sidoides* Cham) on larval of gastrointestinal nematodes of goats. This evaluation was accomplished through tests of efficiency of the EHA on buoyant larvae of third stadium L3 in aqueous solution of 50 $\mu$ L and being applied on them the extract of *Lippia sidoides* Cham in the concentrations of 1mg/mL, 2mg/mL, 5mg/mL, 10mg/mL, 20mg/mL, 50mg/mL, 100mg/mL, 150mg/mL, 250mg/mL and 500mg/mL, evaluated to the periods time of 24, 48 and 72 hours, as group control water distilled in the negative control and febendazole for 33mg/mL were used as positive control, the tests were repeated three times. After the exhibition period to the extract the larval were counted and separated among alive and dead larval. The found results demonstrated that the concentration of 500mg/mL presented effective result and with a capacity of action of 95,89%, that activity went superior to all the tested groups, getting to overcome the group controls positive. Revealing a possible potential use therapeutic anthelmintic this way for that extract.

**KEY WORDS:** Fitoterapia, parasitoses, anthelmintic, alecrim pepper.

## 2.2 INTRODUÇÃO

A prática da medicina popular com o uso de plantas é bastante antiga, não só no Brasil como no mundo, sendo atualmente importante na cura e na prevenção de eventuais enfermidades. Por ser um campo bastante amplo, existindo milhares de espécies distintas com propriedades terapêuticas e diferentes formas de uso para cada grupo, pesquisas estão sendo feitas em todo o país visando contribuir para um melhor aproveitamento dessa flora, em virtude da sua enorme aplicabilidade (JUNIOR et al., 2005).

O interesse dos povos em relação ao meio ambiente, e em especial aos vegetais, existe desde milhares de anos. Registros históricos demonstram que na antiguidade, o homem já conhecia diversas propriedades das plantas, dentre estas, destaca-se as suas propriedades medicinais. O conhecimento sobre o valor terapêutico das espécies vegetais vem sendo transmitido, ao longo dos tempos, de geração a geração, formando, juntamente com outras práticas, um sistema médico, conhecido como tradicional (FERNANDES, 1982; SIMÕES et al., 1999).

Segundo Rodrigues (2001) a medicina popular pode ser definida como um grande acervo de saberes e práticas sobre doença, cura e prevenção. É o saber tradicional que passa de pessoa para pessoa, fora do sistema acadêmico, constituindo o recurso tradicional daqueles que não têm acesso à medicina formal ou nela deixaram de acreditar.

Atualmente surge um novo nicho de mercado: produtos orgânicos, tanto de origem animal quanto vegetal, tem levado a busca de produtos isentos de resíduos

sintéticos, que não poluam o meio ambiente e não afetem a qualidade do produto final (Jornal do Leite, 2003).

A política econômica do país vem demonstrando interesse pela caprinocultura, onde o caprino é considerado um animal rústico e que sobrevive em áreas secas e desprovidas de agricultura estável. No Nordeste brasileiro a atividade agropecuária e em particular a caprinovinocultura assume um papel relevante na economia do país por apresentar o maior rebanho e pelo aproveitamento dos seus produtos e subprodutos. (Anuário Estatístico do Brasil, 1991).

Os parasitos gastrintestinais são responsáveis por constantes e altíssimas perdas econômicas na caprinovinocultura do Nordeste do Brasil (PINHEIRO et al., 2000). Dentre os nematóides, a família Trichostrongylidae e em destaque o *Haemonchus contortus* é responsável por elevada mortalidade e diminuição da produtividade dos animais, particularmente nos mais jovens (AROSEMENA et al., 1998).

O controle dos parasitos gastrintestinais é essencialmente realizado com anti-helmíntico, visando reduzir os níveis de infecção dos animais e promover a descontaminação das pastagens (CHARLES, 1989). Porém os nematóideos têm desenvolvidos rapidamente resistência aos anti-helmínticos e associando ao alto custo do tratamento, seus resíduos em alimentos e a poluição ambiental causada por sua utilização incentivaram a pesquisa de medidas alternativas, como os fitoterápicos (JACKSON et al., 1993; WALLER et al., HERD, 1996 ). Muitas plantas já têm sido descritas como possuidoras de atividade anti-helmíntica (HAMMOND et al., 1997; VIEIRA et al., 1999).

A *Lippia sidoides* chan pertence a um gênero bastante vasto, sendo composto por aproximadamente 200 espécies de ervas, arbustos e pequenas árvores pertencentes à família Verbenaceae (TERBLANCHÉ & KORNELIUS, 1996).

É na parte aérea da planta e em especial as folhas que encontramos o timol, princípio ativos majoritário e responsável pelo cheiro ativo característico da planta. Nas folhas podemos encontrar até 4,5% de óleo essencial (MATOS, 2002).

No óleo essencial de *L. sidoides* encontramos vários princípios químicos diferentes, destacando-se : monoterpenos (carvacrol, p-cimeno, timol,  $\alpha$ -felandreno), sesquiterpene ( $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -copaeno,  $\alpha$ -humuleno) (MACAMBIRA et al., 1986; LEMOS et al., 1990; TERBLANCHÉ & KORNELIUS, 1996). A associação destes compostos promove ao óleo essencial da *Lippia sidoides* chan forte ação antifúngica, antibacteriana, antimicrobiana, contra *Staphylococcus aureus* que causa infecções na pele e na garganta, *Streptococcus mutans* responsável pela cárie dentária, *Corynebacterium xerosis* que causa mau cheiro nas axilas e nos pés, *Candida albicans* ou *Monilia* encontrada nas aftas e corrimento vaginal, *Trichophytum rubrum* e *T. interdigitale* que causam micoses na pele, ação moluscida contra o caramujo hospedeiro da esquistossomose *Biomphalaria glabra*, e ação larvicida contra o mosquito transmissor da dengue *Aedes aegypti* (LEMOS et al., 1990; LACOSTE et al., 1996; MATOS, 2000; LORENZI & MATOS, 2002).

Pessoa (2001) encontrou nos óleos essenciais de *Chenopodium ambrosioides*, *Ocimum gratissimum*, *Lippia sidoides* e *Cróton zehntneri*, ação sobre *H. contortus*.

Entre as várias plantas com potencial anti-helmíntico, *Tynnantus fasciculatus* (cipó-cravo) (AMORIM et al.,1991a), *Nauclea latifolia* (ASUZU & NJUKO, 1996),

*Punica granatum* (romã) (AMORIM et al., 1996), e *Spigelia anthelmia* (erva lombrigueira) (BATISTA et al., 1999; ASSIS et al., 2003) apresentaram resultados promissores nos testes, *in vitro*, com larvas.

Devido ao potencial terapêutico apresentado pela *Lippia Sidoides* chan, sua alta distribuição pela flora nordestina e a necessidade de se encontrar medidas alternativas eficazes no controle dos parasitos gastrintestinais dos caprinos e ovinos este trabalho objetivou avaliar a ação larvicida do extrato hidroalcoólico seco de *Lippia sidoides* Chan sobre larvas infectantes L3 de nematódeos gastrintestinais (família Trichostrongylidae) de Caprinos.

