

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**VETERINÁRIAS**

**TESE**

**Estudo da Atividade Anti-helmíntica de Extratos de Plantas Sobre Nematóides de Aves *Ascaridia galli* (Schrank, 1788) Freeborn 1923 e *Heterakis gallinarum* (Schrank, 1788) Madsen, 1949.**

**Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno Fernandes**

**2008**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**ESTUDO DA ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA DE EXTRATOS DE  
PLANTAS SOBRE NEMATÓIDES DE AVES *Ascaridia galli*  
(SCHRANK, 1788) FREEBORN 1923 e *Heterakis gallinarum* (SCHRANK,  
1788) MADSEN, 1949.**

**MARIA ZENAIDE DE LIMA CHAGAS MORENO FERNANDES**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Dr. Helcio Resende Borba**

*e Co-orientação do Professor*  
**Dr. Rozeverter Moreno Fernandes**

Dissertação submetida como  
requisito parcial para obtenção do  
grau de **Doutor em Ciências**, no  
Curso de Pós-Graduação em  
Ciências Veterinária, Área de  
Concentração em Parasitologia  
Veterinária

Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2008

F363e Fernandes, Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno, 2008-  
Estudo da Atividade Anti-helmíntica de Extratos de Plantas Sobre Nematóides de  
Aves *Ascaridia galli* (Schrank, 1788) Freeborn 1923 e *Heterakis gallinarum*  
(Schrank, 1788) Madsen, 1949/Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno Fernandes.  
Seropédica: 2008  
82fls.

Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal Rural do Rio de  
Janeiro.

Orientador: Helcio Resende Borba.

1. Plantas Medicinais. 2. Parasitos Intestinais - *Ascaridia galli* - *Heterakis gallinarum*.  
I Título.

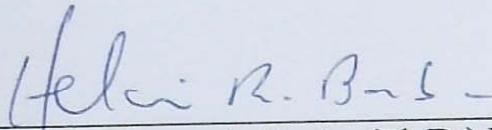
C.D.D. – 581.634

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

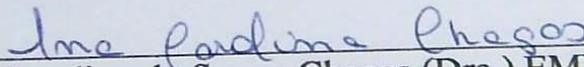
**MARIA ZENAIDE DE LIMA CHAGAS MORENO FERNANDES**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Ciências Veterinárias**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinária, área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

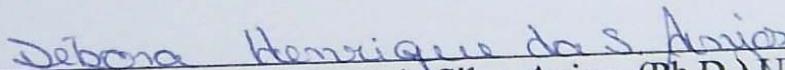
TESE APROVADA EM: 21/02/2008



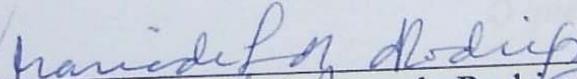
Helcio Resende Borba (Ph.D.) UFRRJ  
(Orientador)



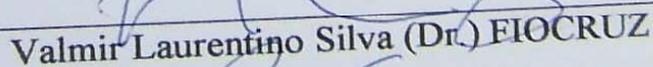
Ana Carolina de Souza Chagas (Dra.) EMBRAPA/SUDESTE



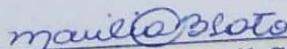
Debora Henrique da Silva Anjos. (Ph.D.) UFRRJ



Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues (Ph.D) UFRRJ



Valmir Laurentino Silva (Dr.) FIOCRUZ



Marília de Carvalho Brasil Sato (Dra.) UFRRJ

*O que é mais difícil não é escrever muito; é  
dizer tudo, escrevendo pouco.*

*(Júlio Dantas)*

*Aprende que com a mesma severidade com que  
julga, você será em algum momento  
condenado.*

*Aprende que o tempo não é algo que possa  
voltar para trás. E você aprende que  
realmente pode suportar... que realmente é  
forte, e que pode ir muito mais longe depois  
de pensar que não se pode mais.*

*E que realmente a vida tem valor e que você  
tem valor diante da vida.*

*(William Shakespeare)*

## DEDICATÓRIA

*A meu pai Francisco Simões das Chagas (in memoriam) por ter sido um amante da vida ao ar livre, buscando na natureza as coisas que lhe dava prazer. Não foi rico materialmente, mas foi um exemplo de vida para todos os filhos. Obrigada meu pai por ter sido um dos colaboradores para que esse meu sonho se realizasse, com o seu conhecimento popular, ajudou-me na coleta das plantas desde meu primeiro trabalho científico. Infelizmente, não teve tempo de participar desta tese, pois Deus o levou enquanto estava aqui terminando meus créditos, sem mesmo ter dado tempo de nos despedirmos. Mas sei que estas em algum lugar me guardando e com muito orgulho de mais essa conquista de sua filha.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro onde fui iniciada no estudo da Medicina Veterinária e hoje possibilitou-me a obtenção deste título que tanto almejei;

À Universidade Federal do Piauí por ter sido responsável pela conclusão de meus estudos em Medicina Veterinária e, pela minha pós-graduação em nível de mestrado e, agora, por ter me dado todas as condições financeiras e materiais para que eu realizasse toda a parte experimental desta tese, e também, por indiretamente ter contribuído para que eu ficasse junto a minha família enquanto concluía meus estudos;

Ao Centro de Ciências Agrárias – CCA/UFPI, pelo apoio técnico e de infraestrutura para a realização deste trabalho, através do Departamento de Morfofisiologia Veterinária do CCA que disponibilizou os laboratórios com equipamentos e material de consumo para realização de nossos trabalhos;

Ao Departamento de Química do Centro de Ciências da Natureza – CCN/UFPI na pessoa da Prof<sup>a</sup>. Dra. MARIANA HELENA CHAVES por ter cedido seus laboratórios, através dos quais preparamos os extratos necessários à nossa pesquisa.

Ao Trópico Ecotonal do Nordeste – TROPEN/CCN/UFPI/Herbário Graziela Barroso na pessoa da Prof<sup>a</sup>. Dra. ROSELI F. MELO DE BARROS pela ajuda na identificação botânica das espécies estudadas nesta pesquisa.

Ao meu orientador Prof. Dr. HELCIO RESENDE BORBA que independente da nossa relação de trabalho, este foi um grande amigo, me apoiando tanto de perto como de longe, não medindo esforços para que todas as tarefas necessárias à realização deste trabalho fossem cumpridas. Agradeço também, a sua esposa MONICA APARECIDA ROBERTO que me recebeu de braços abertos em sua família enquanto estava longe de casa e da minha família.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. ROZEVERTER MORENO FERNANDES por sua dedicação, amor e empenho na realização não só neste trabalho, mas em tudo que se propõe a fazer. Este foi o pilar de sustentação desta tese, não mediu esforço, mesmo que isto tenha significado ficar afastado de sua esposa, sendo pai e mãe de nossas filhas, um exemplo de dedicação.

Aos professores Dr. JOSÉ ALGACI LOPES DA SILVA, Dr. JOSÉ AIRTON RODRIGUES NUNES e Dr. JOSÉ MACHADO MOITA pela inestimável colaboração quanto à estatística deste trabalho.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. MARIA DO SOCORRO PIRES E CRUZ pela colaboração na correção dos abstracts deste trabalho.

A funcionária MARIA ADÁLIA DE SOUSA ROCHA secretária da Coordenação do Curso de Medicina Veterinária do CCA pela sua inestimável colaboração na confecção das cópias desta teses.

Aos alunos de Medicina Veterinária KARLA DOS ANJOS MACENA, VIDELINA DE SOUSA RODRIGUES e MARCOS DANIEL DE SOUSA FERREIRA e ao mestrando DANILO RODRIGUES BARROS BRITO pelo auxílio dado durante a necropsia das aves, colheita dos parasitos, das plantas e preparo dos extratos;

Agradeço a minha família através da matriarca CECÍLIA ALVES DE LIMA CHAGAS que sempre foi o esteio dos filhos, apoiando sempre que alguém necessite dela. Sendo um exemplo de bondade que às vezes chega a ser inocente em seu amor abnegado e sem restrições.

À minha cunhada AURÍLIA CARDOSO e meu irmão GILDÁSIO DE LIMA CHAGAS pelo apoio dado à minhas filhas enquanto estive afastada para cursar os créditos do doutorado.

Agradeço ainda ao meu cunhado WASHINGTON LUIZ FERNANDES e sua esposa SUSANA IANNINI DE AREDE FERNANDES pelo apoio dado recebendo-me em sua casa e disponibilizando toda infraestrutura de informática para que pudesse terminar de escrever esta tese.

Em especial a LEDA MARIA SERRA que assumiu responsavelmente a tarefa de cuidar da minha casa e das minhas filhas como mãe, enquanto eu estava longe. Sem este apoio, esta tarefa seria cumprida com muito mais dificuldades.

E finalmente, à razão de toda luta até a chegada deste momento, minhas filhas MAYARA DE LIMA MORENO FERNANDES E MARIANA DE LIMA MORENO FERNANDES que suportaram minha ausência e compreenderam que tudo pelo qual estava lutando era para que elas tivessem orgulho de sua mãe e tivessem a mim e a seu pai como um exemplo a ser seguido.

## BIOGRAFIA

**MARIA ZENAIDE DE LIMA CHAGAS MORENO FERNANDES**, nascida em 1967, natural de Bayeux - PB. Concluiu o 1º Grau em 1984 e o 2º Grau em 1990. Em 1992 fprovada no concurso vestibular para o curso de Comunicação Social com habilitação em Jornalismo pela Universidade Federal do Piauí e no Curso de Letras pela Universidade Estadual do Piauí, optando pelo jornalismo onde cursou quatro períodos consecutivos, porém em fevereiro de 1994 foi morar na cidade do Rio de Janeiro e não conseguindo transferir o curso foi obrigada a trancá-lo e prestar novo vestibular.

Em janeiro de 1996 foi aprovada no concurso vestibular para o Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense e da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, optando pela última cursou os cinco primeiros semestres e após o término do Doutorado de seu esposo em março de 1998 retornou à cidade de Teresina – Pi, onde em março e agosto de 2001 concluiu o curso de Comunicação Social e de Medicina Veterinária, respectivamente na Universidade Federal do Piauí.

Durante a graduação de Medicina Veterinária foi monitora da disciplina de Farmacologia Veterinária no 2º período de 1998 e 1º período de 1999. Foi bolsista de Iniciação Científica do CNPq de agosto de 1999 a agosto de 2001, recebendo menção honrosa pelo trabalho intitulado: Determinação da toxicidade aguda da *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson (Apocinaceae) em camundongos no IX Seminário de Iniciação Científica da UFPI em novembro de 2000, pesquisa esta que posteriormente foi publicada na Revista Brasileira de Farmácia.

Após formada trabalhou como autônoma na Clínica de Pequenos Animais de 2001 a 2003. Neste período, foi selecionado para o curso de pós-graduação em Ciência Animal com área de concentração Clínica Médico-Cirúrgica de Animais de Interesse Econômico do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí (CCA/UFPI), colando grau no dia 05 de março de 2004, ao defender a dissertação intitulada: Ensaio farmacológico da atividade anti-helmíntica *in vitro* de plantas sobre os nematóides *Ascaridia galli* (Schrank, 1788) Freeborn, 1923 e *Heterakis gallinarum* (Schrank, 1788) Madsen, 1949.

Em Novembro de 2002 durante o XVII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil em Cuiabá, onde apresentou o resumo da monografia do trabalho de conclusão de curso intitulado: Determinação da toxicidade aguda (DL<sub>50</sub>) do extrato aquoso da *Simarouba*

*versicolor* em camundongos teve seu trabalho selecionado para publicação pelo editor chefe da Revista Brasileira de Plantas Mediciniais.

Em janeiro de 2004 foi selecionada para o curso de pós-graduação em Ciências Veterinárias na área de concentração Parasitologia Veterinária em nível de Doutorado, e aos 14 dias do mês de março viajou para o Rio de Janeiro onde fez todos os créditos referentes às disciplinas do doutorado durante o primeiro semestre. Em julho do mesmo ano retornou ao Piauí, onde durante os três anos seguintes realizou seu experimento na Universidade Federal do Piauí, mais precisamente no laboratório de Ciências Fisiológicas do departamento de Morfofisiologia Veterinária (DMV) do CCA concluindo o Doutorado no dia 21 de fevereiro de 2008.

No período de janeiro a setembro de 2006 foi professora substituta das disciplinas Microbiologia Veterinária I e II do departamento de Morfofisiologia Veterinária da UFPI.

Atualmente, desde março de 2007, é professora substituta da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual do Piauí, onde ministra disciplina de Farmacologia e Farmacoterapia para o curso de Medicina. Também é professora efetiva do Instituto de Ensino Superior Múltiplo para o curso de Zootecnia ministrando as disciplinas Parasitologia Zootecnia e Microbiologia e Imunologia Básica.

## RESUMO

FERNANDES, Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno. **Estudo da Atividade Anti-helmíntica de Extratos de Plantas Sobre Nematóides de Aves *Ascaridia galli* (Schrank, 1788) Freeborn 1923 e *Heterakis gallinarum* (Schrank, 1788) Madsen, 1949.** 2008. 101p Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária) Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

Os ensaios farmacológicos foram conduzidos de março de 2004 a janeiro de 2007 no Anexo do Biotério Experimental do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Piauí (UFPI). A matéria vegetal foi coletada nos Estados do Piauí e Maranhão e identificadas no Herbário Graziela Barroso (UFPI). Determinou-se a atividade anti-helmíntica “*in vitro*” dos extratos aquosos (EA) e etanólicos (EE) das plantas *Annona squamosa*, *Hymenaea courbaril*, *Operculina macrocarpa*, *Simarouba versicolor* e *Scoparia dulcis* sobre *Ascaridia galli* e “*in vivo*” sobre os nematóides *Ascaridia galli* e *Heterakis gallinarum*. Os testes “*in vitro*” foram realizados em helmintos adultos, machos/fêmeas, coletadas do intestino delgado de aves necropsiadas. Os parasitos foram colocados em placas de Petri, divididos em grupos de dez/placa com três repetições para cada concentração. Estas continham os extratos nos volumes de 2, 4, 8, 16 e 32 mL acrescidos de 58, 56, 52, 44 e 28 mL da solução de “Tyrode”, completando um volume final de 60 mL/placa. As placas foram incubadas em B.O.D. a 37°C ( $\pm 1$ ) e observadas a cada 24 h. totalizando 96 h. Neste período verificou-se o percentual de mortalidade, sendo considerados mortos aqueles com perda de motilidade após leve pressão. Na avaliação da atividade anti-helmíntica “*in vivo*” utilizou-se 108 aves adultas, com peso médio de 1,5 kg, divididas em grupos de seis animais, sendo constituídos 14 grupos testes, um controle positivo (piperazina tetrahidratada), três grupos controles negativos: água destilada para o extrato aquoso e DMSO e Tween 80 para o extrato etanólico, num total de 18 grupos. Os resultados foram avaliados por meio da análise de variância do percentual médio de mortalidade ao longo do tempo (SAEG e SAS). Os maiores percentuais de mortalidade obtidos no teste “*in vitro*” sobre *A. galli* foram registrados no EA da sumidade florida de *S. dulci* e de *A. squamosa* sendo 30,7% e 66,7%, respectivamente. Quanto ao EE este foi mais eficaz para *H. courbaril*, caule da *S. dulci*; *O. macrocarpa* e *S. versicolor* com percentuais de 70,7%; 46,0%; 38,7% e 26,7%, respectivamente. Nos testes “*in vivo*” o EA de *A. squamosa* foi o que apresentou maior percentual de eliminação de *A. galli* (38,95%). O EA também foi o mais eficaz para a sumidade florida, caule e raiz de *S. dulci* e para *S. versicolor* eliminando 28,68%, 21,38%, 36,23% e 19,32%, respectivamente. As plantas *O. macrocarpa* e *H. courbaril* não apresentaram diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os extratos com percentuais de eliminação para o EA de 23,64% e 24,5% e para o EE de 22,4% e 27,03%, respectivamente. Nos testes com *H. gallinarum* os percentuais de eliminação foram insignificantes para maioria das plantas, onde apenas *S. versicolor* teve percentuais de eliminação mais expressivos com 20,22% para o EA e 29,15% para o EE e ainda, a *A. squamosa*, que confirmando os testes “*in vitro*” teve no EA sua melhor ação com 20,60% de eliminação. Estes resultados sugerem que embora os percentuais de eliminação do teste “*in vivo*” tenham sido inferiores àqueles obtidos no teste “*in vitro*”, eles confirmaram que *A. galli* foi mais sensível aos tratamentos que *H. gallinarum* provalmente pela localização do segundo (ceco) e que as substâncias responsáveis pela ação sobre *A. galli* estavam presentes na sua maioria na fração aquosa e sobre *H. gallinarum* na fração alcoólica.

**PALAVRAS-CHAVE:** Atividade anti-helmíntica, extratos, plantas, *A. galli*, *H. gallinarum*

## ABSTRACT

FERNANDES, Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno. **Study of Antihelmintic Activity the of Extracts from Plants on Nematodes of Chicken *Ascaridia galli* (Schrank, 1788) Freeborn 1923 and *Heterakis gallinarum* (Schrank, 1788) Madsen, 1949.** 2008. 101p. Thesis (Doctor of Veterinary Science, Veterinary Parasitology) Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

The pharmacological tests were conducted from March 2004 to January 2007 in the Annex to the Biotério Experimental Center of Agricultural Sciences (CCA) at the Universidade Federal of Piauí (UFPI). The plant material was collected in the states of Piauí and Maranhão, and identified by a botanist from the Graziela Barroso Herbarium (CCN/UFPI). It was determined the antihelmintic activity “*in vitro*” of aqueous (AE) and ethanolic (EE) extracts of the plants *Annona squamosa*, *Hymenaea courbaril*, *Operculina macrocarpa*, *Simarouba versicolor* and *Scoparia dulcis* on *Ascaridia galli* and “*in vivo*” on the nematodes *Ascaridia galli* and *Heterakis gallinarum*. The “*in vitro*” tests were performed in adults helminth, male/female, collected the small intestine of chicken necropsied. Parasites were placed in Petri plates, divided into groups of ten/plates with three replicates for each concentration. These contain the extracts in volumes of 2, 4, 8, 16 and 32mL plus of 58, 56, 52, 44 and 28 mL of the Tyrode solution completing a volume of 60 mL/plate. The plates were incubated in B.O.D. at 37 ° C ( $\pm$  1) and observed each 24 h, totaling 96 h. In this period there was the percentage of mortality and were considered dead those parasites with loss of motility after mild pressure. “*In vivo*” assays anthelmintic activity used up 108 adult chicken, with average weight of 1.5 kg, divided in 14 test groups of six animals. We used one positive control group (piperazine tetrahydrate), three negative controls groups: distilled water for aqueous extract and DMSO and Tween 80 to ethanolic extract, a total of 18 groups. The results were evaluated by analysis of variance of the average percentage of mortality over time (SAEG and SAS). The higher percentage of “*in vitro*” mortality test on the *A. galli* were registered as AE's sumidade florida of *S. dulcis* and *A. squamosa* being 30.7% and 66.7% respectively, while the EE was more effective for the *H. courbaril*, stem from the *S. dulcis*; *O. macrocarpa* and *S. versicolor* with percentage of 70.7%, 46.0%, 38.7% and 26.7%, respectively. “*In vivo*” tests in the AE of *A. squamosa* presented the greatest percentage of elimination of *A. galli* (38.95%). The AE also was the most effective for sumidade florida, stem and root of *S. dulcis* and for the *S. versicolor* removing 28.68%, 21.38% 36.23% and 19.32%, respectively. The plants *O. macrocarpa* and *H. courbaril* showed no significant difference ( $P > 0.05$ ) between the percentage of extracts with the elimination for AE of 23.64% and 24.5% and the EE of 22.4% and 27.03% respectively. In tests with *H. gallinarum* the percentage of elimination were insignificant for most plants, where only the *S. versicolor* had percentuals elimination of more expressive with 20.22% for EA and 29.15% for EE and for *A. squamosa*, confirming “*in vitro*” results, AE had his best action with 20.60% of elimination. These results suggest that although the percentage of elimination of the test “*in vivo*” have been lower than “*in vitro*” test, they confirmed that the *A. galli* was more sensitive to treatment than *H. gallinarum* probably because this parasite stay at cecum and the substances responsible for action on the *A. galli* were present mostly in aqueous fraction and the *H. gallinarum* in alcoholic fraction.

**KEYWORDS:** Antihelmintic activity, extract, plants, *A. galli*, *H. gallinarum*

## LISTA DE ABREVIACOES E SIMBOLOS

AS	<i>Annona squamosa</i>
B.O.D.	Biochemical Oxygen Demand
CL	caule
CFMV	Conselho Federal de Medicina Veterinária
DL <sub>50</sub>	Dose Letal Mediana
EA	Extrato aquoso
EE	Extrato etanólico
DMSO	Dimetil sulfóxido
EAAS	Extrato aquoso de <i>Annona squamosa</i>
EEAS	Extrato etanólico de <i>Annona squamosa</i>
EAHC	Extrato aquoso de <i>Hymenaea courbaril</i>
EEHC	Extrato etanólico de <i>Hymenaea courbaril</i>
EAOM	Extrato aquoso de <i>Operculina macrocarpa</i>
EEOM	Extrato etanlico de <i>Operculina macrocarpa</i>
EASF	Extrato aquoso da sumidade florida
EESF	Extrato etanlico da sumidade florida
EACL	Extrato aquoso do caule
EECL	Extrato etanlico do caule
EARZ	Extrato aquoso da raiz
EERZ	Extrato etanlico da raiz
EASDSF	Extrato aquoso de <i>Scoparia dulcis</i> sumidade florida
EESDSF	Extrato etanólico de <i>Scoparia dulcis</i> sumidade florida
EASDCL	Extrato aquoso de <i>Scoparia dulcis</i> caule
EESDCL	Extrato etanólico de <i>Scoparia dulcis</i> caule
EASDRZ	Extrato aquoso de <i>Scoparia dulcis</i> raiz
EESDRZ	Extrato etanólico de <i>Scoparia dulcis</i> raiz
GABA	cido gama-aminobutírico
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
HC	<i>Hymenaea courbaril</i>
OM	<i>Operculina macrocarpa</i>
PA	Para análise
PPZ	Piperazina
RZ	Raiz
SD	<i>Scoparia dulcis</i>
SF	Sumidade Florida
SV	<i>Simarouba versicolor</i>
SAEG	Sistema para Análises Estatísticas e Genética
SAS	Statistical Analysis System
TROPEN	Trópico ecotonal do Noredeste
UFPI	Universidade Federal do Piaul

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1. Plantas Medicinais: Histórico Cultural da Sua Utilização e Perspectivas Atuais.....	03
2.2. Potencialidades Medicinais das Plantas Estudadas.....	04
2.2.1. <i>Annona squamosa</i> L. (1753).....	04
2.2.2. <i>Hymenea courbaril</i> L. (1753) .....	06
2.2.3. <i>Operculina macrocarpa</i> (L.) Urb. ,1902.....	08
2.2.4. <i>Scoparia dulcis</i> L. (1753).....	10
2.2.5. <i>Simarouba versicolor</i> St. Hill (1824-28) .....	12
2.3. O problema das helmintíases aviárias.....	14
2.4. Principais Agentes Etiológicos da Ascarirose Aviária.....	15
2.4.1. <i>Ascaridia galli</i> (Schrank, 1788), Freeborn, 1923.....	15
2.4.1.1. Patogenia e Resistência do nematóide <i>A. galli</i> .....	17
2.4.2. <i>Heterakis gallinarum</i> (Schrank, 1788) Madsen, 1949.....	18
2.4.2.1. Patogenia, diagnóstico e controle.....	19
 CAPITULO I: Avaliação farmacológica da atividade anti-helmíntica “ <i>in vitro</i> ” de extratos de plantas sobre nematóide <i>Ascaridia galli</i> (Schrank, 1788) Freeborn(1923).....	21
RESUMO.....	21
ABSTRACT.....	22
1. INTRODUÇÃO.....	23