## 2.3 MATERIAL E MÉTODOS

Os extratos vegetais de *Lippia sidoides* Cham, foram preparados no laboratório de farmacologia de Produtos Bioativos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Pernambuco. Foram utilizadas folhas secas de *Lippia sidoides* oriundas da região do Semi-árido pernambucano, as folhas foram trituradas, incubadas por 1h a 50°C. Colocadas em Becker e submersas em etanol 70°GL, o conjunto foi tampado e incubado em banho-maria a 70°C por 1h e 30 min. Após este período foi a filtração a quente em funil com algodão. O extrato obtido foi concentrado em vapor rotatório (com pressão reduzida à temperatura de 50°C 90rpm, sendo que o peso seco foi medido no final).

Foram utilizados 20 animais da espécie caprina criados em sistema semi-intensivo. Diretamente da ampola retal foram coletadas cerca de 10g de fezes, sendo acondicionadas em sacos plásticos e encaminhadas sob temperatura refrigerada ao laboratório de parasitologia do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE.

As larvas foram obtidas após coprocultura contendo três gramas de fezes e dois gramas de vermiculite, sendo incubadas em temperatura ambiente acompanhada de 26°C durante oito dias. Após esse período foram recolhidas cinco amostras contendo 50mcl do líquido incubado corado com Lugol 1% e realizada a classificação quanto ao genero segundo Ueno e Gonçalves (1998). Foi retirado novamente um número igual de amostras para avaliação de larvas vivas e a motilidade das mesmas.

Placas de Elisa, em triplicata, contendo 50µL da solução com larvas L3 infectante em diferentes concentrações (T<sub>1</sub> controle água, T<sub>2</sub> 1,0mg/mL, T<sub>3</sub> 2,0mg/mL, T<sub>4</sub> 5,0mg/mL,, T<sub>5</sub> 10mg/mL,, T<sub>6</sub> 20mg/mL, T<sub>7</sub> 50mg/mL,, T<sub>8</sub> 100mg/mL,, T<sub>9</sub>

150mg/mL, T<sub>10</sub> 250mg/mL e T<sub>11</sub> 500mg/mL, do extrato vegetal, T<sub>12</sub> controle febandazole a 33mg/mL) foram incubados em temperatura ambiente acompanhada a 26°C por 24h, 48h e 72h. Sendo o material retirado após cada período de tempo, colocados em laminais e analisado em microscopia ótica de 100x, sendo as larvas contadas e avaliadas quanto à vida e morte destas.

O procedimento foi igualmente repetido com água destilada (controle negativo) e Febendazole a 33mg/mL (controle positivo) constituindo-se os grupos controles para os testes.

Foram aplicados métodos a fim de mensurar o efeito que o extrato possui no combate às larvas. A fim de alcançar o objetivo desta parte da análise, foi calculado o percentual de larvas mortas após 24, 48 e 72 horas para cada tratamento. Foram realizadas mais duas repetições do experimento constituindo assim um total de 108 unidades experimentais.

Assim, foram seguidos os seguintes procedimentos para determinar os efeitos dos tratamentos:

- Calculou-se o modelo de efeito dada por  $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ijk}$ ,  
para  $i = 1, \dots, 12$ ;  $j = 24, 48, 72$  e  $k = 1, 2, 3$ ,

Onde:  $Y_{ijk}$  é o percentual de larvas mortas no tratamento (i) e horas (j) e repetições (k);

$\mu$  é a média geral considerando a casela de referência utilizada; controle água  
 $\alpha_i$  é o efeito do tratamento i  $\beta_j$  é o efeito do bloco j;  $\alpha\beta_{ij}$  é o efeito da interação do tratamento i e do bloco j.  $\varepsilon_{ijk}$  é o erro aleatório da observação ijk.

- Verificou-se, através do teste de Lilliefors, se a suposição de normalidade dos resíduos era satisfeita, ou seja,  $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ ;
- Calculou-se a análise de variância para verificar se o efeito tratamento, efeito horas e/ou efeito interação (tratamento x horas) eram significativos para determinar o percentual de larvas mortas pelo extrato utilizado;
- Para os fatores que foram significativos calculou-se a comparação entre as médias para verificar onde os efeitos eram maiores ao utilizar extrato nas larvas.

Os dados foram tabulados na planilha eletrônica Microsoft Excel. Para análise estatística foram utilizados os softwares R versão 2.2.1 e EPI6. Todas as decisões foram tiradas ao nível de significância de 5%.

## 2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A cultura das larvas de nematóides gastrintestinais família Trichostrongylidae na espécie caprina revelou larvas infectantes do gênero *Haemonchus*, *Trichostrongylus* e *Oesophagostomum*, com uma predominância do gênero *Haemonchus* estando de acordo com Almeida et al., (2003) ao relatarem a predominância do gênero *Haemonchus* em relação aos outros.

Através das estimativas do modelo de efeito se verificou que os coeficientes referentes ao tempo (horas) e a interação com as diferentes concentrações não são significativos (anexo). Nesse modelo, as referências foram as variáveis experimentais do tratamento água e tempo de 24hs.

O resultado observado revelou indícios da não significância dos efeitos tempo e interação para determinação do percentual de larvas mortas pelo extrato aplicado.

Após a estimação do modelo calculou-se o teste de Lilliefors para normalidade dos resíduos do modelo ajustado. Foi obtido o p-valor = 0,073 indicando que os resíduos satisfazem a suposição de normalidade do modelo de efeito proposto, ou seja,  $\epsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ .

A (tabela 1) demonstra a análise de variância do modelo de efeito proposto. Através da mesma temos que os tratamentos utilizados são estatisticamente significativos enquanto o tempo e a interação (tratamento x tempo) não são significativos para o modelo. Sendo assim, estima-se um novo modelo incluindo apenas o tratamento que foi o modelo final do estudo.

TABELA 1. Análise de variância para o modelo de efeito.

Fonte de variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado médio	F	p-valor
$\alpha$	11	41152	3741	48,0685	<0,001 <sup>1</sup>
$\beta$	2	36	18	0,2291	0,7958
$\alpha\beta$	22	894	41	0,5221	0,9557
Resíduo	72	5604	78	-	-

<sup>1</sup>P-valor do teste do teste F. Se p-valor<0,05 a fonte de variação é significativa.

Observando tabela 2 temos a estimativa do modelo de efeito final ( $Y_{ik} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ik}$ ), considerando apenas o efeito tratamento, uma vez que as horas e as interações inicialmente propostas não eram estatisticamente significativas. Através desta tabela encontramos todos os efeitos dos tratamentos em estudo. Observa-se que todos os níveis do tratamento analisados possuem um efeito positivo no percentual de larvas mortas, além disso, ocorre a existência de um gradiente desses efeitos sendo correlacionado positivamente com os níveis do tratamento ( $r = 0,823$ ) e que tal correlação é significativa, ou seja, com o aumento do nível do tratamento aplicado o efeito também crescerá em uma mesma conjuntamente. Nesse modelo, as referências utilizadas foram as unidades experimentais do tratamento água.

TABELA 2 Estimativa dos parâmetros do modelo de efeito final para o percentual de larvas mortas com a aplicação do extrato.

Tratamento	Estimativa	Erro padrão	t value	p-valor	Efeito final
$\mu$	12,75	2,75	4,64	<0,001 <sup>1</sup>	12,75
$\alpha_2$	52,83	3,89	13,58	<0,001 <sup>1</sup>	65,58
$\alpha_3$	49,53	3,89	12,74	<0,001 <sup>1</sup>	62,28
$\alpha_4$	48,74	3,89	12,53	<0,001 <sup>1</sup>	61,49
$\alpha_5$	56,66	3,89	14,57	<0,001 <sup>1</sup>	69,41
$\alpha_6$	50,76	3,89	13,05	<0,001 <sup>1</sup>	63,51
$\alpha_7$	57,35	3,89	14,75	<0,001 <sup>1</sup>	70,10
$\alpha_8$	60,62	3,89	15,59	<0,001 <sup>1</sup>	73,37
$\alpha_9$	64,75	3,89	16,65	<0,001 <sup>1</sup>	77,50
$\alpha_{10}$	75,62	3,89	19,45	<0,001 <sup>1</sup>	88,37
$\alpha_{11}$	83,14	3,89	21,38	<0,001 <sup>1</sup>	95,89
$\alpha_{12}$	65,29	3,89	16,79	<0,001 <sup>1</sup>	78,04

Através da análise de variância do modelo de efeito final observa-se que o efeito do tratamento continua significativo (tabela 3). Sendo assim, foi realizado o teste de Tukey a fim de verificar onde existe maior ação do extrato. A comparação do teste de Tukey considera os tratamentos dois a dois e através do mesmo conclui-se qual nível do tratamento possui maior eficiência no combate a larvas e se essa eficiência é significativa quando comparada com a de outros níveis.

TABELA 3 Análise de variância para o modelo de efeito final.

Fonte de variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado médio	F	p-valor
$\alpha$	11	41152	3741	54,972	<0,001 <sup>1</sup>
Resíduo	72	5604	78	-	-

<sup>1</sup>P-valor do teste do teste F. Se p-valor<0,05 a fonte de variação é significativa.

Em relação ao grupo T1 (controle água) verificou-se que todas as diferenças de efeito entre este nível e os demais são negativas e significativas, indicando que todos

esses níveis possuem melhor efeito que o grupo um (controle água). Esse efeito deve-se a provável ação do extrato adicionado aos outros grupos de tratamento.

Os grupos de T<sub>2</sub> a T<sub>9</sub> apresentam-se estatisticamente com média significativa, demonstrando diferença negativa em relação ao grupo controle, mas em parasitologia só poderemos considerar realmente eficazes as soluções com desempenho superior a 95% o que não ocorreu com estes grupos. Os grupos T<sub>10</sub> e T<sub>11</sub> apresentam uma diferença de média significativa em relação aos outros grupos, além disso, a diferença verificada foi negativa, indicando assim, que os níveis de tratamento 10 e 11 possuem melhor efeito que todos os níveis testados incluindo o grupo controle. Porém, entre esses dois grupos de tratamento não houve diferença significativa, demonstrando índices muito próximos de efetividade.

Em relação ao grupo T<sub>11</sub>, este apresentou o melhor resultado quando comparado a todos os outros grupos testados, obtendo 95,89% de eficiência, sendo classificado como uma concentração eficaz nos testes *in vitro* contra larvas dos nematódeos gastrintestinais de caprinos. Observa-se com os resultados expostos, que o efeito do extrato é dose dependente. À medida que aumenta a concentração, aumenta o efeito.

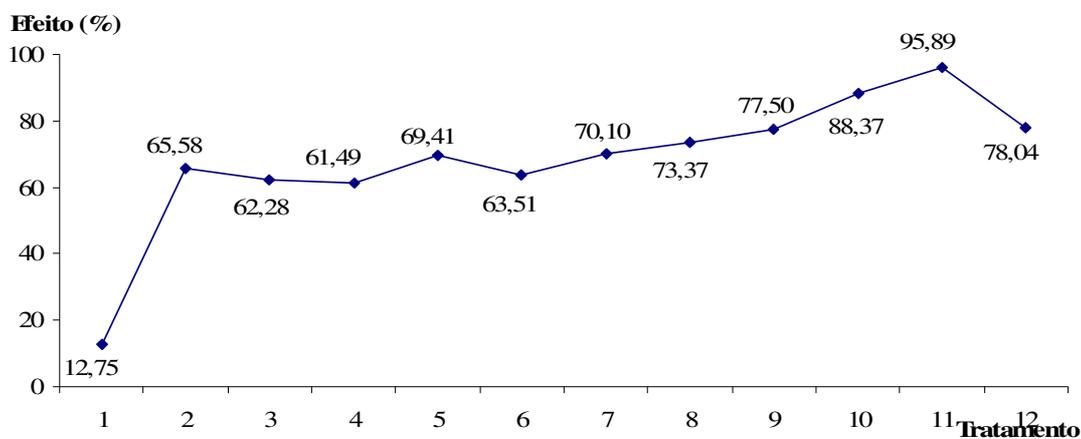


FIGURA 1 - Evolução do efeito frente ao aumento da concentração do EHA comparada aos grupos controle.

O grupo controle positivo T<sub>12</sub> (febendazole 33mg/ml) apresentou valores de referência semelhantes aos grupos T<sub>7</sub>, T<sub>8</sub> e T<sub>9</sub> com média positiva, porém não significativa. O que nos revela que este grupo também se encontra abaixo do controle efetivo de larvas, o que possivelmente pode demonstrar o desenvolvimento da resistência anti-helmíntica ao produto febendazole. Uma vez que este princípio ativo é indicado com a ação larvicida segundo o fabricante. Quando comparado aos grupos T<sub>10</sub> e T<sub>11</sub> o febendazole se encontra com valores abaixo desses, porém bem próximo ao T<sub>10</sub> e não significativo, ficando desta forma bem inferior ao grupo T<sub>11</sub>.

Observa-se que em todos os resultados retirados da (tabela 2) as concentrações 10 e 11 apresentaram os melhores resultados e quando comparados entre si apresentaram efeitos estatisticamente iguais. Porém o efeito do nível de tratamento T<sub>11</sub> foi o que obteve maior grau de eficiência, sendo assim considerado o melhor nível de combate a larvas (figura 2)

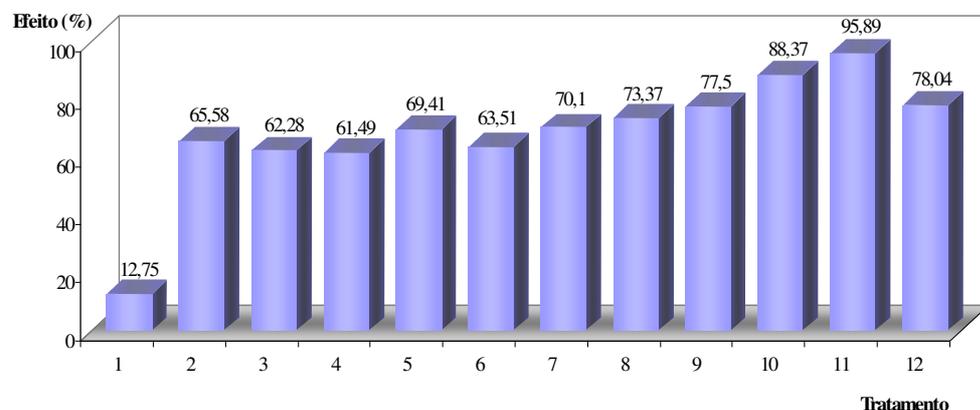


FIGURA 2 – Gráfico demonstrativo dos diferentes resultados nas diversas concentrações testadas do EHA de *L. sidoides*.