<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>25</b>
<b>2.1. Procedimentos Preliminares.....</b>	<b>25</b>
<b>2.1.1. Obtenção da Matéria Vegetal.....</b>	<b>25</b>
<b>2.1.2. Preparo dos Extratos.....</b>	<b>25</b>
<b>2.1.3. Determinação do peso seco.....</b>	<b>26</b>
<b>2.2. Atividade anti-helmíntica “in vitro”.....</b>	<b>26</b>
<b>3. RESULTADO E DISCUSSÃO.....</b>	<b>28</b>
<b>3.1. <i>Annona squamosa</i> .....</b>	<b>30</b>
<b>3.2. <i>Hymenaea courbaril</i>.....</b>	<b>32</b>
<b>3.3. <i>Operculina macrocarpa</i>.....</b>	<b>34</b>
<b>3.4. <i>Scoparia dulcis</i> .....</b>	<b>36</b>
<b>3.5. <i>Simarouba versicolor</i>.....</b>	<b>40</b>
<b>4. CONCLUSÕES.....</b>	<b>42</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>43</b>
<b>CAPITULO II: Avaliação farmacoterapêutica da atividade anti-helmíntica “in vivo” de</b>	
<b>plantas sobre os nematóides <i>Ascaridia galli</i> (Schrank, 1788) Freeborn 1923</b>	
<b>e <i>Heterakis gallinarum</i> (Schrank, 1788) Madsen, 1949.....</b>	<b>45</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>45</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>46</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>47</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>48</b>
<b>2.1. Procedimentos Preliminares.....</b>	<b>48</b>
<b>2.1.1. Obtenção da Matéria Vegetal.....</b>	<b>48</b>
<b>2.1.2. Preparo dos Extratos.....</b>	<b>49</b>
<b>2.1.3. Determinação do peso seco.....</b>	<b>49</b>

2.1.4. Manutenção das aves.....	50
2.2. Atividade anti-helmíntica “ <i>in vivo</i> ”.....	50
3. RESULTADO E DISCUSSÃO.....	53
3.1. Identificação, prevalência e carga parasitária.....	53
3.2. Efeito dos extratos das plantas sobre <i>A. galli</i> e <i>H. gallinarum</i> comparados aos seus controles negativos e positivo.....	54
3.2.1. Efeito da <i>Annona squamosa</i> sobre o <i>A. galli</i> e <i>H. gallinarum</i> .....	54
3.2.2. Efeito da <i>Hymenaea courbaril</i> sobre o <i>A. galli</i> e <i>H. gallinarum</i> .....	58
3.2.3. Efeito da <i>Operculina macrocarpa</i> sobre o <i>A. galli</i> e <i>H. gallinarum</i> .....	60
3.2.3. Efeito da <i>Scoparia dulcis</i> sobre <i>A. galli</i> e <i>H. gallinarum</i> .....	61
3.2.4. Efeito da <i>Simarouba versicolor</i> sobre <i>A. galli</i> e <i>H. gallinarum</i> .....	64
4. CONCLUSÕES.....	66
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	70
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS.....	71

## INDICE DE FIGURAS

### REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1.** Características botânicas da *Annona squamosa*, L (A= Arvore da *A. squamosa*; B= Folhas; C= Fruto; D = Excicata).....**05**
- Figura 2.** Caracterização botânica da *Hymenaea courbaril*, L. (A= Arvore da *H. courbaril*; B= Tronco; C = Fruto verde, D= Folhas e frutos, E= Excicata e F = Fruto, Folha e semente).....**07**
- Figura 3.** Caracterização botânica da *Operculina macrocarpa*, L. Urb (A e B= Ramas da *O. macrocarpa*; B e C = Folha, flores e botões D e E= Raiz).....**09**
- Figura 4.** Caracterização botânica da *Scoparia dulcis*, L. (A = Arbusto da *S. dulcis*; B = Folha e flores; C= Sumidade Florida; D= Raiz e E = Excicata).....**11**
- Figura 5.** Caracterização botânica da *Simarouba versicolor*, St. Hill (A = Arvore da *S. versicolor*; B = Folha ; C= Fruto D= Excicata). .....**13**
- Figura 6.** Fotomicrografia da extremidade anterior e posterior e ovo do *Ascaridia galli* (Schrank, 1788), Freeborn, 1923 (Lactofenol, 100X (A e B) e 400X (C e D)).....**16**
- Figura 7.** Fotomicrografia da extremidade anterior, posterior e do ovo de *Heterakis gallinarum* Schrank, 1788), Madsen, 1949 (Lactofenol, 100X (A e C) e 400X (B)).....**19**

## CAPÍTULO I

- Figura 1.** Necropsia das aves, coleta dos parasitos e aplicação dos testes *in vitro*.....27
- Figura 2.** Percentual médio de mortalidade do *Ascaridia galli* tratado com os extratos aquoso e etanólico da folha de *Annona squamosa* com seus respectivos controles.....30
- Figura 3.** Efeito acumulado do extrato aquoso (mg/mL) da folha de *Annona squamosa* sobre *Asacridia galli*.....31
- Figura 4.** Efeito acumulado do extrato etanólico (mg/mL) da folha de *Annona squamosa* sobre *Ascaridia galli*.....31
- Figura 5.** Percentual médio de mortalidade de *Ascaridia galli* tratado com os extratos aquosos e etanólicos da casca de *Hymenaea courbaril* com seus respectivos controles.....32
- Figura 6.** Efeito acumulado do extrato aquoso (mg/mL) da casca de *Hymenaea courbaril* sobre *Ascaridia galli*.....33
- Figura 7.** Efeito acumulado do extrato etanólico (mg/mL) da casca de *Hymenaea courbaril* sobre *Ascaridia galli*.....33
- Figura 8.** Percentual médio de mortalidade de *Ascaridia galli* tratado com os extratos aquosos e etanólicos do tubérculo da *Operculina macrocarpa* com seus respectivos controles.....34
- Figura 9.** Efeito acumulado do extrato aquoso (mg/mL) do tubérculo da *Operculina macrocarpa* sobre *Acaridia galli*.....35
- Figura 10.** Efeito acumulado do extrato etanólico (mg/mL) do tubérculo da *Operculina macrocarpa* sobre *Ascaridia galli*.....35

- Figura 11.** Percentual médio de mortalidade de *Ascaridia galli* tratado com os extratos aquosos e etanólicos da sumidade florida, caule e raiz da *Scoparia dulcis* com seus respectivos controles.....**36**
- Figura 12.** Efeito acumulado do extrato aquoso (mg/mL) da sumidade florida da *Scoparia dulcis* sobre *Ascaridia galli*.....**37**
- Figura 13.** Efeito acumulado do extrato etanólico (mg/mL) da sumidade florida da *Scoparia dulcis* sobre *Ascaridia galli*.....**37**
- Figura 14.** Efeito acumulado do extrato aquoso (mg/mL) do caule da *Scoparia dulcis* sobre *Ascaridia galli*.....**38**
- Figura 15.** Efeito acumulado do extrato etanólico (mg/mL) do caule da *Scoparia dulcis* sobre *Ascaridia galli*.....**38**
- Figura 16.** Efeito acumulado do extrato aquoso (mg/mL) da raiz da *Scoparia dulcis* sobre *Ascaridia galli*.....**39**
- Figura 17.** Efeito acumulado do extrato etanólico (mg/mL) da raiz da *Scoparia dulcis* sobre *Ascaridia galli*.....**39**
- Figura 18.** Percentual médio de mortalidade de *Ascaridia galli* tratado com os extratos aquosos e etanólicos da casca da *Simarouba versicolor* com seus respectivos controles.....**40**
- Figura 19.** Efeito acumulado do extrato aquoso (mg/mL) da casca da *Simarouba versicolor* sobre *Ascaridia galli*.....**41**
- Figura 20.** Efeito acumulado do extrato etanólico (mg/mL) da casca da *Simarouba versicolor* sobre *Ascaridia galli*.....**41**

## CAPÍTULO II

- Figura 1.** Esquema diapositivo da gaiola de manutenção das aves durante a realização dos testes de avaliação anti-helmíntica. ....51
- Figura 2.** Diagnóstico da infecção, manutenção das aves em experimentação, necropsia e coleta do material após administração das substâncias durante avaliação anti-helmíntica in vivo.....52
- Figura 3.** Efeito acumulado dos extratos aquoso (mg/mL) e etanólico da folha de *Annona squamosa* na eliminação de *Ascaridia galli* ao longo do tempo.....57
- Figura 4.** Efeito acumulado dos extratos aquoso e etanólico (mg/mL) da folha de *Annona squamosa* na eliminação de *Heterakis gallinarum* ao longo do tempo.....58
- Figura 5.** Efeito acumulado dos extratos aquoso e etanólico (mg/mL) da casca de *Hymenaea courbaril* na eliminação de *Ascaridia galli* ao longo do tempo.....59
- Figura 6.** Efeito acumulado dos extratos aquoso e etanólico (mg/mL) da casca de *Hymenaea courbaril* na eliminação de *Heterakis gallinarum* ao longo do tempo.....59
- Figura 7.** Efeito acumulado dos extratos aquoso e etanólico (mg/mL) da casca de *Operculina macrocarpa* na eliminação de *Ascaridia galli* ao longo do tempo.....60
- Figura 8.** Efeito acumulado dos extratos aquoso e etanólico (mg/mL) da casca de *Operculina macrocarpa* ao longo do tempo.....61

- Figura 9.** Efeito acumulado do extrato aquoso (mg/mL) das diferentes partes de *Scoparia dulcis* na eliminação de *Ascaridia galli* ao longo do tempo.....62
- Figura 10.** Efeito acumulado do extrato etanólico (mg/mL) das diferentes partes de *Scoparia dulcis* na eliminação de *Ascaridia galli* ao longo do tempo.....62
- Figura 11.** Efeito acumulado do extrato aquoso (mg/mL) das diferentes partes de *Scoparia dulcis* na eliminação de *Heterakis gallinarum* ao longo do tempo.....63
- Figura 12.** Efeito acumulado do extrato etanólico (mg/mL) das diferentes partes de *Scoparia dulcis* na eliminação de *Heterakis gallinarum* ao longo do tempo.....63
- Figura 13.** Efeito acumulado dos extratos aquoso e etanólico (mg/mL) da casca de *Simarouba versicolor* na eliminação de *Ascaridia galli* ao longo do tempo.....65
- Figura 14.** Efeito acumulado dos extratos aquoso e etanólico (mg/mL) da casca de *Simarouba versicolor* na eliminação de *Heterakis gallinarum* ao longo do tempo.....65

## INDICE DE QUADROS E TABELAS

### CAPÍTULO I

- Quadro 1.** Identificação das espécies estudadas e os números de registros das excicatas depositadas no Herbário Graziela Barroso do TROPEN.....**25**
- Tabela 1.** Concentração em mg/ml dos extratos aquoso e etanólico determinada a partir do peso seco.....**28**
- Tabela 2.** Percentuais médios de mortalidade de *A. galli* dos extratos aquosos e etanólicos das plantas *A. squamosa*, *H. courbaril*, *O. macrocarpa* e *S. versicolor* .....**29**

### CAPÍTULO II

- Quadro 1.** Identificação botânica, parte usada e tipo de extrato das espécies estudadas com suas respectivas excicatas de depósito no Herbário Graziela Barroso do TROPEN.....**49**
- Tabela 1.** Concentração em mg/mL dos extratos aquoso e etanólico determinada a partir do peso seco.....**53**
- Tabela 2.** Influência dos extratos de plantas, dos solventes e da piperazina na eliminação de *Ascaridia galli*.....**55**
- Tabela 3.** Influência dos extratos de plantas, dos solventes e da piperzina na eliminação de *Heterakis gallinarum*.....**56**

## 1. INTRODUÇÃO

A produção de frangos e ovos vem crescendo em importância no Brasil desde a década de 70, que alcançou o patamar de maior exportador mundial de carne de frango. Além disso, atualmente, verifica-se um aumento da criação em sistemas orgânicos e outros não intensivos. Entretanto, estas criações são afetadas por várias mudanças no manejo, tais como acesso a áreas de pasto, proibição no uso de medicamentos preventivos, incluindo antiparasitários. Tal modelo implica no aperfeiçoamento do manejo e alimentação das aves, uma vez que tendo acesso a piquetes terão contato com ovos, larvas e hospedeiros intermediários de diversos helmintos (TRAMSBORG et al., 1999).

Permin et al. (1999) verificando a prevalência de helmintos gastrintestinais em diferentes sistemas de produção, registrou no sistema orgânico uma prevalência de 72,5% e 63,8%; no sistema intensivo (convencional) 19,4% e 41,9% e na criação em gaiolas 0% e 5% dos nematóides *Heterakis gallinarum* e *Ascaridia galli*, respectivamente. Isto demonstra como o tipo de manejo afeta a condição sanitária dos lotes. De acordo com vários estudos de prevalência de helmintos gastrointestinais realizados em várias regiões do mundo, pode-se observar que o *H. gallinarum* é um dos mais comuns, juntamente com *A. galli*, *Raillietina ssp.* e *Capilaria sp.* Dentro da perspectiva da criação orgânica de frangos a utilização de plantas medicinais aparece como uma alternativa no controle das helmintíases aviárias, já que o manejo não permite o uso de anti-helmínticos sintéticos.

Embora o uso de plantas tenha passado por um momento de ostracismo devido à evolução da indústria farmacêutica baseada na produção de medicamentos comerciais, momentos de grandes transformações e mudanças de paradigmas vêm ocorrendo. As novas tendências globais de uma preocupação com a biodiversidade e as idéias de desenvolvimento sustentável trouxeram novos ares ao estudo das plantas medicinais brasileiras. Novas linhas de pesquisas foram estabelecidas em universidades brasileiras, algumas delas buscando bases sólidas para a validação do uso de plantas medicinais (LORENZI; MATOS, 2002).

Na área farmacêutica, as plantas e os extratos vegetais foram e continuam sendo de grande relevância, tendo em vista a utilização das substâncias ativas como protótipos para o desenvolvimento de fármacos e como fonte de matérias-primas farmacêuticas, tanto para a obtenção de fármacos (que são as substâncias ativas isoladas), como para a obtenção de adjuvantes (produtos utilizados na formulação de medicamentos) ou, ainda, de medicamentos elaborados exclusivamente à base de extratos vegetais: os medicamentos fitoterápicos (SCHENKEL et al., 2001).

Segundo CARVALHO (2004) no Brasil se conhece cerca de 120.000 espécies de plantas superiores, sendo que vários destes vegetais tiveram importante papel, sendo utilizados pelos indígenas, como remédio para seus males ou como veneno em suas guerras e caçadas. Considerado um dos países com maior diversidade vegetal, abrigando 55 mil espécies catalogadas (DIAS, 1996). País igualmente rico em diversidade cultural, estima-se que 4.000 espécies vegetais sejam usadas com fins medicinais, resultado da observação e manejo da flora por povos tradicionais. SIMÕES et al., (1986) afirmam que a utilização de plantas medicinais é uma prática generalizada na medicina popular e, no Brasil, as contribuições dos índios, escravos e imigrantes, representaram papel importante para o surgimento de uma medicina popular rica e original, na qual a utilização de plantas ocupa lugar de destaque.

Sabendo-se das potencialidades de nossa flora, já nos anos 80, observa-se um aumento no entusiasmo em relação ao uso de plantas medicinais e seus extratos na saúde animal e

humana. Este fato pode ser entendido pela sua aceitabilidade, derivada da inserção cultural e pela disponibilidade desses recursos, o que contribui para o crescimento das pesquisas nesta área, o contrário do que ocorre com outros medicamentos, que na sua maioria são dependentes de matéria prima e tecnologias externas (SCHENKEL *et al.*, 1985; SIMÕES *et al.*, 1986)

Vários levantamentos etnobotânico têm sido realizados por pesquisadores, estes têm dado subsídios para diversas pesquisas nas mais variadas áreas do conhecimento. Rodrigues e Carvalho (2001) em de plantas medicinais no cerrado de Minas Gerais identificaram as seguintes plantas que são citadas como tendo atividade vermífuga: *Bracchiaris trimera* (carqueja), *Senna occidentalis* (fedegoso), *S. rugosa* (raiz-preta), *Melancium campestre* (melancia do campo), *Peldoton radicans* (alevante), *P. tomentosus* (hortelã-do-campo), *Solanum cernuum* (panacéia) e o *Stachytarphetta cayennensis* (gervã-azul). No mesmo caminho, Franco e Barros (2006) em levantatamento etnobotânico na comunidade quilombola de Olho D' água do Pires em Esperantina - PI verificou que 14,8% da espécies citadas pela comunidade eram usadas contra helmintíase, infecções intestinais e hepáticas e Marinho *et al.* (2007) trabalhando com produtores rurais no município de Patos- PB identificou plantas usadas no tratamento de animais sendo resgatadas pela Medicina Veterinária.

No entanto, embora muitas plantas sejam listadas como tendo atividade anti-helmíntica poucas têm sido submetidas a uma avaliação científica para determinar seu potencial terapêutico. Necessita-se, também, de uma padronização biológica e de um estudo químico que possibilite não apenas a identificação de princípios ativos, mas a melhoria do processo de obtenção dos mesmos com um maior rendimento (FERNANDES, 1998).

Dentro desta perspectiva e baseados em levantamentos etnobotânicos realizados por diversos pesquisadores, bem como observando o uso popular quanto às plantas que são listadas como tendo atividade anti-helmíntica fez-se a seleção, para este estudo, das plantas *Annona squamosa*, *Operculina macrocarpa*, *Scoparia dulcis*, *Hymenea courbaril* e *Simarouba versicolor*. Assim, este trabalho teve como objetivo determinar a atividade anti-helmíntica destas plantas sobre os nematóides *H. gallinarum* e *A. galli*.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Plantas Medicinais: Histórico cultural da sua utilização e perspectivas atuais

A origem do uso das plantas medicinais pelo homem remonta da pré-história. Registros arqueológicos provam que, há milênios, diversos povos, principalmente os orientais, conheciam o poder das plantas, seja como substâncias aromáticas, óleos essenciais, remédios, venenos ou expansoras da consciência. O Conhecimento histórico do uso de plantas medicinais nos mostra ao longo da história da humanidade que pela própria necessidade desta, as plantas foram os primeiros recursos terapêuticos utilizados. (FROÉS; ROCHA, 1998). Segundo Oliveira e Silva (1994) o descobrimento das propriedades curativas foi meramente intuitivo ou pela observação dos animais quando doentes que buscavam nas ervas a cura para as suas afecções.

Secularmente conhecido e aplicado nas diferentes culturas em todo mundo o uso de plantas sofreu profundas alterações diante da introdução da terapêutica sintética e altamente industrializada do século XX. Neste contexto mundial, as indústrias farmacêuticas brasileiras foram, em sua maioria, desativadas ou substituídas por empresas multinacionais, modificando então a prática médico-terapêutica que se afastou e, mesmo, negligenciou a utilização das plantas medicinais (FERNANDES, 2004d).

Dentro desta perspectiva, as plantas medicinais perderam a importância e passaram a ser utilizadas somente como terapia alternativa no Brasil, e em outros países do terceiro mundo, onde cerca de 70 a 80% da população não tem acesso à assistência farmacêutica, mesmo possuindo quatro quintos da população só produz 10% e consome 14% dos medicamentos desenvolvidos (CARVALHO, 2004).

No entanto, a investigação acadêmica na área de plantas medicinais no Brasil expandiu e consolidou-se a partir do séc. XX e está relacionada à implementação de instituições de pesquisa e à organização das disciplinas que estudam, principalmente à botânica, à química e a farmacologia (FERNANDES, 2004d).

Desta forma, no decorrer das últimas décadas observa-se em vários países uma diversificação do quadro, recolocando os produtos naturais no contexto da disputa pelo mercado farmacêutico e ampliando, também o leque de pesquisas desenvolvidas. No Brasil, pelo menos no que diz respeito à produção de conhecimento na área, percebe-se a implantação de grupos de pesquisa e de importantes linhas de investigação, em universidades e instituições de pesquisa, verificando-se, no entanto, uma profunda distância entre o conhecimento produzido e sua aplicação industrial (FERNANDES, 2004d).

No entanto, o uso popular e mesmo o tradicional não são suficientes para validar as plantas medicinais como medicamentos eficazes e seguros. Neste sentido, as plantas medicinais não se diferenciam de qualquer outro xenobiótico sintético e sua preconização. A autorização oficial do seu uso medicamentoso deve ser fundamentada em evidências experimentais comprobatórias de que o risco a que se expõem àqueles que a utilizam é suplantado pelos benefícios que possam advir (BRASIL, Ministério da Saúde, 1995).

Assim, o conhecimento da diversidade existente e o estabelecimento de estratégias de utilização das plantas medicinais, ainda se constituem em uma área de pesquisa relativamente recente no país. Ao mesmo tempo, o número de pesquisadores dedicados ao estudo das plantas medicinais ainda é muito reduzido se comparado com as espécies que necessitam de estudos (GOTLIEB; BORIN, 1997).

Atualmente a biodiversidade das florestas tropicais constitui-se na principal fonte de biomoléculas para produção industrial de medicamentos, cuja venda, em nível mundial, chega a 30 bilhões de dólares anuais, mercado em ampla expansão (SEARS, 1995). No Brasil, o crescimento do mercado de medicamentos fitoterápicos é da ordem de 15% ao ano, enquanto o crescimento anual do mercado de medicamentos sintéticos gira em torno de 3 a 4% (ABIFITO, 2002).

Assim, as plantas são fontes importantes de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem em modelos para síntese de um grande número de fármacos, revlando diversidade em termos de estrutura e de propriedades físico-químicas e biológicas (WALL; WANI, 1996). Apesar do aumento de estudos nessa área, os dados disponíveis revelam que apenas 15 a 17% das plantas foram estudadas quanto ao seu potencial medicinal (SOERJATO, 1996). No mesmo sentido, Gottlieb & Boran (2001), complementam que somente uma base científica é capaz de integrar as duas visões parciais da informação popular e tecnológica, permitindo que descrições etnobotânicas possam ter validade preditiva. No entanto, esse objetivo apresenta dois novos grandes desafios. O primeiro é integrar o conhecimento etnobotânico e científico na linguagem químico-biológica vegetal, buscando tendências e padrões e o segundo determinar os mecanismos químicos responsáveis pela bioatividade, levando-se em consideração que este procedimento envolve uma transdisciplinaridade, afetando diretamente o resultado final das pesquisas.

Atualmente no Brasil, a produção de plantas medicinais ainda encontra-se, em sua maioria, no sistema de cultivo de fundo de quintal ou exploração predatória. Porém, nos últimos anos, verifica-se um maior interesse de universidades, empresas de pesquisas e outros órgãos governamentais e não governamentais na produção de plantas medicinais (FRANÇA, *et al.*, 2002). Desta forma, muito ainda há por se fazer em termos de domesticação, tecnologia de produção, manejo das populações naturais, processamento, controle de qualidade e principalmente, estabelecer protocolos de pesquisa científica que sejam capazes de garantir a idoneidade das informações científicas (SIMÕES *et al.*, 2003).

As plantas também aparecem como uma opção na substituição de anti-helmínticos comerciais que tenham levado ao estabelecimento de resistência. De acordo com Hammond *et al.*, (1997) os produtos sintéticos apresentam algumas desvantagens, tais como: custo elevado, indução de resistência, poluição do meio ambiente e contaminação dos alimentos através dos resíduos. Observando tais circunstâncias e dependendo de sua eficácia, as plantas consideradas na medicina veterinária como anti-helmínticas oferecem uma alternativa que poderia superar alguns desses problemas. Desta forma, muitos princípios ativos com diferentes modos de ação, têm sido isolados a partir de plantas e seriam úteis, onde a resistência se tenha desenvolvido.

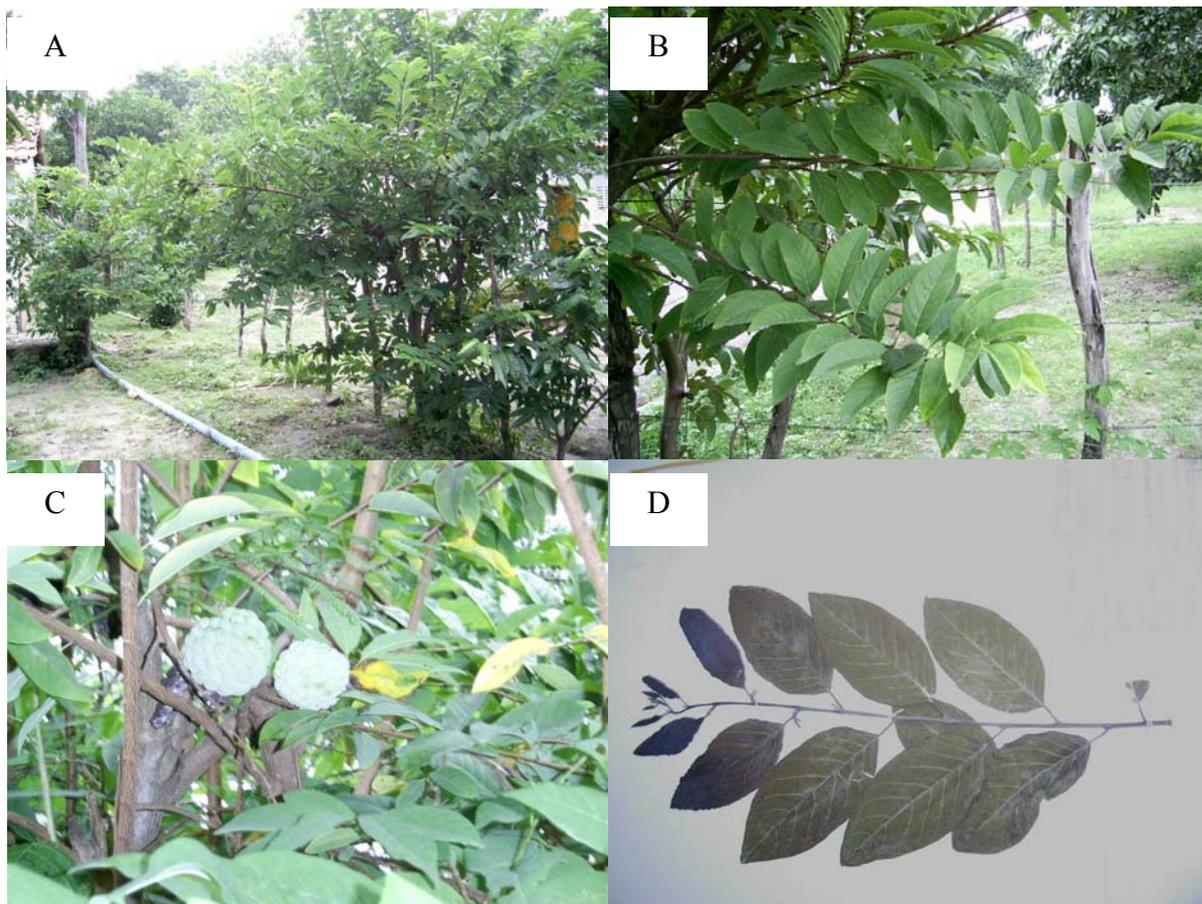
## **2.2. Potencialidades Mediciniais das Plantas Estudadas**

### **2.2.1. *Annona squamosa* L. (1753)**

A pinha é originária da América tropical com distribuição que vai do Sudeste do Brasil até à América central. Tipicamente de clima tropical e pertencente à família Annonaceae é composta de 135 gêneros e 2.500 espécies (CHATROU *et al.*, 2004), sendo que o Brasil apresenta 26 gêneros (sete endêmicos) com cerca de 260 espécies (MAAS, *et al.* 2002). A pinheira (*Annona squamosa*, L.) é uma das espécies do gênero *Annona* de maior expressão econômica no Brasil. Também é conhecida como ateira ou fruta-do-conde, é importante em vários estados brasileiros do Nordeste e Sudeste (DIAS *et al.*, 2004).

De maneira geral são caracterizadas pelo hábito arbóreo. Apresentam folhas alternas e simples, flor isolada ou em inflorescência, três sépalas com seis pétalas, em dois ciclos sub-

iguais. Os estames são pouco numerosos, livres ou soldados, presentes na base do fruto apocárpico, pseudo-sincárpico ou sincárpico, carpídios deiscentes ou indeiscentes. Semente com endosperma ruminado e embrião diminuto (LOBÃO, *et al.*, 2005). Seu fruto é uma baga composta arredondada, cordiforme, coberto externamente de saliências achatadas em formas de tubérculos e regularmente dispostas (COUCEIRO, 1973; GUSMAN *et al.* 1985). Seu fruto apresenta polpa branca, com aroma agradável, muito doce, o que a torna muito importante para o consumo na forma fresca (LIMA, *et al.* 2001), sendo bastante apreciados pelo homem (PONTES, *et al.* 2004.) (Figura 1).



**Figura 1.** Características botânicas da *Annona squamosa*, L (A= Arvore da *A. squamosa*; B= Folhas; C= Fruto; D = Excicata)

Além do potencial frutífero, essa espécie tem grande importância medicinal, considerando sua utilização na terapêutica popular, onde as folhas são usadas no tratamento de dor de cabeça, diarreia, falta de apetite, reumatismo, anemia e infecções: as sementes são empregadas no combate à caspa e piolhos (RAMOS, 1992). A literatura etnofarmacológica registra, além disto, várias propriedades medicinais de suas folhas como medicação sudorífica, carminativa, estomáquica, anti-reumática e anti-helmíntica por via oral e, externamente, em compressas e bochechos, no tratamento de estomatites, nevralgias e cefaléia, bem como na forma de cataplasma em furúnculos e úlceras para induzir a supuração (PIO CORRÊA, 1984). Segundo Oliveira *et al.* (2000) diversas plantas do gênero *Annona* apresentam atividade inseticida, antiparasitária e especificamente anti-helmíntica. Estudos realizados por Santos *et al.* (2004b), verificaram o efeito cercaricida da semente e raiz de *A. squamosa* e da folha de *A. muricata* e *A. salzmannii*.

Gupta *et al.* (2005b) demonstraram a atividade hipoglicemiante e antidiabética do extrato aquoso da folha de *A. squamosa*. Quanto à toxicidade reprodutiva, estudos revelaram que os extratos preparados com as sementes não interferiram na performance reprodutiva. Estes verificaram que na gestação de ratos submetidos ao tratamento não houve alterações quanto à morfologia do endométrio e, conseqüentemente na implantação embrionária, desmistificando o uso popular como abortivo e contraceptivo (DAMASCENO, *et al.*, 2002)

O estudo fitoquímico das várias partes da planta permitiu determinar a presença de um óleo essencial contendo beta-cariofileno, germacrema e delta-elemeno como principais componentes. Entre os constituintes fixos, o alcalóide anonaina, anonosilina II de atividade pesticida, saponina e acetogeninas, cujo estudo farmacológico demonstrou várias propriedades biológicas, incluindo a ação citotóxica, antimalárica e antimicrobiana (LI *et al.* 1990; CORTES *et al.* 1993; HOPP *et al.* 1996; LORENZI; MATOS, 2002). Quanto à toxicidade desta planta Souza *et al.* (2003) determinou a toxicidade do extrato acetato de etila em camundongos, pelas vias oral e intraperitoneal, encontrando para primeira a DL<sub>50</sub> de 433 mg/kg e para a segunda 3,4 mg/kg. O mesmo autor observou que os principais sintomas dos animais inoculados era dispnéia, espasmos musculares e hipoatividade.

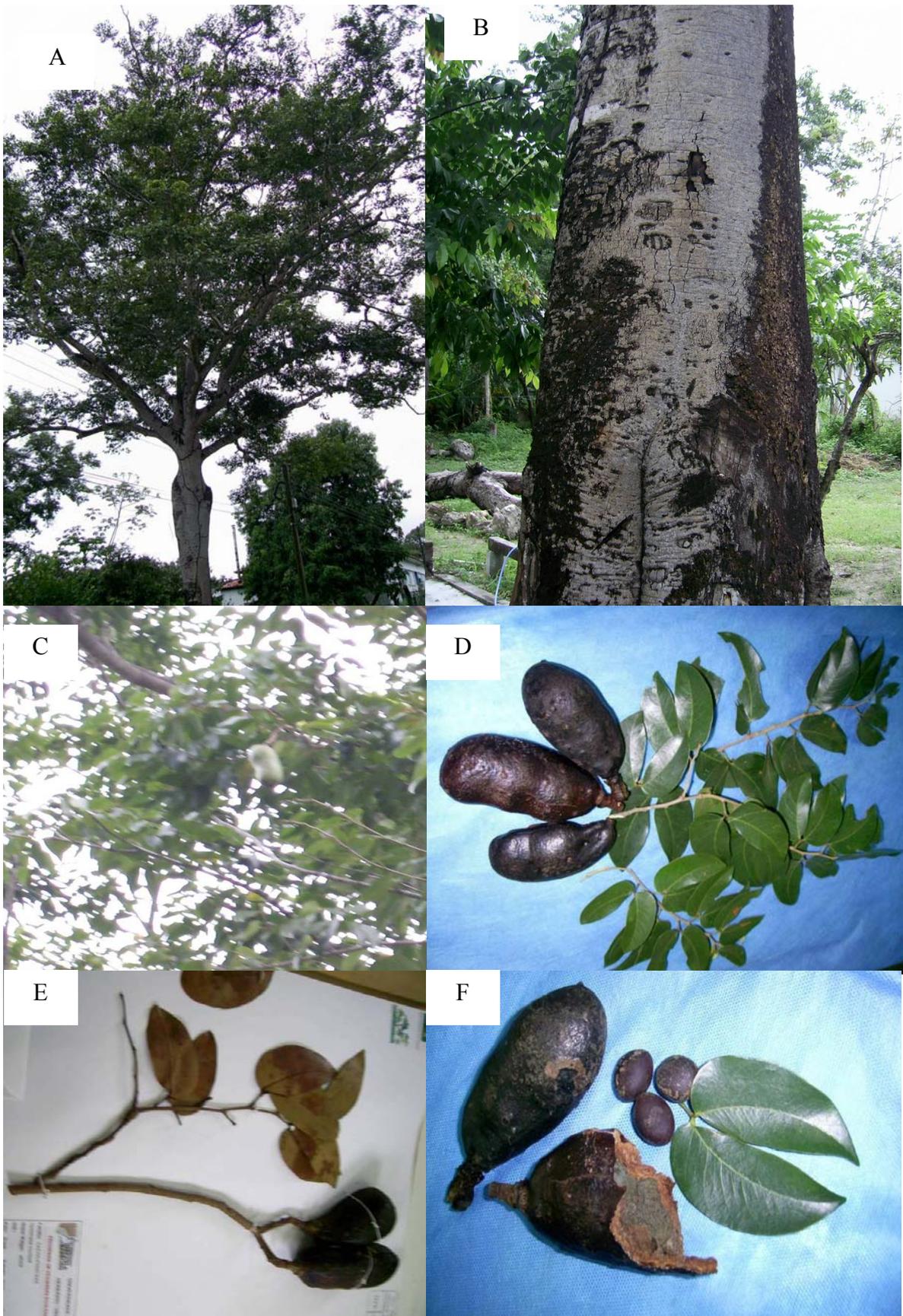
Mukhlesur-Raman *et al.* (2005) isolou várias classes de constituintes químicos da semente da *A. squamosa*, dentre eles tem-se acetogeninas, terpenóides, alcalóides, ciclopeptídeos e esteróides. Este mesmo autor verificou a atividade antibacteriana e antifúngica de vários extratos e dos componentes isolados como annotemoyin-2, squamocin e colesteryl glucopiranosídeo, demonstrando atividade razoável contra a *Candida albicans*. O peptídeo cíclico, cyclosquamosin B, isolado das sementes desta planta demonstrou atividade vasorelaxante sobre a aorta de ratos, sendo seu efeito atribuído principalmente à inibição do influxo de cálcio do espaço extracelular através dos canais de cálcio voltagem-dependente (MORITA, *et al.* 2006).

O efeito citotóxico do extrato da semente de *A. squamosa* em cultivo de células foi estudado por Pardhasaradhi, *et al.* (2005) que verificaram apoptose celular com a condensação nuclear, fragmentação do DNA, indução da produção de oxigênio reativo e redução do nível de glutathiona intracelular de acordo com a espécie de células usadas.

### 2.2.2. *Hymenaea courbaril*, L. (1753)

A *Hymenaea courbaril* L. pertence à Família Fabaceae e Subfamília Caesalpinioidea. É originalmente encontrada na Amazônia e Mata Atlântica brasileiras, onde ocorre naturalmente desde o Piauí até o Norte do Paraná, na floresta latifoliada semidecidual. Conhecida vulgarmente como jatobá, jataí, jutaí, jutaí-mirim e copal. Esta chega a atingir alturas entre 15 e 20m com seu tronco alcançando até 1m de diâmetro, suas folhas têm dois folíolos brilhantes de 6-14 cm de comprimento. O fruto é uma vagem indeiscente, bastante dura (NOGUEIRA *et al.*, 2001; LORENZI; MATOS, 2002) (Figura 2).

A madeira é empregada na construção civil em vigas, caibros, ripas, acabamentos internos (marcos de portas, tacos e tábuas para assoalhos), na confecção de artigos para esportes, cabos de ferramentas, peças torneadas, esquadrias e móveis. Os frutos do jatobá possuem uma polpa farinácea que fornece farinha com valor protéico equivalente ao fubá de milho, com utilização culinária (ALMEIDA *et al.*, 1990). Esta polpa farinácea também é muito procurada por várias espécies da fauna, que dispersam suas sementes, tornando o jatobá muito útil nos plantios em áreas degradadas destinadas à recomposição da vegetação arbórea (Figura 3) (LORENZI, 1992). Entre seringueiros e moradores de regiões próximas das florestas onde se encontram, é comum utilizarem a casca da árvore para fazer um chá, também chamado de vinho do jatobá. Acreditam que este chá é um poderoso estimulante e fortificante (LORENZI; MATOS, 2002).



**Figura 2.** Caracterização botânica da *Hymenaea courbaril*, L. (A= Arvore da *H. courbaril*; B= Tronco; C = Fruto verde, D= Folhas e frutos, E= Excicata e F = Fruto, Folha e semente)

No século XX passou a ser estudada por etnobotânicos americanos, e é consumida nos EUA com os mesmos. Como planta medicinal, diferentes partes são usadas por indígenas do Brasil, Guianas e Peru contra diarreia, tosse, bronquite, problemas de estômago e fungos nos pés. Em épocas diferentes, desde 1930, foi indicada e comercializada para fins medicinais. A partir do final do século XIX para fins tradicionais (BRANCH; SILVA, 1983).

Estudos fitoquímicos detectaram a presença de diterpenos na resina exsudada pelo tronco e em extratos da casca de *H. courbaril* (NOGUEIRA *et al.*, 2001). As sementes são ricas em xiloglucano (XG), a principal reserva de carbono nos cotilédones (TINÉ, 2007). Esta reserva é um polissacarídeo da parede celular e o seu mecanismo de mobilização tem demonstrado ser complexo, utilizando a ação conjunta e coordenada de quatro enzimas. A mobilização de XG é estritamente controlada pelo desenvolvimento de primeiras folhas da muda, com o começo de sua degradação acontecendo com sua expansão. Durante o período de mobilização de armazenamento, foi observado um aumento nos níveis de hidrolases de xiloglucano, goma, e açúcares livres nos cotilédones. Os pesquisadores observaram que as reservas de XG variam desde a inibição do desenvolvimento da semente até o estabelecimento da superfície de folha que poderia manter crescimento de autotrófico em condições de seca (BUSATO *et al.*, 2001; SANTOS *et al.*, 2004a)

Nogueira *et al.* (2001), estudando a resina exsudada pelo tronco desta planta identificaram cinco diterpenos, sendo três conhecidos identificados como ácido de -ozic, ácido de -isoozic e ácido de -kovenic, que foram caracterizados como derivados de éster de metil. Os dois diterpenos novos foram isolados do extrato de acetato de etila das vargens, denominados de ácido de -cleroda-3,13E-dien-15-oic e o outro foi identificado, depois de tratamento com diazomethane, como metil-cleroda-3,13E-dien-15-oate. Os terpenos apresentam várias atividades biológicas, como proteção contra infecção e ataque de insetos (ROBBERTS *et al.*, 1997)

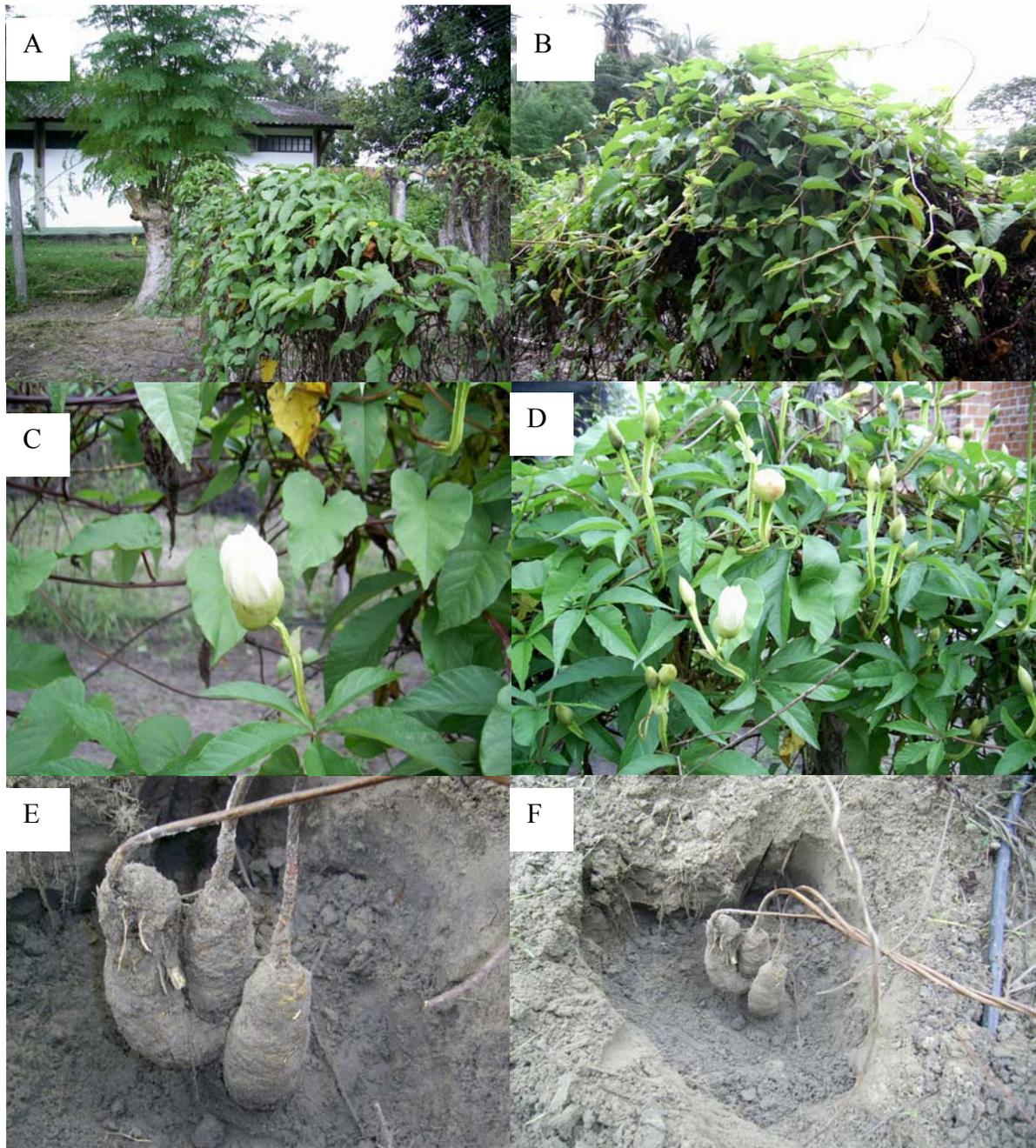
Fernandes *et al.* (2005b) em testes de atividade antimicrobiana “*in vitro*” verificaram que o extrato hidroalcolico da entrecasca do caule de *H. courbaril* foi capaz de inibir em 63% o crescimento de bactérias Gram-positivas.

### **2.2.3. *Operculina macrocarpa* (L) Urb. (1902)**

Conhecida como batata-de-purga, espécie que pertence à Família Convolvulaceae, tem sido utilizada há muito tempo na medicina tradicional nordestina. Seu nome oficial é jalapa brasileira. Duas espécies, ambas trepadeiras de raiz tuberosa, recebem este mesmo nome. Uma espécie mais comum produz flores amarelas (*Operculina alata*), a outra tem flor branca (*Operculina macrocarpa*) (MATOS, 2000). A jalapa é encontrada em regiões compreendidas entre as Antilhas e o Brasil, além de regiões temperadas dos Andes Mexicanos, em regiões lamacentas e de solo profundo. (PLANCHON; BRETIN 1937). No Brasil, é encontrada em vários estados recebendo assim diversas sinónimas populares, dentre as mais citadas na literatura estão: batata-de-purga, xalapa, jalapa-de-São Paulo, purga-do-Amaro Leite, jalapa-do-Brasil (CRUZ, 1980; MICHELIN; SALGADO 2004).

Ela está incluída numa categoria especial de plantas medicinais constituída de plantas oficialmente utilizadas no Brasil, com o aval da Farmacopéia Brasileira, grupo este constituído de apenas 56 plantas originárias de várias partes do mundo, sendo reconhecida como tendo atividade laxante. Dentre as várias utilizações populares, as mais frequentes são como laxante e purgativo em prisão de ventre e constipação crônica. Emprega-se também como depurativo do sangue e na leucorréia, diarreia, disenteria, fraqueza geral. Esta planta tem também a propriedade de regularizar a menstruação (CRUZ, 1980; MICHELIN; SALGADO 2004).

Segundo Matos (1994), a batata-de-purga é uma trepadeira de aspecto muito ornamental, especialmente pelos seus frutos, que depois de maduros, parecem flores secas naturais. Cada fruto contém de uma a quatro sementes duras e cremosas, que ficam soltas dentro deles e permanecem presos à planta por um longo período, até se desprenderem. É uma espécie anual, tem flor amarela (*O. allata*) e frutos de forma estrelada. Silvestre, mas pode ser facilmente cultivada plantando-se as sementes, apesar de seu baixo percentual de germinação, ou mesmo plantando-se o tubérculo (batata) (Figura 3).



**Figura 3.** Caracterização botânica da *Operculina macrocarpa*, L. Urb (A e B= Ramas da *O. macrocarpa*; B e C = Folha, flores e botões D e E= Raiz)

A parte usada na medicina tradicional é o tubérculo, (Figura 3) onde se encontra a resina e seu princípio ativo. Esta raiz fornece, também, fécula ou polvilho de cor pardo-clara conhecida pela população sob a denominação de goma-de-batata. Este pó encontra largo uso em medicina popular, especialmente quanto aos tratamentos caseiros de doenças da pele, impetigo, reumatismo, furunculose, bronquite, asma e problemas de dentição nas crianças (MATOS, 2000).

Uma das características mais marcantes das concolvulaceas é a presença de fileiras de células secretoras de resinas glicosídicas em tecidos foliares e, especialmente em suas raízes. Estas substâncias constituem uma das características quimiotaxônomicas desta família, e o emprego na medicina tradicional de plantas de alguns gêneros (*Convolvulus*, *Exogonium*, *Ipomoea*, *Merremia* e *Operculina*) esta associado às propriedades purgativa de suas resinas (GARCIA-ARGÁEZ; PÉREZ-AMADOR, 1997; PEREDA-MIRANDA; BAH., 2003). Entretanto, pouco ainda é mencionado sobre o mecanismo de ação laxante (PEREDA-MIRANDA; BAH., 2003).

A *O. macrocarpa* apesar de constar em muitas Farmacopéias, seu estudo fitoquímico da ainda está incompleto. Contém como principais componentes, a fécula e 12% de resina que é formada pela mistura complexa de substâncias de natureza glicosídica polimérica, de propriedades purgativa, sendo reconhecida como laxante, ou em doses maiores como purgativo drástico e anti-helmíntico (MORS *et al.* 2000).