Comparando nossos resultados pelo proposto por Powers et al (1982) ao relatarmos que a Associação Mundial Para Avanço da Parasitologia Mundial, classifica os índices de eficiência em; altamente eficiente mais 90% de ação, moderadamente eficiente entre 80% e 90% de ação e abaixo pouco efetivo ou sem nenhuma ação, pode-se enquadrar com uma boa classificação as concentrações T<sub>10</sub> e T<sub>11</sub>, ainda segundo esta classificação os outros grupos assim como o grupo controle positivo ficaram abaixo do índice ideal esperado para um produto larvicida.

Pode-se observar que os resultados encontrados estabelecem uma relação positiva dos grupos T<sub>10</sub> e T<sub>11</sub> com os dados de Bevilaqua et al., (2005) ao estudarem o efeito larvicida do óleo essencial de *Lippia sidoides* Chan sobre as larvas L3 de *Haemonchus contortus* nas concentrações 2% e 1% com resultados de 94,58% e 90,25% respectivamente de eficiência, apesar dos substratos testados serem diferentes, as duas concentrações testadas mostraram-se com resultados equivalentes do EHA e o óleo essencial da *L. sidoides*. Bevilaqua et al (2005) ao avaliarem a ação larvicida do óleo essencial de *Ossimum gratissimum* puderam observar uma alternância de eficiência nos resultados encontrados, mesmo com o aumento de suas concentrações 0,125% obteve 41,18% e 0,25%, 0,50% 1% e 2% obtiveram respectivamente 45,78%, 41,98%, 76,51% e 93,22% de ação. Esse mesmo efeito também foi observado neste estudo entre os grupos T<sub>2</sub> a T<sub>6</sub>, mas sem diferenças significativas havendo apenas a alternância dos resultados, essa situação pode ser explicada quando durante o desenvolvimento da metodologia observou-se que, quando o volume do extrato era menor, o volume final também diminuía e poderia haver um efeito de aumento da densidade final, interferindo de alguma forma no resultado.

Neste experimento buscou-se a atividade do EHA ou extrato vegetal, em diversas concentrações, como mecanismo de se realizar uma triagem do seu potencial anti-helmíntico frente a larvas infectantes L3 de nematóides gastrintestinais de caprinos. Outros autores trabalharam com protocolos diferentes e ou semelhantes. Porém, muitos optam por trabalhar com a ação de extratos vegetais frente ao desenvolvimento de ovos, larvas infectantes ou ao parasito adulto, desta forma a discussão de trabalhos referentes a estes estudos é complexa, pois se trata de material, concentrações e solventes diferentes e, portanto, apresentando possivelmente reação para os estágios de desenvolvimento do parasito próprio. Essa mesma possibilidade de variação foi observada por Hounzangbe-adote et al (2005) que estudaram a ação de quatro plantas tropicais *Zanthoxylum zanthoxyloides*, *Newbouldia laevis*, *Morinda lúcida* e *Carica papaya* em ovos, larvas infectantes e adultos de *H. contortus* verificando que as plantas testadas apresentavam ação contra todos os estágios dos parasitos, porém, variando grandemente seus resultados entre cada estágio.

## **2.5 CONCLUSÃO**

A concentração de 500mg/mL do EHA de *Lippia sidoides Cham* se mostrou *in vitro* possuir ação larvicida com 95,89% de eficiência sobre as larvas L3 infectantes de nematóides gastrintestinais de caprinos (família Trichostrongylidae).

## 2.6 REFERÊNCIAS

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL, fundação Instituto Brasileiro de Geografia e estatística, v.51, 1024p (1991).

AROSEMENA, N.A.E., BEVILAQUA, C.M.L.,MELO, A. C. F. L. & GIRÃO, M. D. (1999). Seasonal variations of gastrointestinal nematodes in sheep and goats from semi-arid area in Brazil.Rev. Med.Vet. 150:11-14

CHARLES, T. P. (1989) Seasonal Prevalence of Gastrointestinal Nematodes of Goats in Pernambuco State, Brazil. Vet. Parasitol. 30:335-343.

FERNANDES, V. Guia básico de plantas medicinais. Rio de Janeiro: Instituto de Estudos da Amazônia, 1982. 80p.

HAMMOND, J.A., FIELDING, D., & BISHOP, S. C. (1997). Prospects for plant anthelmintics in veterinary medicine. Vet. Res. Comm. 21:213-228

HERD, R. (1996). Impactos ambientais associados aos compostos endectocidas. “Controle dos nematóides gastrintestinais em ruminantes” (T. Padilha, Ed.), pp.95-111. EMBRAPA – CNPGL, Coronel Pacheco, MG.

JORNAL DO LEITE. A pesquisa e o Produtor. EMBRAPA Gado de Leite. 2003. Disponível em <http://www.cnpgl.embrapa.br/jornaleite/>.>.

JUNIOR, J. P. A.; AYALA-OSUNA, J. T.; QUEIROZ, S. R. O. D., et al. Levantamento etnobotânico e etnofarmacológico de plantas medicinais do município de Itaberaba-BA para cultivo e preservação. Sitientibus Série Ciências Biológicas 5 (1): 39-44. 2005.

LACOSTE, E.; CHAUMONT, J.P.; MANDIN, D.; PLUMEL, M.M.; MATOS, F.J.A. Antiseptic properties of essential oil of *Lippia sidoides* Cham.; application to the cutaneous microflora. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, v.54, p.228-230, 1996.

LEMOS, T.L.G.; MATOS, F.J.A.; ALENCAR, J.W.; CRAVEIRO, A.A.; CLARK, A.M.; McCHESNEY, J.D. Antimicrobial activity of essential oils of Brazilian plants. *Phytotherapy Research*, v.4, n.2, p.82-84, 1990.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. *Plantas medicinais no Brasil; nativas e exóticas*. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

MACAMBIRA, L.M.A.; ANDRADE, C.H.S.; MATOS, F.J.A.; CRAVEIRO, A.A. Naphtoquinoids from *Lippia sidoides*. *Journal of Natural Products*, v.49, p. 310-312, 1986.

MATOS, F.J.A. de. *Farmácias vivas: Sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades*. 4. ed. ver. Ampliada., Fortaleza: Editora UFC. 2002. 267p.

MATOS, F.J.A.; MACHADO, M.I.L.; CRAVEIRO, A.A.; ALENCAR, J.W.; SILVA, M.G. Medicinal plants of Northeast Brazil containing thymol and carvacrol – *Lippia sidoides* Cham. and *L. gracillis* H.B.K. (Verbenaceae). *Journal of Essencial Oil Research*, v.11, n.6, p.666-668, 1999.

POWER, K.G. et al. World Association for the Advanement of Verinary Parasitoy(W.A.A.V.P.) – Guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine and ovine).*Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 10, p.265-268, 1982.

Rodrigues A. G. 2001. Buscando raízes. Horizontes Antropológicos 16:131-144.

TERBLANCHÉ, F.C.; KORNELIUS, G. Essencial oil constituents of the genus *Lippia* (Verbenaceae) - A literature review. Journal of Essencial Oil Research, n. 8, 471-485,1996.

VIEIRA, L. da S.; CAVALCANTE, A. C. R. Resistência anti-helmíntica em rebanhos caprinos no Estado do Ceará. Pesquisa Veterinária Brasileira, Brasília, v. 19, n. 3/4, p. 99-103, 1999.

WALLER, P.J.; ECHEVARRIA, F.; EDDI, C.; MACIEL, S.; NARI, A.; HANSEN, J.W. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: General Overview. Veterinary Parasitology, v.62, p.181-187.1996

UENO, H.; GONÇALVES, P.C. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes, 3 ed. Tokkio: Japan. International Cooperation Agency; Porto Alegre; Faculdade de Veterinária da UFRGS, 1998, 166p

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados com o uso do extrato de *Lippia Sidoides* Cham sobre as larvas L3 demonstraram um grau de ação desde as menores concentrações até o nível mais alto dos testes, chegando a conseguir resultados mais efetivos a partir das concentrações de 250mg e 500mg, com 88,646 % e 96,172 % respectivamente para cada concentração em 24h de exposição ao extrato, sendo esta última concentração classificada como eficiente. Revelando o potencial larvicida do extrato estudado. O tempo de exposição das larvas ou extrato por 24 horas, determinou que na concentração de 500mg /mL já seria o suficiente para obter um bom resultado, o que pode significar uma menor exposição dos caprinos ao extrato em futuros testes *in vivo*.

A diminuição na probabilidade de evolução dos ovos de nematóides gastrintestinais de caprinos *in vitro*, deve-se ao fato da adição do extrato seco de alecrim pimenta (*Lippia sidoide* Cham) sobre os mesmos, destacando-se para tanto a concentração de 500mg/mL. A diminuição ou total impedimento da evolução é importante por determinar a não contaminação do ambiente com fezes cheias de ovos e conseqüentemente a ingestão de larvas L3 infectantes por caprinos.

A utilização do extrato hidroalcoólico seco de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais se revela como um promissor anti-helmíntico natural, requerendo para tanto estudos complementares a este.

Apesar dos estudos terem sido realizados usando-se fezes de caprinos, os resultados são bastante promissores também para ovinos. Pois, os parasitos gastrintestinais são basicamente os mesmos para as duas espécies.

O uso das plantas medicinais está condicionado a diversos fatores, como: solventes envolvidos na extração, partes da planta que contém mais ou menos princípio ativo, tempo de coleta, horário e origem da planta que ao interagirem com a temperatura e umidade podem interferir no resultado final de qualquer experimento ou protocolo terapêutico utilizado a base de plantas.

## **ANEXOS**

## EXPERIMENTO 1.

Tabela. Estimativa dos parâmetros do modelo Logístico.

<i>Coeficientes</i>	Estimativa	Erro padrão	Valor de Z	p-valor	<i>Coeficientes</i>	Estimativa	Erro padrão	Valor de Z	p-valor
$\beta_1$	-23,37	6712,00	0,00	0,997	$\delta_{4.12}$	-2,04	9433,00	0,00	1,000
$\alpha_2$	-0,13	9425,00	0,00	1,000	$\delta_{5.12}$	-2,44	9482,00	0,00	1,000
$\alpha_3$	0,01	9440,00	0,00	1,000	$\delta_{6.12}$	-4,15	9298,00	0,00	1,000
$\alpha_4$	0,40	9433,00	0,00	1,000	$\delta_{7.12}$	-4,76	9444,00	0,00	1,000
$\alpha_5$	0,26	9482,00	0,00	1,000	$\delta_{8.12}$	-4,98	9459,00	0,00	1,000
$\alpha_6$	0,42	9298,00	0,00	1,000	$\delta_{9.12}$	-3,48	9496,00	0,00	1,000
$\alpha_7$	0,33	9444,00	0,00	1,000	$\delta_{10.12}$	-2,92	9397,00	0,00	1,000
$\alpha_8$	0,48	9459,00	0,00	1,000	$\delta_{11.12}$	-3,81	9447,00	0,00	1,000
$\alpha_9$	0,31	9496,00	0,00	1,000	$\delta_{12.12}$	-21,05	6712,00	0,00	0,997
$\alpha_{10}$	0,36	9397,00	0,00	1,000	$\delta_{2.24}$	-1,78	9425,00	0,00	1,000
$\alpha_{11}$	0,33	9447,00	0,00	1,000	$\delta_{3.24}$	-2,46	9440,00	0,00	1,000
$\alpha_{12}$	19,83	6712,00	0,00	0,998	$\delta_{4.24}$	-2,35	9433,00	0,00	1,000
$\gamma_3$	0,06	9455,00	0,00	1,000	$\delta_{5.24}$	-1,92	9482,00	0,00	1,000
$\gamma_6$	21,99	6712,00	0,00	0,997	$\delta_{6.24}$	-2,20	9298,00	0,00	1,000
$\gamma_{12}$	23,62	6712,00	0,00	0,997	$\delta_{7.24}$	-3,62	9444,00	0,00	1,000
$\gamma_{24}$	23,19	6712,00	0,00	0,997	$\delta_{8.24}$	-3,27	9459,00	0,00	1,000
$\gamma_{48}$	23,25	6712,00	0,00	0,997	$\delta_{9.24}$	-3,21	9496,00	0,00	1,000
$\gamma_{72}$	23,12	6712,00	0,00	0,997	$\delta_{10.24}$	-4,38	9397,00	0,00	1,000
$\delta_{2.3}$	0,40	13320,00	0,00	1,000	$\delta_{11.24}$	-4,44	9447,00	0,00	1,000
$\delta_{3.3}$	0,12	13350,00	0,00	1,000	$\delta_{12.24}$	-20,29	6712,00	0,00	0,998
$\delta_{4.3}$	-0,06	13370,00	0,00	1,000	$\delta_{2.48}$	-1,36	9425,00	0,00	1,000
$\delta_{5.3}$	0,11	13410,00	0,00	1,000	$\delta_{3.48}$	-1,64	9440,00	0,00	1,000
$\delta_{6.3}$	-0,28	13270,00	0,00	1,000	$\delta_{4.48}$	-1,83	9433,00	0,00	1,000