A resina pode ser obtida por extração com álcool, seguida de precipitação e lavagem com água (LORENZI; MATOS, 2002). Todas as preparações devem ser usadas com cuidados, pois em doses mais altas que a recomendada podem causar intoxicação severa, traduzida por forte diarreia com risco de desidratação rápida (MATOS, 2002). Michelin (2005) verificou que as frações diclorometano, acetato de etila, n-butanol e as preparações populares possuem efeito laxante sobre camundongos. Este também verificou que a fração mais tóxica é a diclometano e que juntamente com a fração acetato de etila, apresentaram alterações nas transaminases séricas (ALT e SALT), sugerindo hepatotoxicidade.

#### 2.2.4. *Scoparia dulcis* L. (1753)

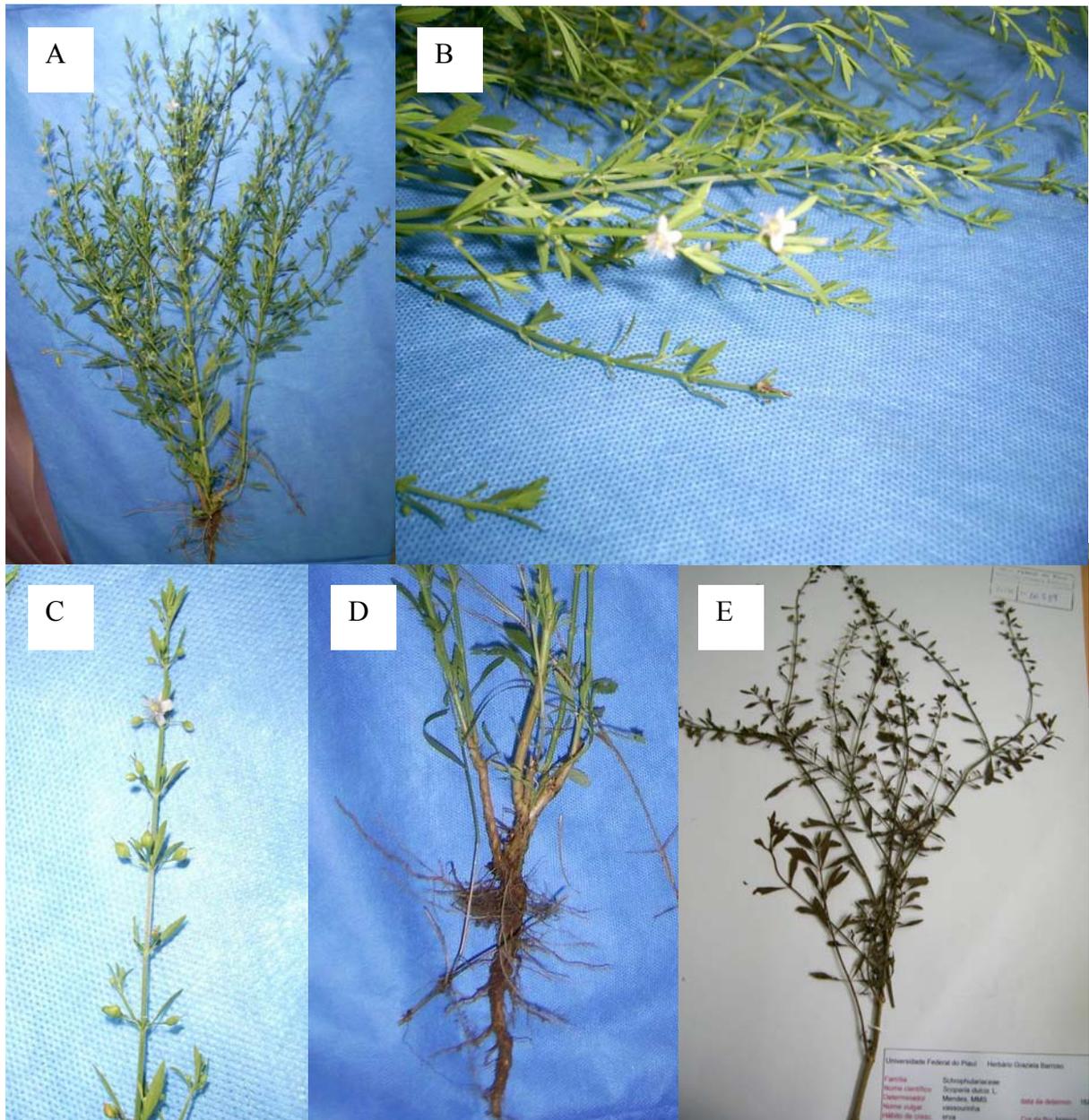
É uma planta silvestre da Família Scrophulariaceae distribuída em zonas tropicais, sendo comumente usada na medicina popular nordestina. Cresce abundantemente em quase todo tipo de terreno, sendo mais freqüente no período chuvoso. É uma erva pouco ramificada, ereta e alcança até meio metro de altura. Suas folhas nascem aos pares ou em conjunto de três ou quatro e são sempre lanceoladas e denteadas. As flores são brancas e muito pequenas e os frutos são pequenas cápsulas globosas que contém inúmeras sementes. (MATOS, 2000) (Figura 4).

Considerada uma planta daninha de pastagens e várzeas úmidas, é usada popularmente no tratamento caseiro de febres, tosse, bronquite, diarreia, inflamações, dores, males estomacais e dor de dentes, bem como no tratamento de diabetes, da hipertensão arterial, retenção urinária e sob a forma tópica nos casos de hemorróidas e picadas de insetos, empregando-se a planta toda ou em especial as raízes (SOUSA *et al.* 1991; FREIRE *et al.* 1996).

Análises fitoquímicas referem-se à presença do ácido scopaldúxico A como o principal componente, ao lado de outros triterpenos como o glutinol e, do flavonóide acacetina, entre os três quimiotipos encontrados na natureza; não se sabe, porém qual ou quais os quimiotipos que ocorrem no Brasil (SOUSA *et al.* 1991).

Alguns estudos mostraram que a *S. dulcis* produz diterpenóides tetracíclicos únicos denominados ácido scopadulcico e scopadulciol. (HAYASHI *et al.*, 1988; GIANG *et al.*, 2006). Asano *et al.*(1990) estudou a inibição reversível da bomba  $H^+/K^+$  - ATPase gástrica

usando o ácido scopadúlcico-B e o diacetil scopadol e Hayashi *et al.* (1996) por meio de cultivo de tecido da *S. dulcis* induziram o crescimento celular com o objetivo de produzir o scopaduciol “*in vitro*”. Além destas substâncias Li *et al.* (2004) isolaram glicosídeos flavona acetilados e demonstram atividade potencializadora do fator de crescimento dos nervos (NGF), estes acreditam que como o NGF estimula a neurite em células PC12 D podem ser usados no tratamento de doenças de Parkinson, Alzheimer e Huntingtons, Esclerose Amiotrófica Lateral e do vírus da imunodeficiência humana associado a demência.



**Figura 4.** Caracterização botânica da *Scoparia dulcis*, L. (A = Arbusto da *S. dulcis*; B = Folha e flores; C= Sumidade Florida; D= Raiz e E = Excicata)

Latha e Pari (2004) estudaram o efeito hipoglicemiante em ratos do extrato aquoso dessa planta, obtendo sucesso através da normalização do teor de açúcar no sangue. Este mesmo extrato foi estudado por Ratnasooriya *et al.* (2005), quanto á sua atividade antioxidante usando a reação com o ácido tiobarbitúrico e demonstraram um efeito dose-

dependente quando comparado com a vitamina E. A atividade citotóxica dos diterpenos dulcinol/scopadiol e scopadiol foi estudada sobre células cancerosas onde se encontrou  $ED_{50}$  37,7  $\mu$ M (AHSAN *et al.*, 2003).

Estudos também revelaram que o extrato aquoso da parte aérea da vassourinha foi capaz de inibir eficientemente a secreção do suco gástrico em ratos e camundongos, com uma redução de 65 a 70% tanto do volume como da secreção de ácido gástrico, aumentando do pH de 1,5 para 3,0 e protegendo o estômago dos roedores contra a úlcera gástrica (MESÍIA-VELA *et al.* 2007).

### 2.2.5. *Simarouba versicolor* St. Hill (1824-28)

A *Simarouba versicolor* pertencente à Família Simaroubaceae é conhecida popularmente como pau-paraíba, sendo descrita como uma árvore de porte regular e elegante, de casca esbranquiçada e meio esponjosa. Folhas alternas, compostas por folíolos luzentes na página superior e flores verdeongas, em cachos pequenos (Figura 6) (MESQUITA, 1997).

A Família *Simaroubaceae* é constituída de aproximadamente 32 gêneros e 250 espécies, distribuídas em todas as regiões tropicais e subtropicais do globo. No Brasil, está representada pelos gêneros *Quassia* e *Picrolemma*, na região amazônica; *Castela* e *Picrasma* no sul do país; *Simaba*, *Simarouba* e *Picrolemma*, em quase todas as regiões brasileiras (MESQUITA, 1997 HALL *et al.* 1983). Ela tem sido empregada na construção, devido à qualidade de suas madeiras, e também muito utilizada na medicina folclórica (VIEIRA, 1995).

As plantas desta família fornecem uma droga muito amarga que é utilizada na medicina popular como vermífuga, amebicida, anti-palúdica e tônico amargo como descrita pela farmacopéia francesa. A mais conhecida é a *Quassia amara* denominada na farmacopéia francesa como Quassia do Suriname; cujo seu principal constituinte químico é a quassina. Como resultado, um grande número de outros constituintes químicos foram isolados de diversas espécies de simaroubaceas e suas estruturas elucidadas (GRENAND *et al.*, 1987).

Estudos químicos com análise bromatográfica dos extratos clorofórmico e acetato de etila retirados do lenho da *Simarouba versicolor*, possibilitaram o isolamento de dois quassinóides, elcessina e 11-acetato-amarolídio, sendo que a excelsina foi isolada pela primeira vez neste gênero (MESQUITA 1997). Da mesma forma, Arriaga *et al.* (2002) isolaram os quassinóides (3,5-7), triterpenóides (8-14), uma mistura de esteróides (15-17), o flavonóide kaempferol (18) e derivados esqualênicos.

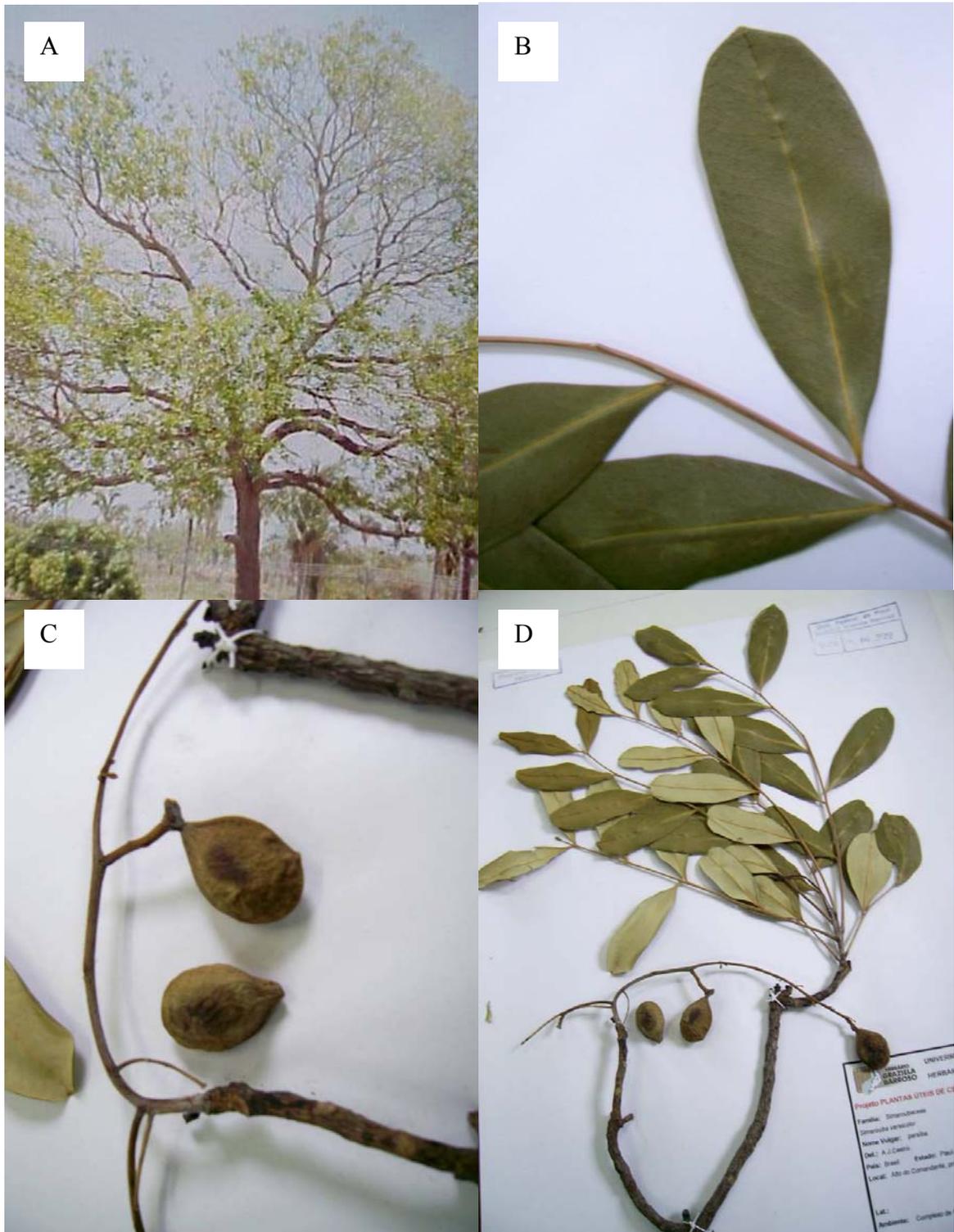
Na medicina popular os frutos e a casca de *S. versicolor* são usados como anti-helmíntico e a infusão da casca é usada contra mordida de cobra. A casca tem sabor amargo e os insetos não a atacam. Acredita-se que o pó da casca tem atividade vermífuga (GRIEVE, 2002) esta possui propriedades semelhantes à Cáscara amarga (*Simarouba amara*).

Ghosh *et al.*, (1977) estudando as atividades citotóxica e antileucêmica do extrato da *S. versicolor* afirma que este efeito se dá principalmente devido à substância glaucarubinone. O extrato preparado a partir do fruto de *S. amara* coletada no Panamá tem se mostrado ativo contra *Plasmodium falciparum* “*in vitro*” e *P. berghei*, em camundongos. Quatro quassinóides ativos têm sido identificados: ailanthinone, 2-acetylglucarubionones, glucarubinone e holacanthones (O’ NEILL *et al.*, 1988).

Simote (2006) estudou o controle de formigas cortadeiras (*Atta sexdens rubropilosa*) utilizando diferentes extratos das folhas, caule e galhos de *S. versicolor*. Este verificou que os extratos diclometano e metanólico das folhas, do caule e galhos de *S. versicolor* provocaram a morte das formigas a partir do sexto dia de observação. Este usando o os extratos, metanólico, diclorometânico e haxânico reduziu a sobrevivência de formigas cortadeiras a partir do 6º dia de aplicação e Coelho *et al.* (2006), conseguiram a mortalidade de 95% do triatomíneo

*Rhodnius milesi*. Na mesma linha de pesquisa com artrópodes, Pires *et al.* (2007) determinou a concentração inibitória do EASV sobre a ovipostura do *Boophilus microplus*, no qual a concentração de 17,2 mg/mL foi capaz de inibir 100% da ovipostura.

A  $DL_{50}$  do extrato aquoso de *S. versicolor* foi determinada em camundongos por Fernandes *et al.*, (2004a) e foi da ordem de 68,80mg/Kg e 185,88 mg/Kg, pelas vias oral e intraperitoneal, respectivamente.



**Figura 5.** Caracterização botânica da *Simarouba versicolor*, St. Hill (A = Arvore da *S. versicolor*; B = Folha ; C= Fruto D= Excicata).

### 2.3. O problema das helmintíases aviárias

Embora haja uma busca pelo equilíbrio entre o hospedeiro e o parasito intestinal, a infecção é considerada um sério problema, causando grandes perdas econômicas no setor da avicultura, principalmente no que diz respeito à mortalidade, retardo do crescimento, redução do índice de conversão alimentar, diminuição da produção de ovos e da fertilidade, e favorecimento à passagem de toxinas através da parede intestinal com aumento da suscetibilidade às doenças infecciosas (FERNANDES, 1998).

Um grande número de pesquisas sobre prevalências das helmintíases aviárias têm sido realizadas, tanto no Brasil como no exterior, principalmente no continente africano, onde a produção é quase toda extensiva ou doméstica. Magwisha *et al.* (2002) comparando a prevalência de helmintos em criações extensiva na Tanzânia verificaram a presença de *A. galli* em 69% das aves jovens e 29% em adultos. A prevalência de *Heterakis* foi, significativamente ( $P < 0,05$ ) influenciada pelo sexo e idade das aves, sendo maior em machos jovens e fêmeas adultas, o que é interessante no que diz respeito à fase de recria na criação para corte e na produção de ovos orgânicos. Da mesma forma, Eshetu *et al.* (2001) estudando a prevalência de helmintos de aves na Etiópia constataram 91% de positividade em 267 aves, sendo que estas apresentavam de um a nove espécies de parasitos, dentre estes 17,28% eram de *H. gallinarum* e 35,58% de *A. galli*.

No Brasil, Souza Jr. *et al.* (1997) em levantamento feito no Estado da Bahia, nos municípios de Santa Teresinha e Simões Filho, verificou a prevalência de 70% de *A. galli* e 60% de *Railletina sp.* em galinhas caipiras. Fernandes (1998) estudando a atividade anti-helmíntica de plantas “*in vivo*”, observou que em 70 frangos de corte criados semi-extensivamente 94,3% eram positivos para *A. galli* e 100% para *H. gallinarum*. O mesmo autor também verificou a localização desses helmintos e observou que 97,7% de *A. galli* estavam presentes no intestino delgado e 2,3% no intestino grosso dos frangos, enquanto 99,2% de *H. gallinarum* foram observados no ceco e 0,8% no cólon. Fernandes *et al.* (2001), estudando a atividade anti-helmíntica “*in vitro*” em galinhas caipiras adquiridas em mercados de Teresina – Pi, necropsiaram 50 galinhas caipiras e observaram uma prevalência de 94% para *Railletina sp.*, 14% *H. gallinarum* e 6% de *A. galli*.

Estes estudos de prevalência ganham importância no momento em que na avicultura orgânica e colonial, os animais passam a ter acesso a pasto, o que vem a possibilitar o fechamento do ciclo do parasita, principalmente no que diz respeito a Ascariidose provocada por *H. gallinarum* e *A. galli*. Outro fator que tem contribuído para o aumento das helmintíases aviárias no Brasil é a expansão da agricultura familiar, que tem levado principalmente ao aumento da criação de galinhas caipiras criadas em sistemas extensivos e semi-extensivos.

A presença de parasitoses na avicultura tem sido observada não apenas em criações extensivas pois, Wilson *et al.* (1994) estudando a prevalência de helmintos em criações comerciais do Nordeste do Arkansas, Estados Unidos, verificaram em duas fazendas denominadas de A e B, a presença de 37,3% e 3,9% de *A. galli* e de 7,5% e 1,9% *Heterakis*, respectivamente. Porém, a presença de *Railletina cestocillu* foi semelhante para as duas fazendas 67,2 e 69,2%, respectivamente. Prevalência que pode ser explicada pela dificuldade de se controlar os hospedeiros intermediários dos cestodas, se não houver um bom manejo sanitário.

Observando os prejuízos causados por estes helmintos, a relação destes com outras doenças infecciosas e a prevalência, verifica-se que um dos maiores obstáculos para a produção orgânica de carne e ovos são as helmintíases aviárias que não podem ser tratadas com os medicamentos quimioterápicos. Embora, o uso de linhagens de galinhas naturalmente resistente a infecções por helmintos tem sido estudado, a variação individual quanto à resistência natural é um fenômeno difundido, atribuído a controle genético do sistema imune,

e pode ser então possível identificar diferenças específicas em suscetibilidade para muitas doenças (BUMSTEAD *et al.*, 1991). Muito pouco, ainda, é conhecido sobre suscetibilidade genética para infecções parasitárias, particularmente infecções de helmintos em galinhas, embora tal conhecimento tenha uma aplicação prática selecionando, ou criando uma linhagem resistente à infecção (SCHOU *et al.*, 2003, PERMIN; RANVIG, 2001, GAULY *et al.*, 2002). Assim sendo, os estudos sobre tratamentos alternativos de nematóides da família Ascarididae são importantes para o fortalecimento da avicultura comercial e orgânica, favorecendo, também, a agricultura familiar que tem na criação de aves domésticas uma excelente fonte de proteínas, além de ser uma forma de complementação da renda do pequeno agricultor.

## 2.4. Principais Agentes da Ascaridiose Aviária

### 2.4.1. *Ascaridia galli* (Schrank, 1788) Freeborn, 1923

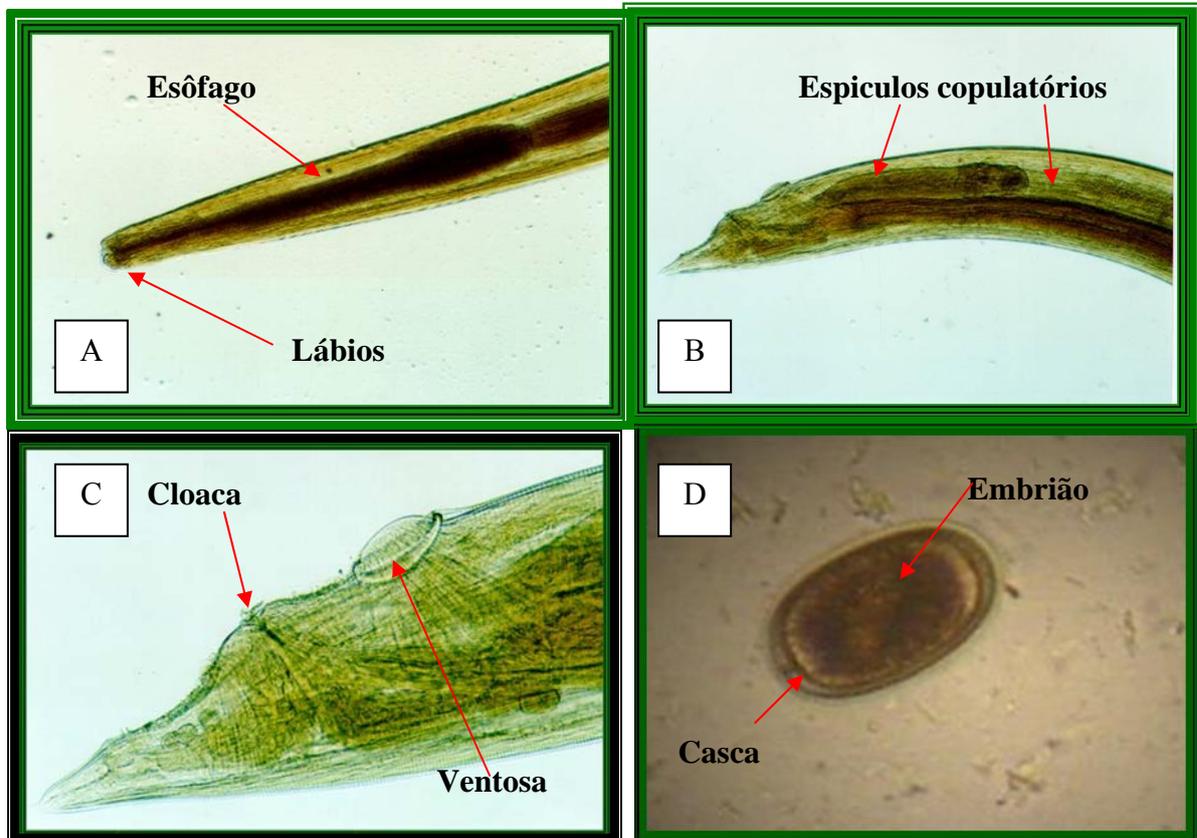
Pertencente ao Filo Nematoda, superfamília Ascaridoidea e Família Ascarididae o *Ascaridia galli* é um parasita que tem o corpo cilíndrico, relativamente grande, de cor branco-amarelada. Abertura oral circundada por três lábios proeminentes um dorsal e dois subventrais, sendo o dorsal mais desenvolvido, esôfago sem bulbo posterior (Figura 7). Os machos são ligeiramente menores e mais delgados que as fêmeas, medindo de 50 a 76 mm de comprimento; apresentam uma ventosa pré-cloacal com 220 µm de diâmetro, extremidade posterior obliquamente truncada com asa caudal estreita. Possuem dez pares de papilas caudais, das quais, três são pré-anais, uma anal, três pós-anais e três subterminais. Apresentam dois espículos sub-iguais com 1 a 4 mm de comprimento (Figura7) (FORTES, 2004).