$\delta_{7.3}$	-0,23	13350,00	0,00	1,000	$\delta_{5.48}$	-3,12	9482,00	0,00	1,000
$\delta_{8.3}$	-0,22	13370,00	0,00	1,000	$\delta_{6.48}$	-2,55	9298,00	0,00	1,000
$\delta_{9.3}$	-0,17	13390,00	0,00	1,000	$\delta_{7.48}$	-1,53	9444,00	0,00	1,000
$\delta_{10.3}$	-0,12	13330,00	0,00	1,000	$\delta_{8.48}$	-2,73	9459,00	0,00	1,000
$\delta_{11.3}$	-0,13	13380,00	0,00	1,000	$\delta_{9.48}$	-2,26	9496,00	0,00	1,000
$\delta_{12.3}$	-19,62	11560,00	0,00	0,999	$\delta_{10.48}$	-2,88	9397,00	0,00	1,000
$\delta_{2.6}$	-21,44	11610,00	0,00	0,999	$\delta_{11.48}$	-3,65	9447,00	0,00	1,000
$\delta_{3.6}$	-2,94	9440,00	0,00	1,000	$\delta_{12.48}$	-19,69	6712,00	0,00	0,998
$\delta_{4.6}$	-2,52	9433,00	0,00	1,000	$\delta_{2.72}$	-1,13	9425,00	0,00	1,000
$\delta_{5.6}$	-3,23	9482,00	0,00	1,000	$\delta_{3.72}$	-1,07	9440,00	0,00	1,000
$\delta_{6.6}$	-3,57	9298,00	0,00	1,000	$\delta_{4.72}$	-1,81	9433,00	0,00	1,000
$\delta_{7.6}$	-3,54	9444,00	0,00	1,000	$\delta_{5.72}$	-1,73	9482,00	0,00	1,000
$\delta_{8.6}$	-3,58	9459,00	0,00	1,000	$\delta_{6.72}$	-2,12	9298,00	0,00	1,000
$\delta_{9.6}$	-21,98	11660,00	0,00	0,998	$\delta_{7.72}$	-1,96	9444,00	0,00	1,000
$\delta_{10.6}$	-22,03	11570,00	0,00	0,998	$\delta_{8.72}$	-2,72	9459,00	0,00	1,000
$\delta_{11.6}$	-3,48	9447,00	0,00	1,000	$\delta_{9.72}$	-3,12	9496,00	0,00	1,000
$\delta_{12.6}$	-21,42	6712,00	0,00	0,997	$\delta_{10.72}$	-3,11	9397,00	0,00	1,000
$\delta_{2.12}$	-1,94	9425,00	0,00	1,000	$\delta_{11.72}$	-23,08	11620,00	0,00	0,998
$\delta_{3.12}$	-1,86	9440,00	0,00	1,000	$\delta_{12.72}$	-19,13	6712,00	0,00	0,998

TABELA . Estimativa dos parâmetros do modelo Logístico com os dados observados após 12 horas.

Estimativa	Coefficientes	Erro padrão	Valor de Z	p-valor	Coefficientes	Estimativa	Erro padrão	Valor de Z	p-valor
0,25	$\beta_1$	0,20	1,27	0,206	$\delta_{11.24}$	-0,63	1,20	-0,52	0,601
-2,07	$\alpha_2$	0,38	-5,45	0,000 <sup>1</sup>	$\delta_{12.24}$	0,76	0,42	1,81	0,071
-1,84	$\alpha_3$	0,37	-4,94	0,000 <sup>1</sup>	$\delta_{2.48}$	0,58	0,52	1,11	0,266
-1,64	$\alpha_4$	0,33	-4,88	0,000 <sup>1</sup>	$\delta_{3.48}$	0,22	0,51	0,43	0,668
-2,18	$\alpha_5$	0,39	-5,57	0,000 <sup>1</sup>	$\delta_{4.48}$	0,21	0,49	0,42	0,672
-3,73	$\alpha_6$	0,74	-5,01	0,000 <sup>1</sup>	$\delta_{5.48}$	-0,68	0,73	-0,93	0,353
-4,42	$\alpha_7$	1,03	-4,31	0,000 <sup>1</sup>	$\delta_{6.48}$	1,60	0,86	1,86	0,063
-4,50	$\alpha_8$	1,03	-4,38	0,000 <sup>1</sup>	$\delta_{7.48}$	3,23	1,08	3,00	0,003 <sup>1</sup>
-3,17	$\alpha_9$	0,55	-5,76	0,000 <sup>1</sup>	$\delta_{8.48}$	2,25	1,13	2,00	0,046 <sup>1</sup>
-2,56	$\alpha_{10}$	0,42	-6,11	0,000 <sup>1</sup>	$\delta_{9.48}$	1,22	0,70	1,74	0,083
-3,48	$\alpha_{11}$	0,62	-5,61	0,000 <sup>1</sup>	$\delta_{10.48}$	0,04	0,69	0,06	0,951
-1,22	$\alpha_{12}$	0,30	-4,12	0,000 <sup>1</sup>	$\delta_{11.48}$	0,16	0,97	0,17	0,865
-0,43	$\gamma_{24}$	0,28	-1,53	0,126	$\delta_{12.48}$	1,36	0,39	3,45	0,001 <sup>1</sup>
-0,37	$\gamma_{48}$	0,27	-1,36	0,173	$\delta_{2.72}$	0,81	0,50	1,63	0,104
-0,50	$\gamma_{72}$	0,28	-1,79	0,074	$\delta_{3.72}$	0,78	0,49	1,59	0,111
0,16	$\delta_{2.24}$	0,57	0,28	0,782	$\delta_{4.72}$	0,23	0,50	0,45	0,652
-0,60	$\delta_{3.24}$	0,60	-1,01	0,314	$\delta_{5.72}$	0,71	0,54	1,32	0,188
-0,31	$\delta_{4.24}$	0,51	-0,60	0,546	$\delta_{6.72}$	2,03	0,84	2,42	0,016 <sup>1</sup>
0,52	$\delta_{5.24}$	0,56	0,94	0,348	$\delta_{7.72}$	2,80	1,10	2,55	0,011 <sup>1</sup>
1,95	$\delta_{6.24}$	0,84	2,34	0,019 <sup>1</sup>	$\delta_{8.72}$	2,26	1,14	1,98	0,048 <sup>1</sup>
1,14	$\delta_{7.24}$	1,27	0,90	0,369	$\delta_{9.72}$	0,36	0,83	0,43	0,669
1,71	$\delta_{8.24}$	1,16	1,47	0,142	$\delta_{10.72}$	-0,20	0,69	-0,28	0,777
0,27	$\delta_{9.24}$	0,83	0,33	0,743	$\delta_{11.72}$	-16,27	1511,41	-0,01	0,991
-1,46	$\delta_{10.24}$	1,11	-1,31	0,189	$\delta_{12.72}$	1,91	0,40	4,79	0,000 <sup>1</sup>

**Tabela. Estimativa dos parâmetros do modelo Logístico.**

<i>Coeficientes</i>	<i>Estimativa</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Valor de Z</i>	<i>p-valor</i>	<i>Coeficientes</i>	<i>Estimativa</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Valor de Z</i>	<i>p-valor</i>
$\beta_1$	-23,37	6712,00	0,00	0,997	$\delta_{4.12}$	-2,04	9433,00	0,00	1,000
$\alpha_2$	-0,13	9425,00	0,00	1,000	$\delta_{5.12}$	-2,44	9482,00	0,00	1,000
$\alpha_3$	0,01	9440,00	0,00	1,000	$\delta_{6.12}$	-4,15	9298,00	0,00	1,000
$\alpha_4$	0,40	9433,00	0,00	1,000	$\delta_{7.12}$	-4,76	9444,00	0,00	1,000
$\alpha_5$	0,26	9482,00	0,00	1,000	$\delta_{8.12}$	-4,98	9459,00	0,00	1,000
$\alpha_6$	0,42	9298,00	0,00	1,000	$\delta_{9.12}$	-3,48	9496,00	0,00	1,000
$\alpha_7$	0,33	9444,00	0,00	1,000	$\delta_{10.12}$	-2,92	9397,00	0,00	1,000
$\alpha_8$	0,48	9459,00	0,00	1,000	$\delta_{11.12}$	-3,81	9447,00	0,00	1,000
$\alpha_9$	0,31	9496,00	0,00	1,000	$\delta_{12.12}$	-21,05	6712,00	0,00	0,997
$\alpha_{10}$	0,36	9397,00	0,00	1,000	$\delta_{2.24}$	-1,78	9425,00	0,00	1,000
$\alpha_{11}$	0,33	9447,00	0,00	1,000	$\delta_{3.24}$	-2,46	9440,00	0,00	1,000
$\alpha_{12}$	19,83	6712,00	0,00	0,998	$\delta_{4.24}$	-2,35	9433,00	0,00	1,000
$\gamma_3$	0,06	9455,00	0,00	1,000	$\delta_{5.24}$	-1,92	9482,00	0,00	1,000
$\gamma_6$	21,99	6712,00	0,00	0,997	$\delta_{6.24}$	-2,20	9298,00	0,00	1,000
$\gamma_{12}$	23,62	6712,00	0,00	0,997	$\delta_{7.24}$	-3,62	9444,00	0,00	1,000
$\gamma_{24}$	23,19	6712,00	0,00	0,997	$\delta_{8.24}$	-3,27	9459,00	0,00	1,000
$\gamma_{48}$	23,25	6712,00	0,00	0,997	$\delta_{9.24}$	-3,21	9496,00	0,00	1,000
$\gamma_{72}$	23,12	6712,00	0,00	0,997	$\delta_{10.24}$	-4,38	9397,00	0,00	1,000
$\delta_{2.3}$	0,40	13320,00	0,00	1,000	$\delta_{11.24}$	-4,44	9447,00	0,00	1,000
$\delta_{3.3}$	0,12	13350,00	0,00	1,000	$\delta_{12.24}$	-20,29	6712,00	0,00	0,998
$\delta_{4.3}$	-0,06	13370,00	0,00	1,000	$\delta_{2.48}$	-1,36	9425,00	0,00	1,000
$\delta_{5.3}$	0,11	13410,00	0,00	1,000	$\delta_{3.48}$	-1,64	9440,00	0,00	1,000
$\delta_{6.3}$	-0,28	13270,00	0,00	1,000	$\delta_{4.48}$	-1,83	9433,00	0,00	1,000
$\delta_{7.3}$	-0,23	13350,00	0,00	1,000	$\delta_{5.48}$	-3,12	9482,00	0,00	1,000

$\delta_{8.3}$	-0,22	13370,00	0,00	1,000	$\delta_{6.48}$	-2,55	9298,00	0,00	1,000
$\delta_{9.3}$	-0,17	13390,00	0,00	1,000	$\delta_{7.48}$	-1,53	9444,00	0,00	1,000
$\delta_{10.3}$	-0,12	13330,00	0,00	1,000	$\delta_{8.48}$	-2,73	9459,00	0,00	1,000
$\delta_{11.3}$	-0,13	13380,00	0,00	1,000	$\delta_{9.48}$	-2,26	9496,00	0,00	1,000
$\delta_{12.3}$	-19,62	11560,00	0,00	0,999	$\delta_{10.48}$	-2,88	9397,00	0,00	1,000
$\delta_{2.6}$	-21,44	11610,00	0,00	0,999	$\delta_{11.48}$	-3,65	9447,00	0,00	1,000
$\delta_{3.6}$	-2,94	9440,00	0,00	1,000	$\delta_{12.48}$	-19,69	6712,00	0,00	0,998
$\delta_{4.6}$	-2,52	9433,00	0,00	1,000	$\delta_{2.72}$	-1,13	9425,00	0,00	1,000
$\delta_{5.6}$	-3,23	9482,00	0,00	1,000	$\delta_{3.72}$	-1,07	9440,00	0,00	1,000
$\delta_{6.6}$	-3,57	9298,00	0,00	1,000	$\delta_{4.72}$	-1,81	9433,00	0,00	1,000
$\delta_{7.6}$	-3,54	9444,00	0,00	1,000	$\delta_{5.72}$	-1,73	9482,00	0,00	1,000
$\delta_{8.6}$	-3,58	9459,00	0,00	1,000	$\delta_{6.72}$	-2,12	9298,00	0,00	1,000
$\delta_{9.6}$	-21,98	11660,00	0,00	0,998	$\delta_{7.72}$	-1,96	9444,00	0,00	1,000
$\delta_{10.6}$	-22,03	11570,00	0,00	0,998	$\delta_{8.72}$	-2,72	9459,00	0,00	1,000
$\delta_{11.6}$	-3,48	9447,00	0,00	1,000	$\delta_{9.72}$	-3,12	9496,00	0,00	1,000
$\delta_{12.6}$	-21,42	6712,00	0,00	0,997	$\delta_{10.72}$	-3,11	9397,00	0,00	1,000
$\delta_{2.12}$	-1,94	9425,00	0,00	1,000	$\delta_{11.72}$	-23,08	11620,00	0,00	0,998
$\delta_{3.12}$	-1,86	9440,00	0,00	1,000	$\delta_{12.72}$	-19,13	6712,00	0,00	0,998

## EXPERIMENTO 2

**Tabela -Estimativas dos parâmetros do modelo de efeito para o percentual de larvas mortas com a aplicação do extrato.**

<b>Coefficiente</b>	<b>Estimativa</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>t value</b>	<b>p-value</b>
$\mu$	16,39	5,09	3,22	0,002 <sup>1</sup>
$\alpha_2$	46,08	7,20	6,40	<0,001 <sup>1</sup>
$\alpha_3$	46,07	7,20	6,40	<0,001 <sup>1</sup>
$\alpha_4$	42,06	7,20	5,84	<0,001 <sup>1</sup>
$\alpha_5$	54,09	7,20	7,51	<0,001 <sup>1</sup>
$\alpha_6$	42,62	7,20	5,92	<0,001 <sup>1</sup>
$\alpha_7$	54,90	7,20	7,62	<0,001 <sup>1</sup>
$\alpha_8$	61,05	7,20	8,48	<0,001 <sup>1</sup>
$\alpha_9$	62,11	7,20	8,62	<0,001 <sup>1</sup>
$\alpha_{10}$	69,39	7,20	9,63	<0,001 <sup>1</sup>
$\alpha_{11}$	80,64	7,20	11,20	<0,001 <sup>1</sup>
$\alpha_{12}$	60,56	7,20	8,41	<0,001 <sup>1</sup>
$\beta_{48}$	-8,31	7,20	-1,15	0,252
$\beta_{72}$	-2,60	7,20	-0,36	0,720
$\alpha\beta_{2,48}$	8,55	10,19	0,84	0,404
$\alpha\beta_{3,48}$	7,54	10,19	0,74	0,462
$\alpha\beta_{4,48}$	11,96	10,19	1,17	0,244
$\alpha\beta_{5,48}$	1,73	10,19	0,17	0,866
$\alpha\beta_{6,48}$	16,17	10,19	1,59	0,117
$\alpha\beta_{7,48}$	10,27	10,19	1,01	0,317
$\alpha\beta_{8,48}$	0,96	10,19	0,09	0,926
$\alpha\beta_{9,48}$	8,30	10,19	0,82	0,418
$\alpha\beta_{10,48}$	8,84	10,19	0,87	0,389