As fêmeas medem de 72 a 116 mm de comprimento, com extremidade posterior reta e cônica; a vulva situa-se na parte mediana do corpo. Os ovos apresentam a forma elipsoidal, com casca espessa, não embrionados por ocasião da postura, medindo 75 a 80 µm de comprimento por 45 a 50 µm de largura (Figura 7) (ACKERT, 1931; LEVINE, 1980; SOULSBY, 1987).

O ciclo evolutivo de *A. galli* é direto, os ovos são eliminados nas fezes dos hospedeiros (galinha, galinha d'angola, peru, ganso e outras aves). Encontrando condições favoráveis de temperatura, umidade e oxigênio, desenvolvem-se para o estágio infectivo contendo uma larva de segundo estágio (L<sub>2</sub>), no período de oito a quatorze dias, sendo a temperatura ideal aquela em torno de 35°C (FORTES, 2004). Os ovos permanecem viáveis por mais de três meses em local sombreado, porém são rapidamente destruídos à baixa umidade e à temperatura elevada, mesmo quando estão enterrados a uma profundidade de 15 cm, e sob a luz solar (LEVINE, 1980).

A infecção ocorre pela ingestão dos ovos contendo larvas infectantes, juntamente com alimentos ou água, sendo que as minhocas podem também ingerir esses ovos e assim, transmitir a infecção de forma mecânica quando engolidas pelas aves (SOULSBY, 1987). A eclosão dos ovos contendo larvas infectantes ocorre no pró-ventrículo ou intestino delgado, as larvas desenvolvem-se por algum tempo na luz intestinal e nas intervilosidades da parte posterior do duodeno. Algumas penetram na mucosa intestinal fixando sua extremidade anterior e após um período de oito a dezessete dias retornam à luz intestinal, onde alcançam a maturidade sexual dentro de seis a oito semanas, isto dependendo da idade do hospedeiro. Outras tornam-se adultas na própria luz intestinal. A muda para larva de 3º estágio (L<sub>3</sub>) ocorre entre seis a oito dias após a infecção e a passagem para o 4º estágio (L<sub>4</sub>), acontece entre o 14º e o 15º dias e tornam-se adultas entre 18 e 22 dias. O período pré-patente é de cinco a seis semanas em galináceos com menos de três meses de idade e de oito semanas ou mais em

galináceos adultos (MORAN, 1957; LEVINE, 1980). De acordo com os mesmos autores, *A. galli* é encontrado frequentemente no intestino delgado, mas ocasionalmente pode ser encontrado no esôfago, papo, moela e intestino grosso. Parasitas erráticos têm sido encontrados na cavidade abdominal, oviduto e até dentro dos ovos dos galináceos.



**Figura 6.** Fotomicrografia da extremidade anterior e posterior e ovo de *Ascaridia galli* (Schrank, 1788), Freeborn, 1923 (Lactofenol, 100X A e B; 400X C e D).

Segundo Moran (1957), o terço posterior do intestino da galinha doméstica é o hábitat não reconhecido para larva de *A. galli*. Este observou que a maior concentração de larva estava em uma seção do intestino que se estende de 3-5 polegadas em cada lateral do saco membranoso do divertículo. A troca da população larval do terço mediano do intestino aos terços anteriores e posteriores acontece entre o 8º e 16º dias depois de infecção. Mais adiante trocas de população para o terço posterior do intestino ocorrem entre o 17º e 24º dias depois de inoculação. Penetração da mucosa intestinal por *A. galli* é raro (0,41%).

Estudos buscam identificar os prováveis neurotransmissores do *A. galli*, sendo este conhecimento importante para o desenvolvimento de uma nova droga ascaricida, como também permite estabelecer o comportamento fisiológico destes nematóides. Khwaja *et al.* (1973) verificaram a presença de acetilcolina em alta concentração no nematóide *A. galli* sugerindo ser o neurotransmissor deste parasito. Da mesma forma, determinaram a alta atividade de acetilcolinesterase. Estes estudos também sugerem a presença de acetilcolina e histamina em *A. galli* como neurotranssores relacionados à locomoção deste nematóide. O conhecimento de combinações de enzimas capazes de afetar e destruir a acetilcolina e a histamina podem favorecer o desenvolvimento drogas de ação Ascaricidas.

### 2.4.1.1. Patogenia, diagnóstico e controle do *A.galli*

Permin *et al.* (2002ab), em levantamento epidemiológico, verificaram prevalência maior de *A. galli* em animais jovens estando em conformidade com o que diz Pavlicek e Dyková (1975); os galináceos jovens são mais sensíveis à infecção do que os adultos. No entanto, Deo ; Srivastava (1962), trabalhando com grupos de frangos de diferentes faixas etárias, concluíram que aos 121 dias os frangos tornaram-se completamente resistentes à infecção artificial por *A. galli*. Observaram ainda que um fator importante a ser considerado com relação à suscetibilidade à infecção por este nematóide é a dieta deficiente em vitaminas A, B, D, cálcio e proteínas (DEO; SRIVASTAVA, 1962).

De acordo com Frick e Ackert (1941), os galináceos com mais de três meses de idade são mais resistentes à infecção e isto pode estar associado com um marcado aumento nas células globosas presentes na mucosa do intestino delgado, demonstrado através do fator mucina duodenal, o qual inibiu o crescimento da larva de *A. galli* “*in vitro*”. Porém, Idi *et al.* (2004) compararam o efeito do envelhecimento das galinhas sobre a resistência a infecções primárias e secundárias com *A. galli*, usando aves com um dia, um mês e quatro meses de idade. Verificaram que a idade influencia só parcialmente a resistência das aves para e que a carga parasitária e a fecundidade das fêmeas de *A. galli* avaliada não foram afetadas quando parasitam hospedeiros de diferentes faixas etárias.

Magwisha *et al.* (2002) verificaram que todas as galinhas abrigavam pelo menos três espécies diferentes de helmintos, sendo que os jovens continham 4–14 e adultos 3–12 espécies de helmintos e o número de espécies isoladas por ave aumentou com o avanço da estação chuvosa. A prevalência do *A. galli* foi significativamente maior em jovens que em adultos ( $p < 0.05$ ); (69% jovens e 29% adultos), bem como a carga parasitária.

Experimentos demonstraram que a infecção artificial única com doses variadas de ovos embrionados de *A. galli* influenciam a taxa de estabelecimento da infecção. Doses maiores de ovos levaram ao aparecimento de uma menor taxa de fêmeas e conseqüentemente um baixo nível de excreção de ovo, além de contribuírem para a redução do tamanho e peso dos parasitas. Porém estas alterações não afetaram fecundidade destes (PERMIN, *et al.* 1997).

Segundo Ackert e Herrick (1928) e Ackert (1931), os sintomas mais graves ocorrem durante a segunda semana da infecção, quando as larvas encontram-se na mucosa intestinal, causando congestão e hemorragia, podendo levar a uma enterite hemorrágica quando a infecção é pesada e enterite catarral crônica nas infecções moderadas. Os galináceos afetados podem tornar-se anêmicos, hipoglicêmicos, diminuindo a quantidade de vitamina A no fígado e apresentam um timo relativamente pequeno (ACKERT 1940).

Sabe-se que infecção por *Ascaridia galli* pode conduzir a um desequilíbrio de alguns elementos biogênicos (zinco, cobre, cobalto, manganês) principalmente em filhotes. (GABRASHANSKA *et al.*, 1987; 2002). Isto resulta em uma diminuição em ganho de peso, mortalidade alta e outros sintomas patológicos secundários conectados com as perturbações ou deficiências minerais (TSOCHEVA-GAYTANDZHIEVA *et al.*, 2003).

Outros problemas relacionados à infecção com este parasita são demonstrados em estudos recentes que têm verificado a presença de *A. galli* associada a bactérias patogênicas como *Pasteurella multocida* e *Salmonella sp.* Chadfield *et al.* (2001) estudando *A. galli* como potencial vetor de *Salmonella enterica* em aves, demonstraram uma associação da bactéria com os ovos deste nematóide verificando a presença desta dentro dos ovos de *A. galli*. Estes ovos foram administrando artificialmente e o aparecimento da infecção por *Salmonella* nas aves foi confirmado.

Da mesma forma, Dahl *et al.* (2002) verificaram em criações orgânicas de frango na Dinamarca, uma alta prevalência na interação entre *A. galli* com a *Pasteurella multocida*.

Segundo eles, as aves foram mais severamente afetadas quando infectadas com ambos patógenos do que aquelas com a infecção simples. Estas apresentaram perda no ganho de peso e produção e também resultou num número maior de lesões patológicas e na excreção continuada de *P. multocida*, aumentando assim a contaminação do ambiente.

A prevenção da ascaridiose aviária depende, sobretudo, de um bom saneamento, evitando que as aves tenham acesso às suas excretas (LEVINE, 1980), no entanto na avicultura alternativa este controle é dificultado, pois as aves constantemente têm acesso ao pasto. Segundo ele, deve ser evitado ainda, piso de pedra a não ser quando o mesmo tenha sido submetido a uma dessecação. As fezes devem ser amontoadas por um período de três dias ou mais para promover uma fermentação e destruição dos ovos pelo aquecimento. Se as aves são mantidas ao ar livre as jovens não devem ser mantidas com as mais velhas e uma atenção especial deve ser dada à área próxima aos bebedouros.

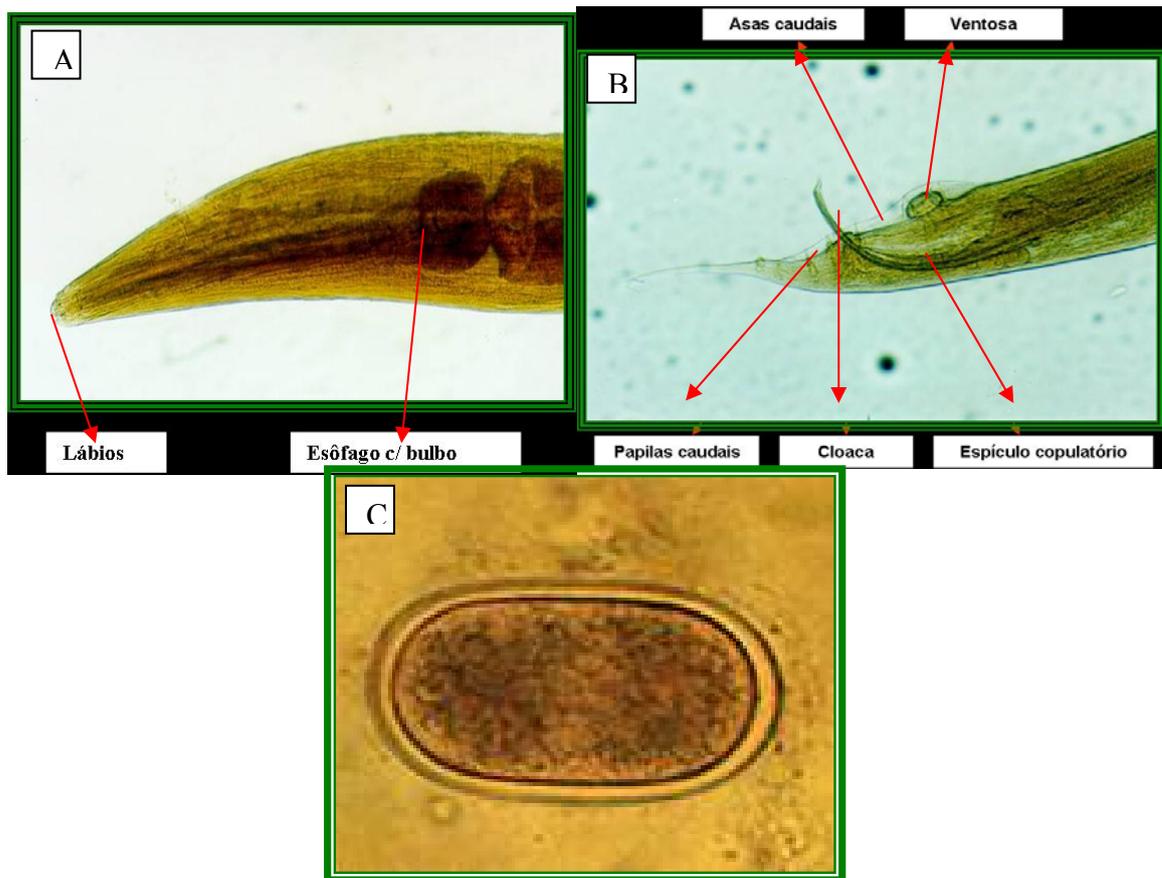
#### **2.4.2. *Heterakis gallinarum* (Schrank, 1788) Madsen, 1949**

Nematóide pertencente à superfamília Subuluroidea e Família Heterakidae. A extremidade anterior o orifício oral é circundado por três lábios iguais e o esôfago apresenta um desenvolvido bulbo na parte posterior. Esta espécie semelhante a *A. galli* apresenta dimorfismo sexual com relação à sua extremidade posterior, onde os machos medem de 7-13 mm de comprimento, apresentam uma cauda provida com asa larga, sulco pré-cloacal proeminente, circular e doze pares de papilas. O espículo direito mede de 0,85-2,80 mm de comprimento e o esquerdo 0,37-1,10 mm. A fêmea mede de 10-15mm de comprimento e a vulva abre-se na metade do corpo e a extremidade posterior é afilada. Os ovos são de forma elíptica, possuem casca grossa e lisa e medem de 65-80 $\mu$  por 35-46 $\mu$ , não segmentados quando liberados (Figura 8). (LEVINE, 1980; SOULSBY, 1987).

Wright (1977) descreve o lábio deste parasita como sendo o órgão sensorial. Examinando por meio de scane e microscopia eletrônica de transmissão este verificou a presença de dois pares papilas grandes visíveis externamente sobre o lábio dorsal, além de uma pequena papil presa sobre os lábios subventrais. Internamente a anatomia das papilas indicam a presença de receptores como nas papilas ventrolaterais que podem esta relacionados com mecano e quimiorreceptores.

O ciclo biológico inicia-se com a eliminação dos ovos juntamente com as fezes do hospedeiro e, encontrando condições favoráveis de temperatura e umidade, alcançam o segundo estágio larvar infectivo (L<sub>2</sub>) em 14 dias ou mais (SOULSBY, 1987). Segundo Perez *et al.* (1981), a temperatura ideal para os ovos alcançarem a fase infectante oscila entre 28-35°C. Estes observaram, ainda, que a umidade relativa ideal está entre 90-100% e que entre 50-80% dos ovos não alcançam a forma infectiva.

As aves são infectadas pela ingestão dos ovos e alguns destes eclodem no papo, na moela ou no duodeno. Duas horas após a infecção as L<sub>2</sub> são encontradas no intestino delgado, e passam para o ceco 6,5 horas após a ingestão. Muitas delas permanecem no lúmen, porém algumas invadem a superfície da mucosa retornando à luz de 2 a 5 dias após a infecção. Estas mudam para o terceiro estágio entre 4 e 6 dias e para o quarto estágio depois de 9 a 10 dias, alcançando o estágio adulto em cerca de 14 dias após a infecção. As fêmeas tornam-se maduras e os primeiros ovos são eliminados nas fezes em cerca de 24 a 36 dias após a infecção (FORTES, 2004). Segundo Urquhart *et al.* (1998) a minhoca serve de hospedeiro de transporte, com os ovos simplesmente passando pelo intestino, ou como hospedeiro paratênico, nos quais o ovo eclode e a L<sub>2</sub> segue para os tecido a fim de aguardar o momento em que a minhoca é ingerida pela ave e esta é liberada.



**Figura 7.** Fotomicrografia da extremidade anterior, posterior e do ovo de *Heterakis gallinarum* Schrank, 1788), Madsen, 1949 (Lactofenol, 100X (A e C) e 400X (B))

#### 2.4.2.1. Patogenia, diagnóstico e controle do *H. gallinarum*

Saunders *et al.* (2000) verificaram a importância da disponibilidade de oxigênio para o embrião dos ovos de *H. gallinarum*. Estes observaram que o oxigênio é essencial para o desenvolvimento dos ovos, juntamente com os ciclos diários de variação da temperatura entre 12 e 22°C, uma vez que os ovos submetidos à anaerobiose não se desenvolveram e os que foram mantidos em aerobiose em temperatura constante tiveram um percentual de desenvolvimento muito baixo. Assim, flutuações diárias da temperatura influenciam o desenvolvimento dos estágios de vida livre.

O efeito direto do *H. gallinarum* não é de grande importância, a não ser no caso de uma infecção pesada, na qual ocorreria um espessamento da mucosa cecal com presença de petéquias, embora nenhum efeito maléfico é descrito em tais infecções. Mesmo assim, o *H. gallinarum* é importante por ser a espécie que transmite a histomoníase (entero-hepatite infecciosa), conhecida vulgarmente como “cabeça negra” em perus (URQUHART *et al.*, 1998). Segundo Bowman *et al.* (2006) este nematóide serve como hospedeiro paratênico do *Histomonas meleagridis*. Este protozoário ao ser ingerido pelo nematóide vai se localizar dentro do ovo deste parasito. Os ovos contendo o *H. meleagridis* são liberados no ambiente e são ingeridos pelas aves, no intestino destas ocorre liberação da larva de *H. gallinarum* juntamente com o protozoário que irá para o ceco onde se multiplicará.

Meneses *et al.* (2003) verificaram a presença de tiflíte nodular no ceco de faisões. As lesões foram caracterizadas através de congestão, engrossamento, hemorragias petequiais da mucosa, intussuscepção e nódulos na parede cecal. Sob microscopia, verificou-se tiflíte difusa crônica, hemosiderose, granulomas necróticos concentrados na submucosa e leiomiomas na submucosa muscular e serosa associadas com as formas imaturas de *H. gallinarum*. Alterações mais severas foram associadas com infecções concomitantes de *H. gallinarum* e *H. isolonche* em faisões dourados, sendo caracterizadas através de várias áreas necróticas e granulomas de células gigantes na submucosa. Serosa com necrose centralizada e nódulos neoplásicos dentro da camada muscular e submucosa.

Brener *et al.* (2006) em um estudo de prevalência e patologia relacionadas a presença do nematoide *H. gallinarum* associado com protozoário *H. meleagridis*. Estes verificaram que *H. gallinarum* apresentou uma prevalência de 70% sem lesões grosseiras quando não associado ao *H. meleagridis*. Porém, quando avia a associação dos dois parasitas observou-se um processo inflamatório severo no fígado e no ceco com presença de pequenas áreas claras cercadas de eosinófilos.

O diagnóstico da infecção é feito pelo achado dos ovos nas fezes de forma semelhante às técnicas adotadas para identificação de *A. galli*. Segundo Levine (1980), a adoção das medidas efetivas na prevenção da infecção por *A. galli* são também aplicáveis no controle de *H. gallinarum*.

### 3. CAPITULO I

## AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA “IN VITRO” DA ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA DE EXTRATOS DE PLANTAS SOBRE NEMATÓIDE *Ascaridia galli* (SCHRANK, 1788) FREEBORN, 1923

### RESUMO

A biodiversidade das florestas tropicais constitui-se na principal fonte de biomoléculas para produção industrial de medicamentos. Sendo as plantas fontes importantes de produtos biologicamente ativos, constituindo-se em modelos para síntese de um grande número de fármacos. O presente trabalho teve por objetivo determinar a atividade anti-helmíntica “*in vitro*” dos extratos aquosos (EA) e etanólicos (EE) das plantas *Annona squamosa*, *Hymenaea courbaril*, *Operculina macrocarpa*, *Simarouba versicolor* e *Scoparia dulcis* sobre *Ascaridia galli*. As partes usadas foram: folha, casca, tubérculo e casca, respectivamente, sendo que para *S. dulcis* usou-se sumidade florida, caule e raiz. Estas foram submetidas à secagem em estufa de circulação forçada de ar durante três dias na temperatura de 45° C ( $\pm 1$ ) e posteriormente trituradas. O EA foi preparado na concentração inicial de 10% e o EE foi obtido colocando-se 500 a 1000g da matéria vegetal em etanol seguida de quatro extrações a frio. Os parasitos adultos, macho/fêmeas coletados de aves necropsiadas foram colocados em placas de Petri, divididos em grupos de dez/placa com três repetições para cada concentração. Estas continham os extratos nos volumes de 2, 4, 8, 16 e 32 mL acrescidos de 58, 56, 52, 44 e 28 mL da solução de “Tyrode”, completando um volume final de 60 mL/placa. Através do peso seco calculou-se as concentrações em mg/mL. As placas foram incubadas em estufa tipo B.O.D. a 37°C ( $\pm 1$ ) e observadas nas primeiras seis horas e depois a cada 24h totalizando 96 h. Neste período verificou-se o percentual de mortalidade. Os maiores percentuais de mortalidade observados para as diferentes plantas com seus respectivos extratos foram: EA de *A. squamosa* nas concentrações 2,4 e 9,6 mg/mL (63,33% e 53,33%); EE de *H. courbaril* nas concentrações 0,84; 1,7; 3,4 e 6,8 mg/mL (90%; 63,33%; 96,67% e 100%); EE de *O. macrocarpa* nas concentrações 1,0 e 2,0 mg/mL (63,33% e 56,67%); EA de *S. versicolor* na concentração 3,2 mg/mL (63,33%); EE de *S. versicolor* na concentração 6,8 mg/mL (73,33%); EA da sumidade florida de *S. dulcis* nas concentrações 3,8; 7,6 e 15,2 mg/mL (80%; 76,7% e 76,7%); EE da sumidade florida de *S. dulcis* nas concentrações 3,4 e 6,8 mg/mL (66,67% e 73,33%); EA do caule de *S. dulcis* nas concentrações 27,20 e 54,4 mg/mL (53,33% e 76,7%); EE do caule de *S. dulcis* na concentração 6,8 mg/mL (56,67%). Registrou-se melhor resultado para *H. courbaril* e *O. macrocarpa* quando usou-se o EE, porém a *H. courbaril* foi a que obteve resultados semelhantes ao controle positivo ( $P < 0,05$ ). Enquanto *A. squamosa* teve no EA os melhores resultados. Acredita-se que as substâncias responsáveis pelo efeito sejam liberadas em álcool e água, respectivamente. Quanto a *S. versicolor* não houve diferença significativa entre os extratos ( $P > 0,05$ ) e a *S. dulcis* apresentou melhor resultado com a sumidade florida e o caule, porém sem diferença entre os extratos ( $P > 0,05$ ). Estes resultados sugerem que todas as plantas apresentam uma potencial atividade anti-helmíntica para este parasita.

**PALAVRAS-CHAVE:** Atividade anti-helmíntica; *in vitro*, extratos, plantas; *Ascaridia galli*

**PHARMACOLOGICAL EVALUATION OF ACTIVITY “IN VITRO”  
ANTHELMINTIC DE EXTRACTS OF PLANTS ON NEMATODE *Ascaridia galli*  
(SCHRANK, 1788) FREEBORN, 1923**

**ABSTRACT**

The biodiversity tropical forests is on the main source of biomolecules for production of medicines. As the plants major sources of biologically active products, establishing in models for synthesis of a large number of drugs. The aim of this study was to determine the antihelmintic activity “*in vitro*” of aqueous extracts (AE) and ethanolic extracts (EE) of the plants *Annona squamosa*, *Hymenea courbaril*, *Operculina macrocarpa*, *Simarouba versicolor* and *Scoparia dulcis* on *Ascaridia galli*. The parties were used: leaves, bark, bark and tuber, respectively, and for *S.dulcis* used to sumidade florida, stem and root. These were submitted to drying in a forced circulation of air for three days in the temperature of 45 ° C ( $\pm$  1) and subsequently crushed. The AE was obtained with a initial concentration of 10% and EE was obtained rubbing up 500 to 1000g of vegetable matter in ethanol followed by four extractions the cold. Parasites adults helminth, male/female, collected of chicken necropsied were placed in Petri plates, divided into groups of ten/plate with three replicates for each concentration. These contain the extracts in volumes of 2, 4, 8, 16 and 32mL plus of 58, 56, 52, 44 and 28 mL of the Tyrode solution, completing end volume of 60 mL/plate. Through the dry weight is calculated concentrations in mg/mL. The plates were incubated in a B.O.D. at 37 ° C ( $\pm$  1) and observed the first six hours and then every 24 hours totaling 96 h. In this period verified the percentage of mortality. The higher percentage of mortality observed for the different plants with their extracts were: AE of *A. squamosa* at concentrations 2.4 and 9.6 mg / mL (63.33% and 53.33%); EE of *H. courbaril* at concentrations 0.84, 1.7, 3.4 and 6.8 mg / mL (90%, 63.33%, 96; 67% and 100%); EE, *O. macrocarpa* at concentrations 1.0 and 2.0 mg / mL (63.33% and 56.67%); AE de *S. versicolor* in concentration 3, 2 mg / mL (63.33%), EE, *S. versicolor* in the concentration 6.8 mg / mL (73.33%); AE's sumidade florida of *S. dulcis* at concentrations 3.8; 7.6 and 15.2 mg / mL (80%, 76.7% and 76.7%); EE of sumidade florida of *S. dulcis* at concentrations 3.4 and 6.8 mg / mL (66.67% and 73.33%); AE stem from the *S. dulcis* in concentrations 27.20 and 54.4 mg / mL (53.33% and 76.7%); EE the stem of *S. dulcis* in concentration 6.8 mg / mL (56.67%). The EE of *A. squamosa* and the root of *S. dulcis* and AE of *H. courbaril* and the root of *S. dulcis* in different concentrations did not differ statistically tested negative control ( $P > 0.05$ ), while *A. squamosa* had the best results in the AE. It is believed that the substances responsible for the effect are released in alcohol and water, respectively. In *S. versicolor* there was no significant difference between the extracts ( $P > 0.05$ ) and *S. dulcis* presented better results with sumidade florida and stem, but no difference between the extracts ( $P > 0.05$ ). These results suggest that all plants have a potential antihelminic activity for east parasite.

**KEYWORDS:** Activity anthelmintic; “*in vitro*”, extracts, plants; *Ascaridia galli*

## 1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas, além de outros produtos naturais, na terapêutica e prevenção de doenças, pode ser detectada em diferentes formas de organização social, constituindo-se uma prática milenar associada aos saberes populares, médicos e a rituais. A investigação acadêmica na área de plantas medicinais no Brasil expandiu e consolidou-se a partir do séc. XX e está relacionada à implementação de instituições de pesquisa e à organização das disciplinas que estudam, principalmente à botânica, à química e a farmacologia. (FERNANDES, 2004d).

Embora o uso de plantas tenha passado por um a fase de ostracismo, devido à evolução da indústria farmacêutica baseada na produção de medicamentos sintéticos, momentos de grandes transformações e mudanças de paradigmas vêm ocorrendo. As novas tendências globais de preocupação com a biodiversidade e as idéias de desenvolvimento sustentável, trouxeram novos ares ao estudo das plantas medicinais brasileiras. Novas linhas de pesquisas foram estabelecidas em universidades brasileiras, algumas delas buscando bases sólidas para a validação do uso de plantas medicinais (LORENZI; MATOS, 2002).

Atualmente a biodiversidade das florestas tropicais constitui-se na principal fonte de biomoléculas para produção industrial de medicamentos, cuja venda mundial chega a 30 bilhões de dólares anuais, mercado em ampla expansão. No Brasil, o crescimento do mercado de medicamentos fitoterápicos é da ordem de 15% ao ano, enquanto o crescimento anual do mercado de medicamentos sintéticos gira em torno de 3 a 4% (ABIFITO, 2002). Este é considerado um dos países com maior diversidade vegetal, abrigando 55 mil espécies catalogadas (DIAS, 1996). País igualmente rico em diversidade cultural, estima-se que 4.000 espécies vegetais sejam usadas com fins medicinais, resultado da observação e manejo da flora por povos tradicionais.

Assim, as plantas são fontes importantes de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem em modelos para síntese de um grande número de fármacos. Pesquisadores na área de produtos naturais mostram-se impressionados pelo fato desses produtos encontrados na natureza revelarem uma gama de diversidade em termos de estrutura e de propriedades físico-químicas e biológicas (WALL; WANI, 1996). Apesar do aumento de estudos nessa área, os dados disponíveis revelam que apenas 15 a 17% das plantas foram estudadas quanto ao seu potencial medicinal (SOERJATO, 1996).

Dentro desta perspectiva, as plantas aparecem como uma opção na substituição de anti-helmínticos sintéticos que tenham levado ao estabelecimento de resistência. De acordo com Hammond *et al.*, (1997) aqueles produtos apresentam algumas desvantagens, tais como: custo elevado, indução de resistência, poluição do meio ambiente e contaminação dos alimentos através dos resíduos. Observando tais circunstâncias e dependendo de sua eficácia, as plantas consideradas na medicina tradicional como anti-helmínticas oferecem uma alternativa que poderia superar alguns destes problemas. Desta forma, muitos princípios ativos com diferentes modos de ação têm sido isolados a partir de plantas e seriam úteis onde à resistência se desenvolveu,

Um grande o número de pesquisas sobre prevalências das helmintíases aviárias têm sido realizadas, tanto no Brasil como no exterior. Magwisha *et al.*. (2002) comparando a prevalência de helmintos em criações extensiva na Tanzânia verificaram a presença de *A. galli* em 69% das aves jovens e 29% em adultos. Da mesma forma, Eshetu *et al.* (2001) estudando a prevalência de helmintos de aves na Etiópia constataram 91% de positividade em 267 aves, sendo que estas apresentavam de uma a nove espécies de parasitos e dentre estes

17,28% eram de *A. galli*. Estes estudos de prevalência ganham importância no momento em que na avicultura orgânica e colonial, os animais passam a ter acesso a pasto, o que vem a possibilitar o fechamento do ciclo do parasita, principalmente no que diz respeito ao *A. galli*, os quais, eliminam seus ovos contaminando os pastos e dificultando o controle.

Pertencente ao Filo Nematoda, superfamília Ascaridoidea e Família Ascarididae o *Ascaridia galli* é um parasita que tem o corpo cilíndrico, relativamente grande, de cor branco-amarelada. Segundo Ackert (1931), na infecção causada por este nematoide os sintomas mais graves ocorrem durante a segunda semana, quando as larvas encontram-se na mucosa intestinal, causando congestão e hemorragia, podendo levar a uma enterite hemorrágica quando a infecção é pesada e enterite catarral crônica nas infecções moderadas. Os galináceos afetados podem tornar-se anêmicos, hipoglicêmicos, diminuindo a quantidade de vitamina A no fígado e apresentam um timo relativamente pequeno (ACKERT 1940). Outros problemas relacionados à infecção com este parasita são demonstrados em estudos recentes que têm verificado a presença de *A. galli* associada a bactérias patogênicas como *Pasteurella multocida* e *Salmonella sp.* Chadfield *et al.* (2001) estudando *A. galli* como potencial vetor de *Salmonella enterica* em aves. Da mesma forma, Dahl *et al.* (2002) verificaram em criações orgânicas de frango na Dinamarca, uma alta prevalência na interação entre *A. galli* com a *Pasteurella multocida*.

Embora, o uso de linhagens de galinhas naturalmente resistente a infecções por helmintos tem sido estudado, a variação individual quanto à resistência natural é um fenômeno difundido, atribuído a controle genético do sistema imune, e pode ser então possível identificar diferenças específicas em suscetibilidade para muitas doenças (BUMSTEAD *et al.*, 1991). Muito pouco, ainda, é conhecido sobre suscetibilidade genética para infecções parasitárias, particularmente infecções de helmintos em galinhas, embora tal conhecimento tenha uma aplicação prática selecionando, ou criando uma linhagem resistente à infecção (SCHOU *et al.*, 2003, PERMIN; RANVIG, 2001, GAULY *et al.*, 2002). Assim sendo, os estudos sobre tratamentos alternativos de nematóides da família Ascarididae são importantes para o fortalecimento da avicultura comercial e orgânica, favorecendo, também, a agricultura familiar que tem na criação de aves domésticas uma excelente fonte de proteínas, além de ser uma forma de complementação da renda do pequeno agricultor.

Embora muitas plantas sejam listadas como possuidoras de atividade anti-helmíntica, poucas têm sido submetidas a uma avaliação científica para determinar seu potencial terapêutico. Necessitam também de uma padronização biológica e de um estudo químico que possibilitem não apenas a identificação de princípios ativos, mas um melhor rendimento no processo de obtenção (FERNANDES, 1998). Dentro desta perspectiva, o presente trabalho objetivou determinar a atividade anti-helmíntica “*in vitro*” das plantas *Annona squamosa*, *Hymenaea courbaril*, *Operculina macrocarpa*, *Simarouba versicolor* e *Scoparia dulcis* sobre o nematóide *Ascaridia galli*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios farmacológicos foram conduzidos no período de março de 2004 a janeiro de 2007 no anexo do Biotério Experimental do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Piauí (UFPI).

### 2.1. Procedimentos Preliminares

#### 2.1.1. Obtenção da Matéria Vegetal

A matéria vegetal foi coletada nos Estados do Piauí e Maranhão, sendo identificadas e depositadas no Herbário Graziela Barroso do Núcleo de Referência das Ciências Ambientais do Trópico Ecotonal do Nordeste (TROPEN) da UFPI (Quadro 1). Posteriormente o material botânico foi submetido a secagem em estufa de circulação forçada de ar<sup>1</sup> durante três dias a uma temperatura máxima de 45° C ( $\pm$  1) foi triturado em macromoinho de facas do tipo Willye, obtendo-se um pó que foi acondicionado em um frasco de vidro âmbar hermeticamente fechado e identificado, onde permaneceu até o momento do preparo dos extratos.

**Quadro 1.** Identificação das espécies estudadas e os números de registros das depositadas no Herbário Graziela Barroso do TROPEN.

Família	Espécie	Nome Vulgar	Parte usada	Procedência	Nº da Excicata	Coleta
Annonaceae	<i>Annona squamosa</i> , L	Fruta-do-Conde	Folha	Teresina, Pi 50°05' 42°49'	TEPB-9.482	11/2005
Convolvulaceae	<i>Operculina macrocarpa</i> , (L.) Farw.	Batata-de-Purga	Tubérculo	Angical, Pi 6°05' 41°28'	TEPB-20.883	12/2005
Farbaceae	<i>Hymenea courbaril</i> , L.	Jatobá	Casca	Teresina, Pi 50°05' 42°49'	TEPB-21.654	02/2005
Simaroubaceae	<i>Simarouba versicolor</i> , St. Hill.	Pau-Paraíba	Casca	Angical, Pi 6°05' 41°28'	TEPB-14.301	06/2005
Scrophulariaceae	<i>Scoparia dulcis</i> , L	Vassourinha	Sumidade Florida Caule Raiz	Timon, Ma 5°5' 42°50'	TEPB-20.519	04/2005

#### 2.1.2. Preparo dos Extratos

Os extratos aquosos (EA) foram obtidos através da decocção, na qual, utilizou-se 100g da matéria vegetal (pó) para 1000 mL de água destilada deixando-se ferver por aproximadamente três minutos. Após o resfriamento à temperatura ambiente, a solução obtida foi filtrada e acondicionada em um vidro âmbar previamente identificado, em seguida foram mantidos sob refrigeração até o momento de seu uso. Para obtenção da concentração em mg/mL os EA na concentração de 10% foram submetidos a determinação do peso seco (item 2.1.3)

<sup>1</sup> Estufa com circulação mecânica, Mod. 320 E com Controlador Microprocessado Mod. 320 MP. Fabricante: Fanem Ltda.

O extrato etanólico (EE) foi obtido colocando-se de 500 a 1000g da matéria vegetal em etanol PA<sup>2</sup> de forma que esta ficasse totalmente imersa no líquido. Então, deixou-se durante quatro dias em temperatura ambiente num processo de maceração a frio. Passado este período o etanol foi retirado e filtrado com auxílio de um funil e papel de filtro, depois o extrato acondicionado em frascos âmbar e guardado ao abrigo da luz até a conclusão das extrações. Após quatro extrações sucessivas juntou-se, em uma cuba, todo o líquido extraído e fez-se a homogeneização. Em seguida procedeu-se à retirada do etanol utilizando-se um evaporador rotativo<sup>3</sup> a 40° ( $\pm 1$ ) acoplado um banho termostatizado<sup>4</sup>. Após este procedimento submeteu-se ao processo de liofilização para retirar a água restante no extrato. Para a realização dos testes “*in vitro*” o extrato foi diluído na concentração de 12,5 mg/mL em dimetilsulfóxido<sup>5</sup> (DMSO) na concentração de 12,5%.

### 2.1.3. Determinação do peso seco

Consistiu na retirada de uma alíquota de 1 mL de cada extrato que foi colocada em frascos limpos, previamente pesados e identificados, os quais foram colocados na estufa de circulação forçada de ar<sup>1</sup> a uma temperatura de 45° C (máxima  $\pm 2$ ) até a obtenção de um peso constante, procedimento realizado em triplicata. A massa média obtida referente a 1mL foi relacionada ao respectivo volume total, obtendo-se então a massa total em mg/mL.

## 2.2. Atividade anti-helmíntica *in vitro*

Para determinação da atividade anti-helmíntica foram escolhidas as formas adultas, machos e fêmeas de *A. galli* coletadas a partir do intestino delgado das aves necropsiadas. O sacrifício das aves ocorreu através de deslocamento cervical, seguido de sangria de acordo com a resolução nº 714 de 20/06/2002 do Conselho Federal de Medicina Veterinária – CFMV.

Os parasitos assim obtidos foram lavados minuciosamente com solução salina 0,9% pré-aquecida em banho-maria a 37°C para evitar o choque térmico. Os helmintos mais ativos após a lavagem foram imediatamente transferidos para placas de Petri descartáveis (150x15mm) contendo solução de Tyrode (KALEYSA RAJ, 1975) pré-aquecida totalizando dez parasitos por placa, a qual foi adicionado o extrato teste (Figura 1).

Às placas que continham alíquotas de 2, 4, 8, 16 e 32 mL dos extratos testes adicionou-se em 58, 56, 52, 44 e 28 mL da solução de Tyrode respectivamente, de forma que cada placa ficasse com um volume final de 60 mL/placa. Procedimento semelhante foi feito para o grupo controle negativo, constituídos de água destilada e para os extratos etanólicos usou-se o DMSO a 12,5%, sendo colocados nos mesmos volumes. Como controle positivo usou-se uma solução de citrato de piperazina tetrahidratada<sup>6</sup> na concentração recomendada pelo fabricante e adaptada aos testes, onde se diluiu a piperazina em solução de Tyrode numa concentração final de 50 mg/mL (SHIVAKUMAR *et al.*, 1975).

Durante o experimento constituiu-se 14 grupos testes e três grupos controles, sendo utilizado 150 *A. galli* para cada grupo teste e controle negativo e 30 para o controle positivo num total de 2.430 nematóides. Estes foram distribuídos de forma que cada placa continha dez parasitas com três repetições para cada concentração. As placas contendo os extratos e os helmintos foram colocadas numa B.O.D.<sup>7</sup> a uma temperatura de 37° C ( $\pm 1$ ).

2. Alcool Etilico Absoluto: Etanol PA, PM= 46,07, Fabricante: Química Especializada Erich Ltda. (QEEL)

3. Evaporador Rotativo, Mod. Q-344B2, Fabricante: Quimis Aparelhos Científicos Ltda.

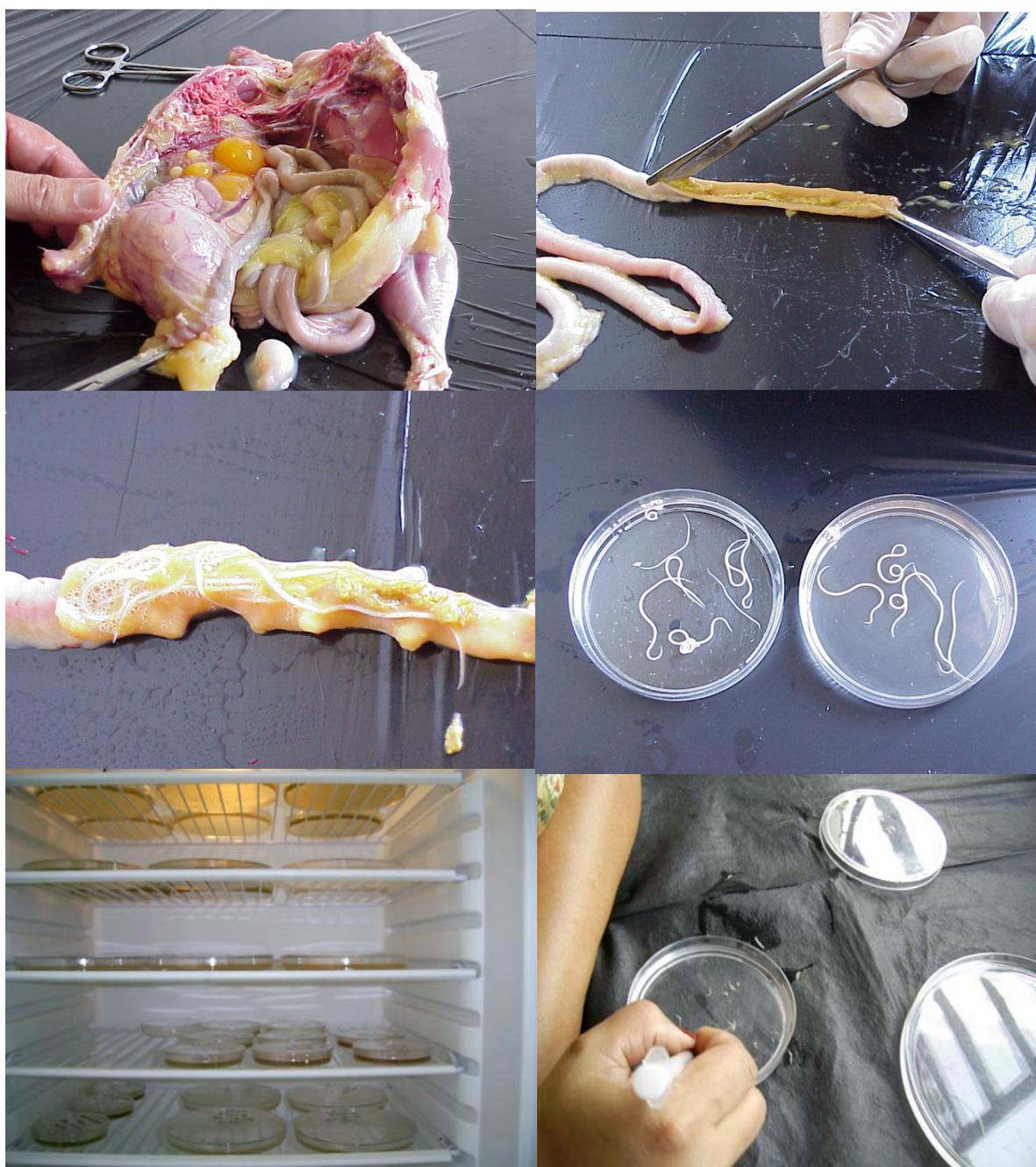
4. Banho termostatizado Mod. TE 2000, Fabricante: Tecnal Projetos, Assessoria e Instalações Industriais Ltda

5. Dimetilsulfóxido (DMSO) PA; (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, Fabricante= VETEC Química Fina Ltda.

6. Proverm Tortuga

7. Incubadora refrigerada B. O. D. Mod. TE 391, Fabricante: Tecnal Projetos, Assessoria e Instalações Industriais Ltda

Os parasitos foram observados nos períodos de 6, 24, 48, 72 e 96 horas para o teste de mortalidade (Figura 1). Àqueles com perda de motilidade, mesmo após uma breve pressão com estilete, eram considerados mortos (SHILASKAR & PARASAR, 1989). A porcentagem de parasitos mortos em cada grupo foi avaliada estatisticamente usando Análise de Variância da variável percentual de mortos e para comparação das médias aplicou-se o teste de Duncan de acordo com os procedimentos do software SAEG.



**Figura 1.** Necropsia das aves, coleta dos parasitos e aplicação dos testes *in vitro*.

### 3. RESULTADO E DISCUSSÃO

Os resultados das concentrações em mg/mL dos extratos aquosos (EA) dos volumes adicionado cada placa teste, calculados através da determinação do peso seco, estão demonstrados na tabela 1. Para o extrato etanólico (EE) observa-se que não houve variação nas concentrações de cada planta. Isto ocorreu devido à metodologia de obtenção deste extrato, no qual, este passa por um processo de evaporação para retirada do etanol e posteriormente por uma liofilização para retirada da água, obteve-se um produto seco ou pastoso capaz de ser pesado e diluído numa concentração fixa para todas as plantas testadas (Tabela 1). Pode-se observar, também, que algumas plantas como *S. dulcis* (caule e raiz) e *H. courbaril* (casca) apresentaram um peso seco maior, isto provavelmente deve-se a maior quantidade de substâncias solúveis em água.

**Tabela 1.** Concentração em mg/mL dos extratos aquoso e etanólico determinada a partir do peso seco.

Volume	ASFL	HCCC	OMTB	SDSF	SDCL	SDRZ	SVCC	EE
1ml	0,30	1,80	0,25	0,47	1,70	1,84	0,20	0,21
2ml	0,60	3,60	0,50	0,94	3,40	3,70	0,40	0,42
4ml	1,20	7,20	1,00	1,90	6,80	7,40	0,80	0,84
8ml	2,40	14,40	2,00	3,80	13,60	14,80	1,60	1,70
16ml	4,80	28,80	4,00	7,60	27,20	29,60	3,20	3,40
32ml	9,60	57,60	8,00	15,20	54,40	59,20	6,40	6,80
<b>Peso Seco</b>	<b>17,10</b>	<b>108,00</b>	<b>15,00</b>	<b>28,40</b>	<b>101,40</b>	<b>110,11</b>	<b>12,00</b>	<b>12,50</b>

ASFL = *Annona squamosa* folha; HCCC = *Hymenaea courbaril* casca; OMTB = *Operculina macrocarpa* tubérculo; SVCC = *Simarouba versicolor* casca; SDSF = *Scoparia dulcis* sumidade florida; SDCL = *Scoparia dulcis* caule; SDRZ = *Scoparia dulcis* raiz;

A *H. courbaril* apresentou no extrato etanólico um rendimento bem elevado, no qual obteve-se a quantidade 90g do extrato na forma de pó depois do processo de liofilização, sendo este resultado bastante expressivo pois, segundo Rates (2001) a grande dificuldade na realização de ensaios clínicos está relacionada com a quantidade de extrato e de princípio ativo obtidos das plantas e cita como exemplo o Taxol, isolado planta *Taxus brevifolia*, que para se obter 2,5 Kg deste produto é necessário 27.000 toneladas da casca.

A tabela 2 que espécie *Hymenaea courbaril* foi a que apresentou os melhores resultados com uma média de mortalidade de 70,7%, sendo que a concentração de 57,60 mg/mL foi capaz de causar a morte de 100% dos *A. galli* quando se utilizou-se o extrato etanólico, apresentando comportamento semelhante ao controle positivo. E a segundo melhor resultado foi obtido com o extrato aquoso da sumidade florida e do caule de *S. dulcis* com mortalidade média de 66,70% e 46,0%.