$\alpha\beta_{11.48}$	7,35	10,19	0,72	0,473
$\alpha\beta_{12.48}$	12,98	10,19	1,27	0,207
$\alpha\beta_{2.72}$	11,68	10,19	1,15	0,255
$\alpha\beta_{3.72}$	2,84	10,19	0,28	0,781
$\alpha\beta_{4.72}$	8,09	10,19	0,79	0,430
$\alpha\beta_{5.72}$	5,98	10,19	0,59	0,559
$\alpha\beta_{6.72}$	8,26	10,19	0,81	0,420
$\alpha\beta_{7.72}$	-2,91	10,19	-0,29	0,776
$\alpha\beta_{8.72}$	-2,24	10,19	-0,22	0,827
$\alpha\beta_{9.72}$	-0,39	10,19	-0,04	0,970
$\alpha\beta_{10.72}$	9,84	10,19	0,97	0,337
$\alpha\beta_{11.72}$	0,16	10,19	0,02	0,988
$\alpha\beta_{12.72}$	1,22	10,19	0,12	0,905

<sup>1</sup>P-valor do teste do teste t. Se p-valor<0,05 b é significativo.

Tabela. Teste de Tukey para comparação entre as médias do percentual de larvas mortas dos tratamentos.

Tratamento (I)	Tratamento (J)	Diferença de média (I-J)	Erro padrão	p-valor	IC(95%)	
					Limite Superior	Limite Inferior
1	2	-52,825	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-65,853	-39,796
	3	-49,533	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-62,561	-36,505
	4	-48,743	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-61,771	-35,715
	5	-56,661	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-69,689	-43,632
	6	-50,762	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-63,790	-37,734
	7	-57,352	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-70,380	-44,324
	8	-60,621	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-73,649	-47,593
	9	-64,752	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-77,780	-51,724
	10	-75,618	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-88,646	-62,590
	11	-83,144	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-96,172	-70,116
2	12	-65,288	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-78,316	-52,260
	3	3,292	3,889	0,999	-9,736	16,320
	4	4,082	3,889	0,996	-8,946	17,110
	5	-3,836	3,889	0,998	-16,864	9,192
	6	2,062	3,889	1,000	-10,966	15,090
	7	-4,528	3,889	0,990	-17,556	8,500
	8	-7,796	3,889	0,689	-20,824	5,232
	9	-11,928	3,889	0,106	-24,956	1,100
3	10	-22,793	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-35,821	-9,765
	11	-30,319	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-43,347	-17,291
	12	-12,463	3,889	0,074	-25,491	0,565
	4	0,790	3,889	1,000	-12,238	13,818
	5	-7,128	3,889	0,796	-20,156	5,901
	6	-1,229	3,889	1,000	-14,257	11,799
	7	-7,819	3,889	0,685	-20,847	5,209
	8	-11,088	3,889	0,176	-24,116	1,940
4	9	-15,219	3,889	0,009 <sup>1</sup>	-28,247	-2,191
	10	-26,085	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-39,113	-13,057
	11	-33,611	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-46,639	-20,583
	12	-15,755	3,889	0,006 <sup>1</sup>	-28,783	-2,727
	5	-7,918	3,889	0,668	-20,946	5,110
	6	-2,019	3,889	1,000	-15,048	11,009
	7	-8,610	3,889	0,544	-21,638	4,419
	8	-11,878	3,889	0,109	-24,906	1,150
5	9	-16,010	3,889	0,004 <sup>1</sup>	-29,038	-2,982
	10	-26,875	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-39,903	-13,847
	11	-34,401	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-47,429	-21,373
	12	-16,545	3,889	0,003 <sup>1</sup>	-29,573	-3,517
	6	5,898	3,889	0,932	-7,130	18,926
	7	-0,692	3,889	1,000	-13,720	12,336
5	8	-3,960	3,889	0,997	-16,988	9,068
	9	-8,092	3,889	0,637	-21,120	4,936
	10	-18,957	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-31,985	-5,929
	11	-26,483	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-39,511	-13,455
	12	-8,627	3,889	0,541	-21,655	4,401

	7	-6,590	3,889	0,866	-19,618	6,438
	8	-9,859	3,889	0,332	-22,887	3,169
6	9	-13,990	3,889	0,024 <sup>1</sup>	-27,018	-0,962
	10	-24,856	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-37,884	-11,828
	11	-32,382	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-45,410	-19,354
	12	-14,526	3,889	0,016 <sup>1</sup>	-27,554	-1,498
	8	-3,269	3,889	0,999	-16,297	9,759
7	9	-7,400	3,889	0,754	-20,428	5,628
	10	-18,266	3,889	0,001 <sup>1</sup>	-31,294	-5,237
	11	-25,792	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-38,820	-12,763
	12	-7,936	3,889	0,665	-20,964	5,092
	9	-4,131	3,889	0,996	-17,160	8,897
8	10	-14,997	3,889	0,011 <sup>1</sup>	-28,025	-1,969
	11	-22,523	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-35,551	-9,495
	12	-4,667	3,889	0,988	-17,695	8,361
	10	-10,865	3,889	0,199	-23,893	2,163
9	11	-18,391	3,889	0,000 <sup>1</sup>	-31,419	-5,363
	12	-0,535	3,889	1,000	-13,563	12,493
10	11	-7,526	3,889	0,734	-20,554	5,502
	12	10,330	3,889	0,264	-2,698	23,358
11	12	17,856	3,889	0,001 <sup>1</sup>	4,828	30,884

<sup>1</sup>P-valor do teste de Tukey. Se p-valor<0,05 a diferença de efeito é significativa.

Sendo assim, calculamos o modelo final somente com o variável tratamento, pois, somente esta apresentou significância dos parâmetros no modelo.

O modelo final é dado por:

$$\log\left\{\frac{\pi(x)}{1-\pi(x)}\right\} = \beta_1 + \sum_{i=1}^{12} \alpha_i P_i$$

Onde: P é a variável com relação ao protocolo utilizado;  $\beta_1$  é o intercepto do modelo;  $\alpha_i$  para  $i = 1, \dots, 12$  são parâmetros referentes aos tratamentos;