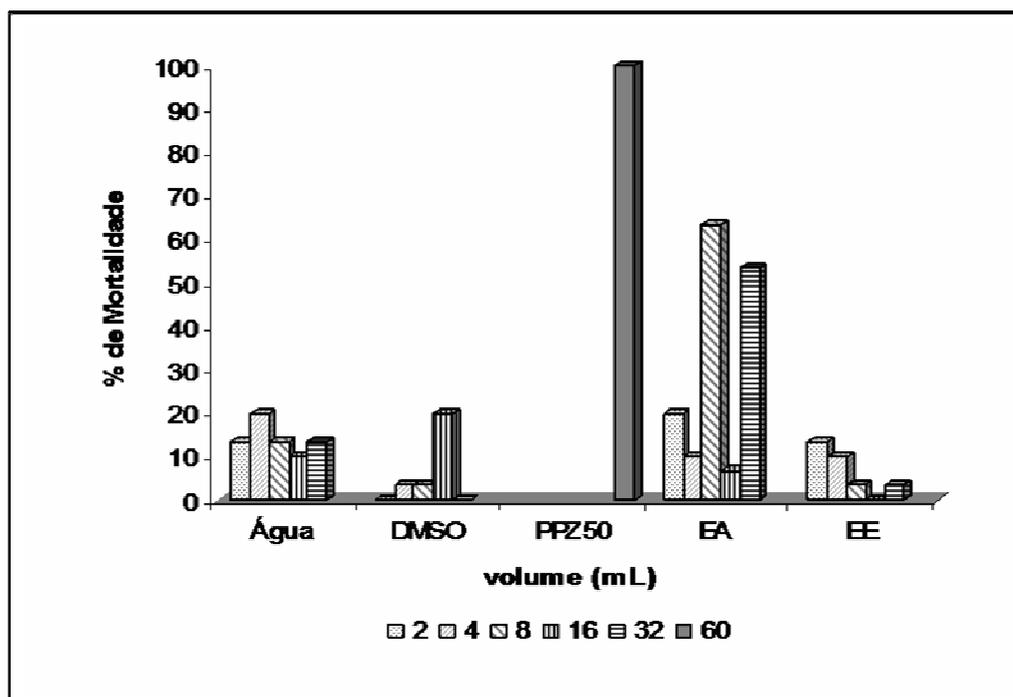
A planta *A. squamosa* esta apresentou uma atividade anti-helmíntica significativa quando comparado a seu controle negativo obtendo melhores resultados nas concentrações 2,40 e 9,60 mg/mL, porém o extrato etanólico foi incapaz de atuar sobre o nematóide *Ascaridia galli*, sugerindo que a substância responsável por este efeito está em maior concentração na fração aquosa. Quanto a *O. macrocarpa* e a *S. versicolor* apresentaram a maiores médias de mortalidade quando se usou o EE, com percentuais médios de mortalidade em torno de 38,70% e 26,70% (Tabela 2).

**Tabela 2.** Percentuais médio de mortalidade de *A. galli* dos extratos aquosos e etanólicos das plantas *A. squamosa*, *H. courbaril*, *O. macrocarpa*, *S. dulcis* e *S. versicolor*.

Volume (mL)	Água	DMSO	<i>A. squamosa</i>		<i>H. courbaril</i>		<i>O. macrocarpa</i>		<i>S. versicolor</i>		<i>S. dulcis</i>					
											Sumidade florida		Caule		Raiz	
			EA	EE	EA	EE	EA	EE	EA	EE	EA	EE	EA	EE	EA	EE
	-	-														
2	13,3	0,0	20,0	13,3	0,0	3,3	16,7	40,0	6,7	10,0	53,3	3,3	30,0	13,3	3,3	13,3
4	20,0	3,3	10,0	10,0	0,0	90,0	33,3	63,3	3,3	10,0	46,7	3,3	26,7	3,3	0,0	13,3
8	13,3	3,3	63,3	3,3	3,3	63,3	0,0	56,7	20,0	20,0	80,0	0,0	43,3	16,7	10,0	10,0
16	10,0	20,0	6,7	0,0	0,0	96,7	13,3	23,3	63,3	20,0	76,7	66,7	53,3	6,7	13,3	3,3
32	13,3	0,0	53,3	3,3	3,3	100,0	36,7	10,0	3,3	73,3	76,7	73,3	76,7	56,7	23,3	10,0
<b>Média</b>	<b>13,9</b>	<b>5,3</b>	<b>30,7</b>	<b>6,0</b>	<b>1,3</b>	<b>70,7</b>	<b>20,0</b>	<b>38,7</b>	<b>19,3</b>	<b>26,7</b>	<b>66,7</b>	<b>29,3</b>	<b>46,0</b>	<b>19,3</b>	<b>9,9</b>	<b>9,9</b>

### 3.1. *Annona squamosa*

Analisando a figura 2 pode-se verificar que o extrato aquoso (EA) de *A. squamosa* foi estatisticamente superior ( $P < 0,05$ ) quando comparados a seu grupo controle negativo (água) e também ao extrato etanólico (EE) e seu controle negativo (DMSO). Este só foi menos ativo que o controle padrão piperazina. Já o EE comportou-se de forma inversa ao esperado onde as menores concentrações foram capazes de apresentar alguma mortalidade, porém sem significância ( $P > 0,005$ ) quando comparados aos controles negativo e positivo, mesmo resultado observado nas concentrações maiores.



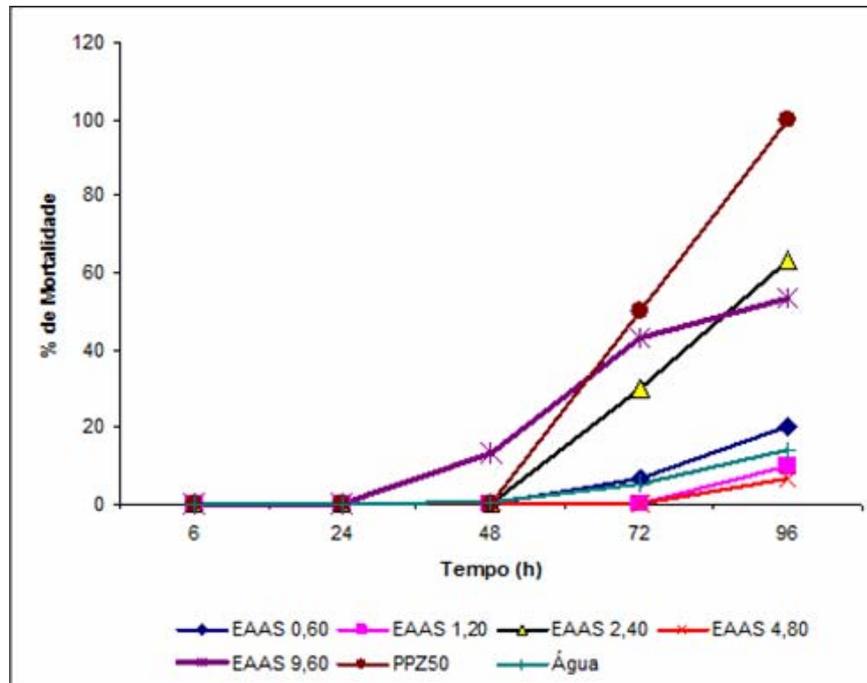
**Figura 2.** Percentual médio de mortalidade do *Ascaridia galli* tratado com os extratos aquoso e etanólico da folha de *Annona squamosa* com seus respectivos controles

Observa-se, também, que houve uma variação de comportamento entre as concentrações do EA, onde o maior efeito verificado quando usou-se 9,60 mg/mL (Tabela 1) que foi capaz de matar 63,33% de *A. galli*, fugindo do efeito dose dependente (Tabela 2), comportamento observado em vários momentos nas outras plantas estudadas neste experimento, com por exemplo o EEHC. A mortalidade causada pelo EA pode estar relacionada ao efeito hipoglicemiante das folhas de *A. squamosa* estudado por Gupta *et al.* (2005a) em animais de laboratório. Esta relação pode ser possível uma vez que, segundo Rim *et al.* (1965), o metabolismo de glicose neste parasito está muito mais relacionado com síntese de glicogênio, que é a reserva energética do parasito, do que com o processo oxidativo do CO<sub>2</sub> na respiração. Confirmando o efeito observado nas Figuras 2 e 3 quanto ao início da mortalidade destes parasitos.

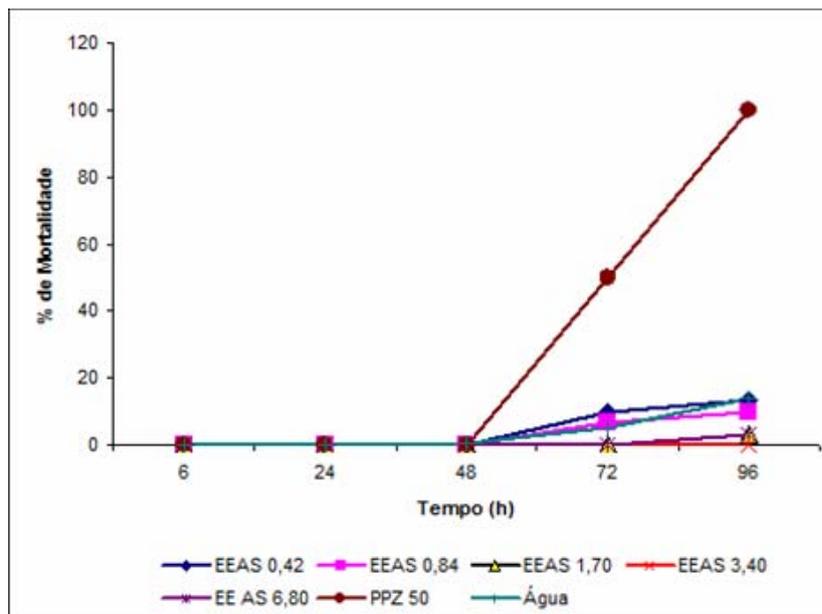
O início da mortalidade dos parasitos (Figura 3 e 4) para o EA e EE foi semelhante ao ocorrido com a piperazina em que registrou-se mortalidade após 48 horas de exposição. A exceção ocorreu exatamente com a concentração 9,60 mg/mL que apresentou mortalidade após 24 horas de exposição ao extrato. É interessante notar que a concentração 9,60 mg/mL (Tabela 1) do EA apresentou uma mortalidade de 53,33% e não diferiu estatisticamente

( $p > 0,05$ ) da concentração anterior, porém seu efeito só teve início após 48 horas de exposição (Figura 3).

Na figura 4 observa-se claramente que o EE da *A. squamosa* não apresentou efeito sobre *A. galli*, sugerindo que neste caso, a substância responsável pela mortalidade dos parasitos esteja em maior concentração na fração aquosa.



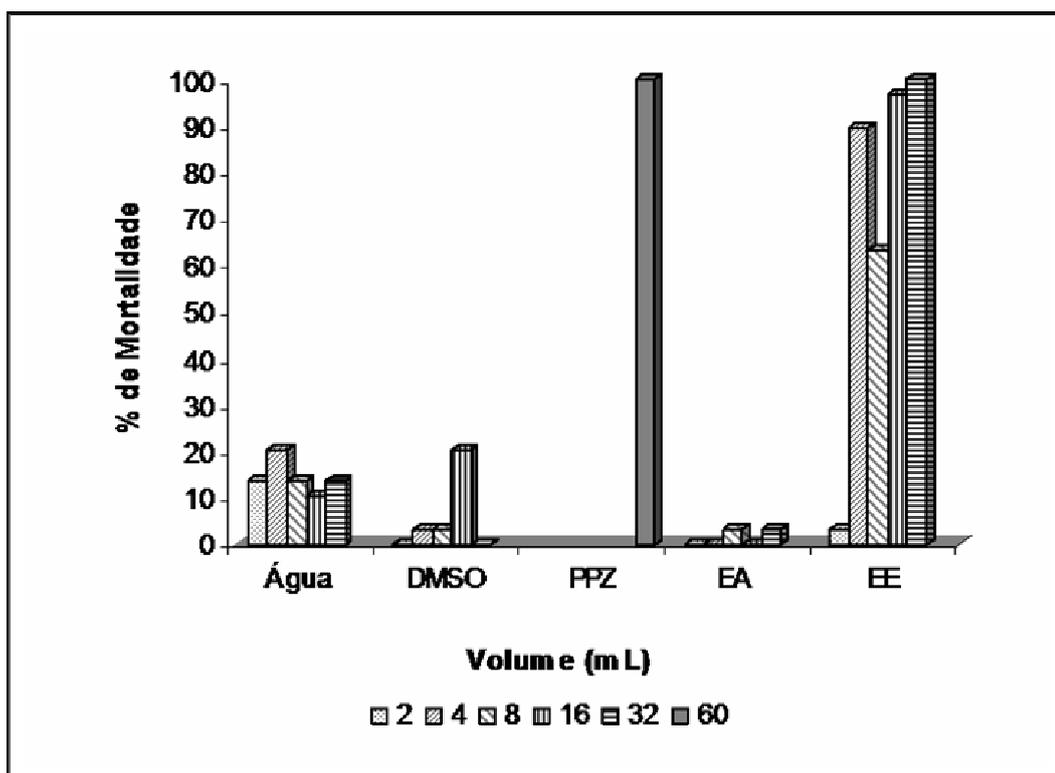
**Figura 3.** Efeito acumulado do extrato aquoso (mg/mL) da folha de *Annona squamosa* sobre *Ascaridia galli*



**Figura 4.** Efeito acumulado do extrato etanólico (mg/mL) da folha de *Annona squamosa* sobre *Ascaridia galli*

### 3.2. *Hymenaea courbaril*

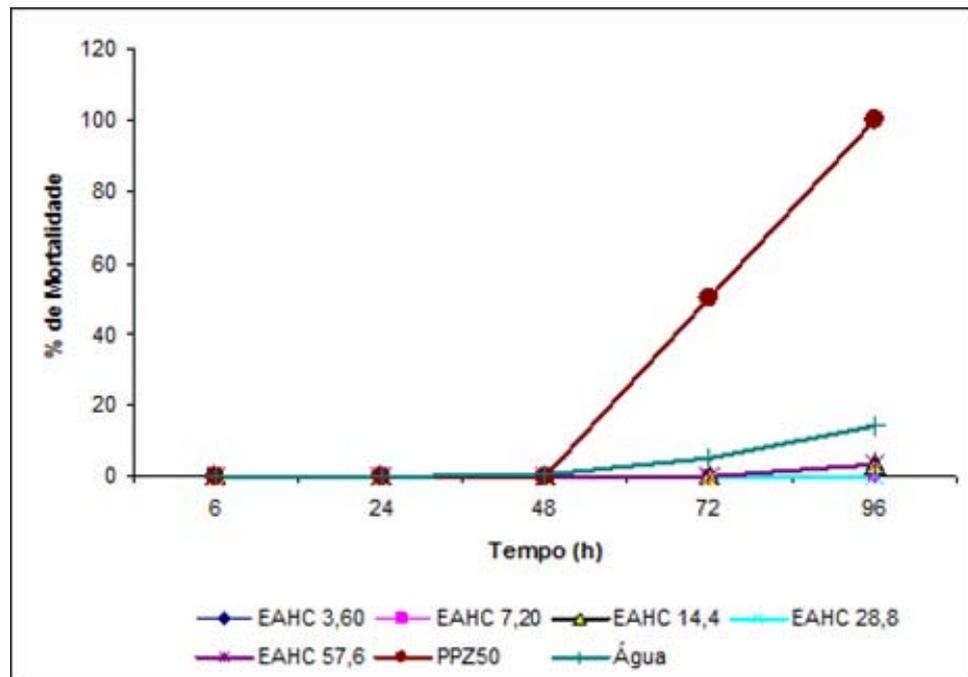
Esta planta, diferentemente, de *A. squamosa* apresentou resultado melhor quando usou-se o extrato etanólico. Este, nas concentrações de 3,40 e 6,80 mg/mL, apresentou mortalidade de 96,7% e 100% respectivamente, ao longo das 96 horas de observação, não diferindo estatisticamente ( $P>0,05$ ) do controle padrão (Tabela 2). Porém, o EA foi inferior ao seu grupo controle apresentando um percentual de mortalidade 3,33% para a maior concentração usada (57,6 mg/mL) o que correspondeu aproximadamente a 1/5 da mortalidade espontânea. Estes resultados sugerem que o princípio ativo responsável pela mortalidade esteja na fração etanólica sendo solúvel em álcool (Figura 5 e 6).



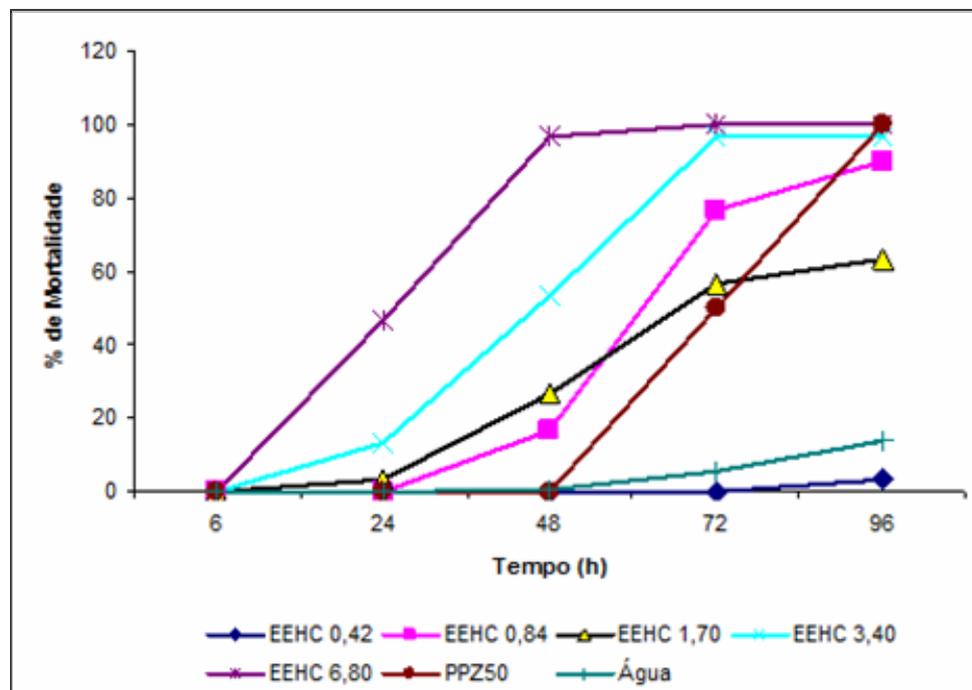
**Figura 5.** Percentual médio de mortalidade de *Ascarida galli* tratado com os extratos aquosos e etanólicos da casca de *Hymenaea courbaril* com seus respectivos controles.

Na figura 7 verifica-se que o efeito do EE de *H. courbaril* começa a ocorrer logo após ter decorrido seis horas de exposição ao tratamento com o EE. Pode-se observar também, que na concentração 6,80 mg/mL em 48 horas, já havia 96,75% de mortalidade e 100% dos parasitos estavam mortos em 72 horas de tratamento. Sendo este resultado bem mais pronunciado que o da piperazina que como citado anteriormente só apresentou mortalidade após 48 horas.

Durante a realização deste experimento verificou-se que os parasitos tratados com o EE do jatobá ficavam endurecidos e esticados após sua morte. Estes fatos nos levam a acreditar que o mecanismo de ação desta planta difere do mecanismo da piperazina que atua como agonista do GABA (ácido gama amino-butírico) abrindo os canais de cloro nas membranas musculares ligadas ao GABA provocando uma hiperpolarização celular que leva a diminuição da capacidade de contração muscular do parasito e conseqüentemente causa uma paralisia flácida nos mesmo (ANDRADE; 2002; REINEMAYER; COURTNEY, 2003).



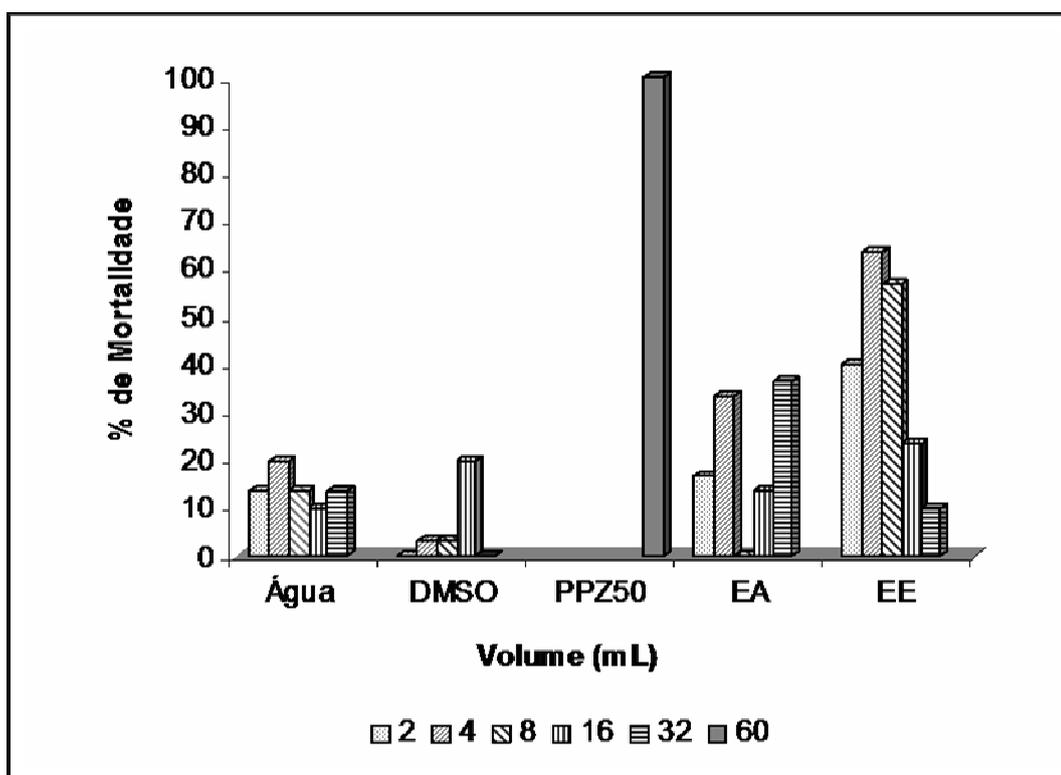
**Figura 6.** Efeito acumulado do extrato aquoso (mg/mL) da casca de *Hymenaea courbaril* sobre *Ascaridia galli*



**Figura 7.** Efeito acumulado do extrato etanólico (mg/mL) da casca de *Hymenaea courbaril* sobre *Ascaridia galli*

### 3.3. *Operculina macrocarpa*

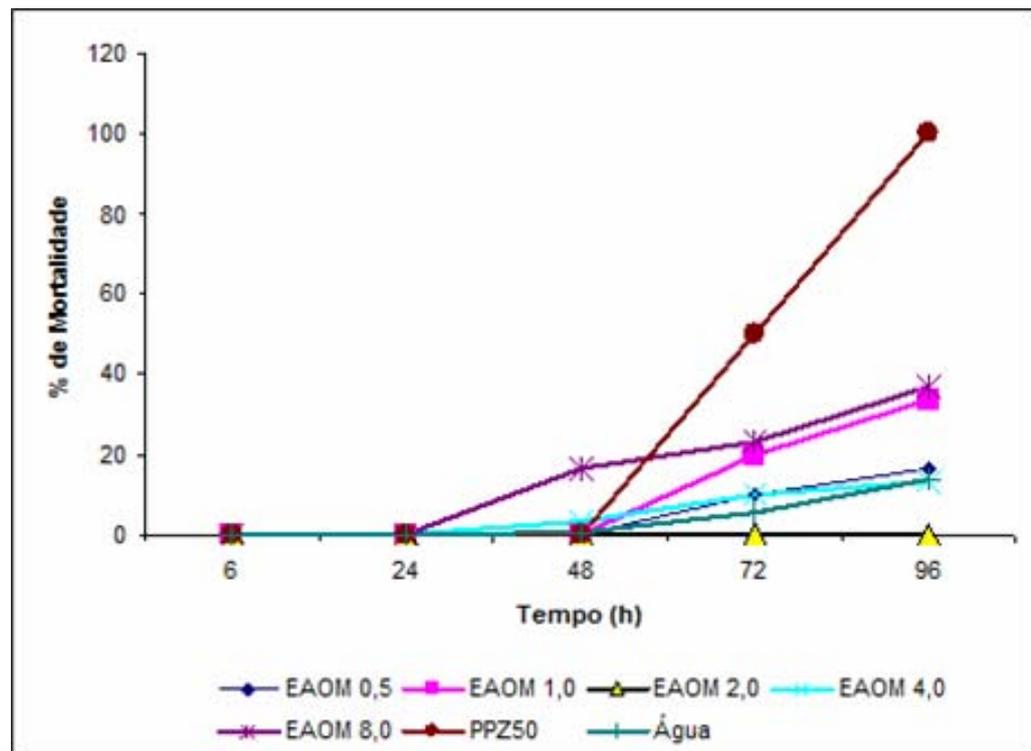
Da mesma forma que a *H. courbaril*, a *O. macrocarpa* apresentou melhores resultados quando se usou o extrato etanólico, sendo que a concentração deste extrato apresentou o maior percentual de mortalidade foi a 0,42 mg/mL com 63,33% que não diferiu dos resultados encontrados nas concentrações 0,21 e 0,84 mg/mL (40,0% e 56,67%) (Tabela 2). Além disto, este resultado foi estatisticamente superior ao apresentado pelo controle negativo ( $P < 0,05$ ). Observa-se também, um comportamento diferenciado, onde as maiores concentrações não diferiram estatisticamente ( $P > 0,05$ ) do controle negativo, quando se esperava que a mortalidade aumentasse de forma diretamente proporcional à concentração (Figura 8).



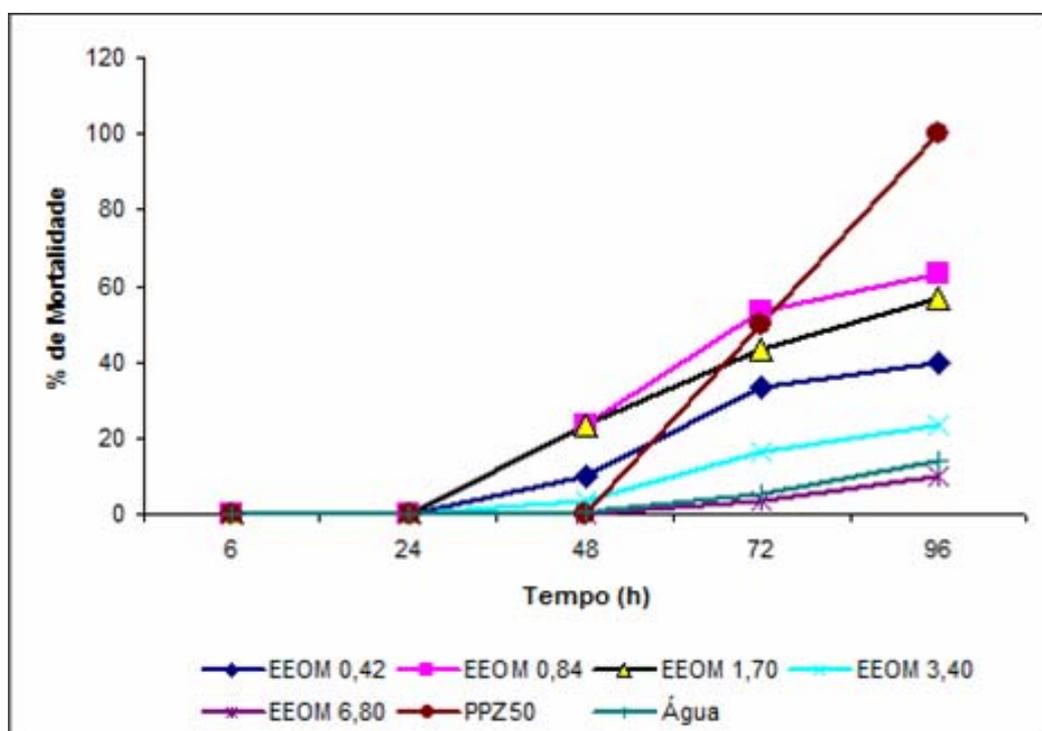
**Figura 8.** Percentual médio de mortalidade de *Ascaridia galli* tratado com os extratos aquosos e etanólicos do tubérculo de *Operculina macrocarpa* com seus respectivos controles.

Quanto à mortalidade acumulada ao longo das 96 horas verifica-se que o EA não diferiu estatisticamente do controle negativo e seu maior percentual de mortalidade foi nas concentrações de 1 e 8 mg/mL, correspondendo a 33,33% e 36,67%, respectivamente. Sendo que a maior concentração apresentou seu efeito logo após 24 horas de exposição diferindo do controle padrão, porém nas outras concentrações o comportamento foi igual ao da piperazina (Figura 9).

Já na figura 10 observa-se que em todas as concentrações testadas a morte dos parasitos iniciou-se após 24 horas de exposição ao tratamento. A exceção foi observada na concentração 6,80 mg/mL do extrato etanólico que se comportou igual a piperazina.



**Figura 9.** Efeito acumulado do extrato aquoso (mg/mL) do tubérculo de *Operculina macrocarpa* sobre *Ascaridia galli*

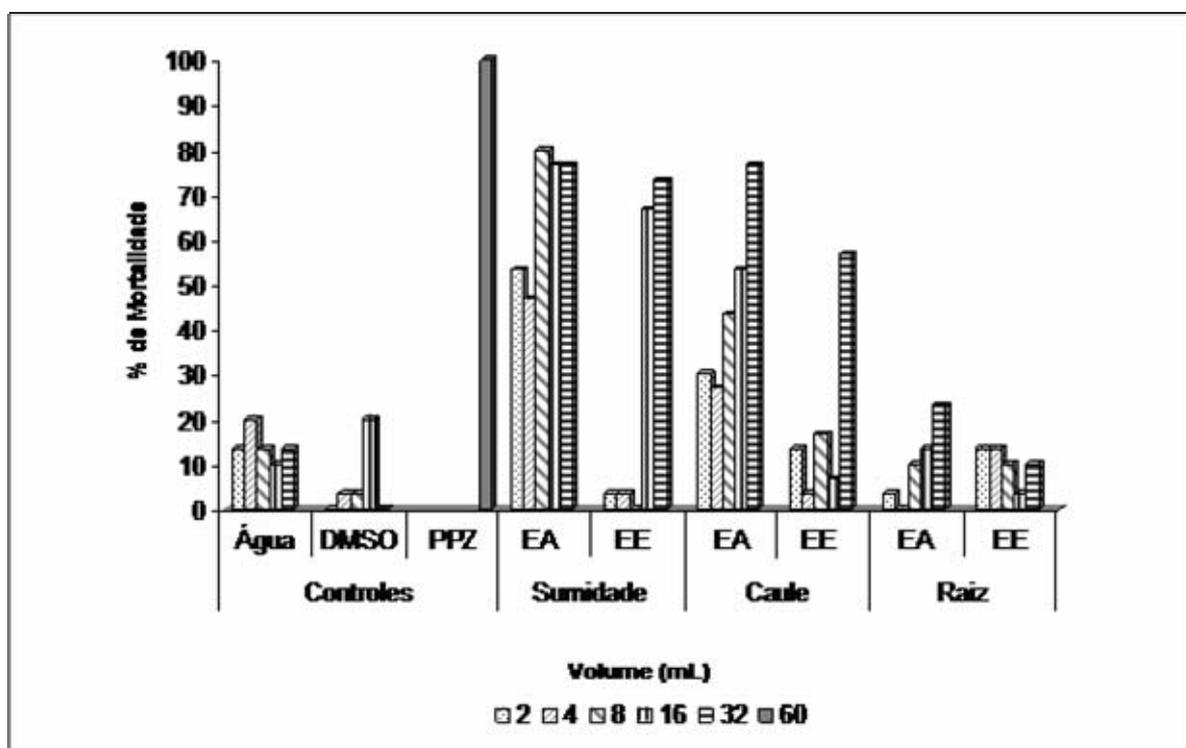


**Figura 10.** Efeito acumulado do extrato etanólico (mg/mL) do tubérculo de *Operculina macrocarpa* sobre *Ascaridia galli*

### 3.4. *Scoparia dulcis*

O efeito obtido com a sumidade florida (SF), caule (CL) e raiz (RZ) da vassourinha estão demonstrados na figura 11. Nesta observa-se que não houve diferença significativa entre os extratos aquosos da SF e CL, porém estes foram estatisticamente ( $p < 0,05$ ) superiores aos EA e EE da raiz e dos controles negativos água e DMSO.

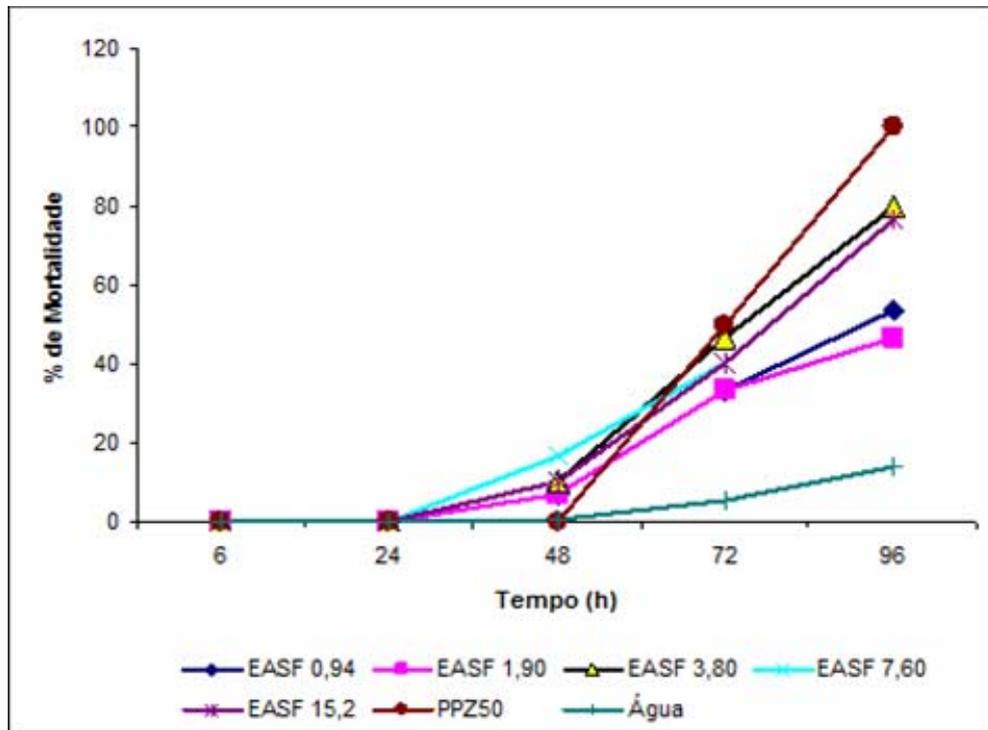
Verifica-se, também, que a SF foi capaz de causar a morte de aproximadamente 80% dos parasitos tanto para o EA quanto para o EE, sendo que o segundo apresentou melhor eficiência nas concentrações mais altas 3,40 e 6,8 mg/mL (Tabela 1) fato que não ocorreu com o EA, onde mesmo as menores concentrações foram capazes de matar cerca 50% dos nematóides. Processo semelhante ocorreu com os EA e EE do caule onde apenas o primeiro apresentou uma mortalidade dose dependente. Acredita-se então, que o princípio ativo responsável pela atividade anti-helmíntica esteja em maior concentração na SF e CL e dissolve-se melhor em água.



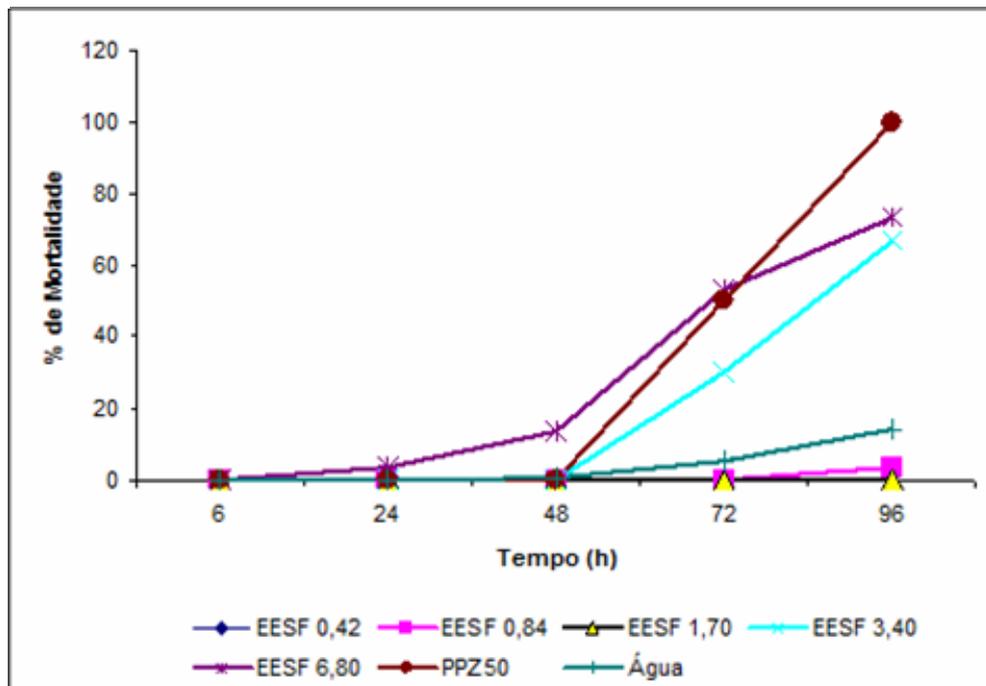
**Figura 11.** Percentual médio de mortalidade de *Ascaridia galli* tratado com os extratos aquosos e etanólicos da sumidade florida, caule e raiz de *Scoparia dulcis* com seus respectivos controles.

Verificando o efeito acumulado avaliado ao longo das 96 horas (Figura 12 e 13) pode-se verificar que no EASF, a mortalidade passou a ocorrer a partir de 24 horas apresentando um efeito mais rápido do que a piperazina. Os resultados obtidos com a piperazina diferem dos encontrados por Sharma *et al.* (1987b) que usando *A. galli* e *H. gallinae* adultos tratados “*in vitro*” com adipato de piperazina, observou a mortalidade dos parasitos após uma exposição máxima de trinta minutos, sendo que esta em nossos testes só foi capaz de matar os parasitos depois de 48 horas de exposição. Comportamento semelhante teve EESF na concentração de 6,80 mg/mL (Tabela 1). A demora em apresentar seu efeito provavelmente deve-se a um mecanismo de ação relacionado com a captação de glicose pelo parasito, onde a

mortalidade ocorre por inanição e num tempo mais longo, devido às reservas energéticas que o parasito apresenta (RIM et al., 1965).

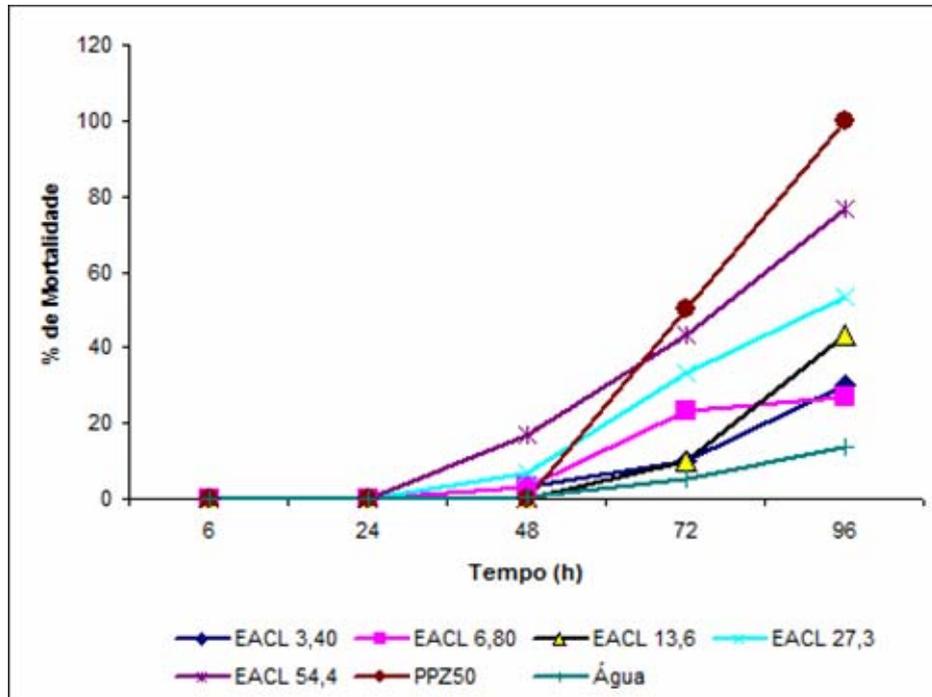


**Figura 12.** Efeito acumulado do extrato aquoso (mg/mL) da sumidade florida de *Scoparia dulcis* sobre *Ascaridia galli*

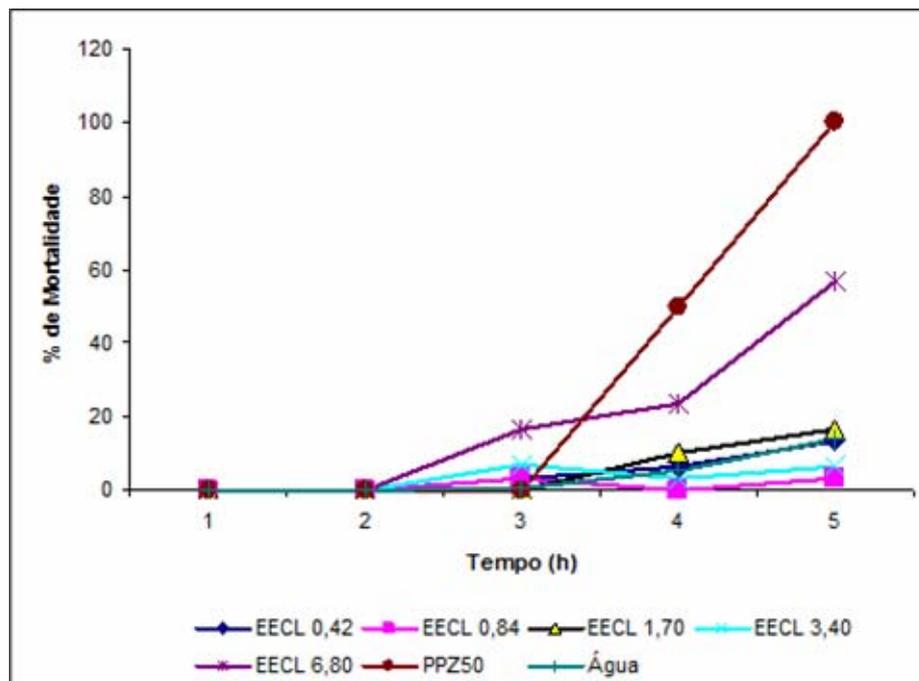


**Figura 13.** Efeito acumulado do extrato etanólico (mg/mL) da sumidade florida de *Scoparia dulcis* sobre *Ascaridia galli*

Na figura 14, observa-se que o efeito do EA do caule manteve uma relação direta dose dependente. Porém, o EE do caule (Figura 15) e da sumidade florida (Figura 13) comportaram-se de forma semelhante, onde apenas a concentração maior foi capaz de matar os nematóides, sendo seu percentual de mortalidade (56,67%) inferior ao apresentado pelo EESF (73,33%)(Tabela 2).

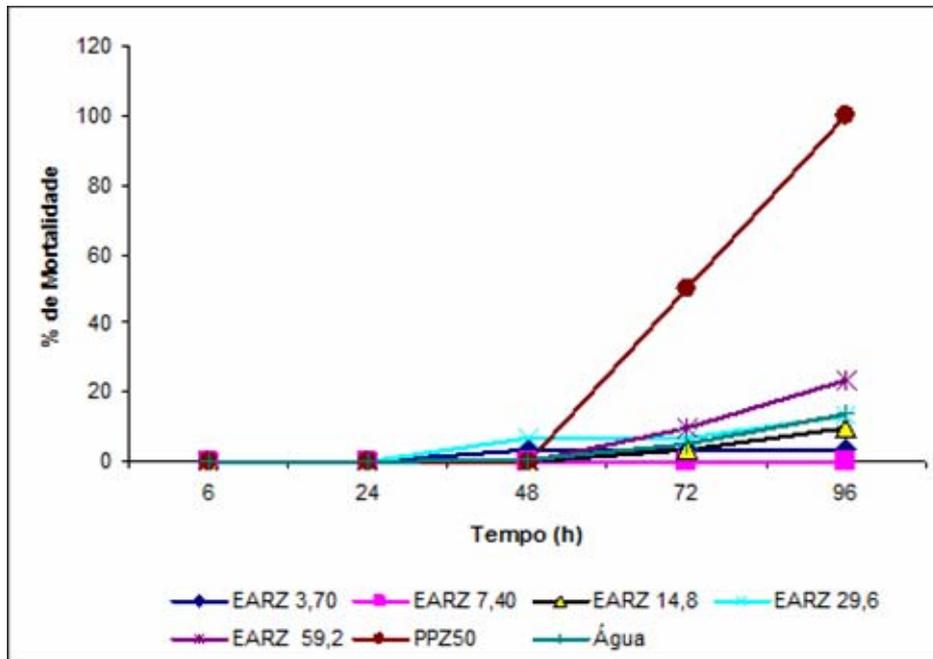


**Figura 14.** Efeito acumulado do extrato aquoso (mg/mL) do caule de *Scoparia dulcis* sobre *Ascaridia galli*

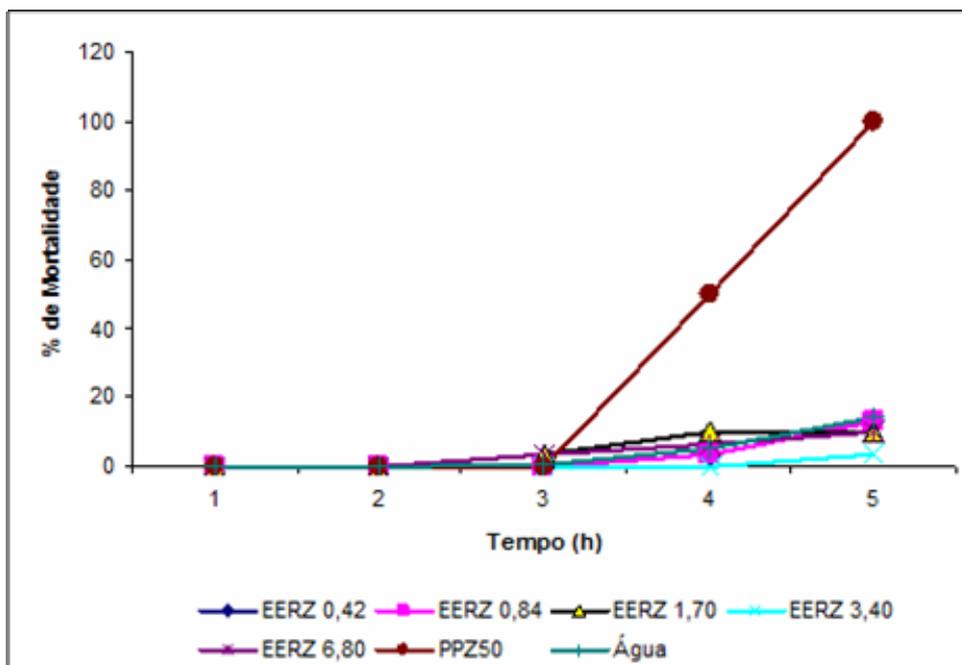


**Figura 15.** Efeito acumulado do extrato etanólico (mg/mL) do caule de *Scoparia dulcis* sobre *Ascaridia galli*

Nas figuras 16 e 17, fica evidente que os extratos aquosos e etanólicos independentes da concentração usada, foram estatisticamente semelhantes entre si ( $P>0,05$ ). Os percentuais máximos de mortalidade foram de 23,33% e 13,33%, respectivamente. Porém mesmo neste caso percebe-se que o EA ainda é superior ao extrato etanólico, repetindo o que aconteceu com os extratos da sumidade florida e do caule (Tabela 2).



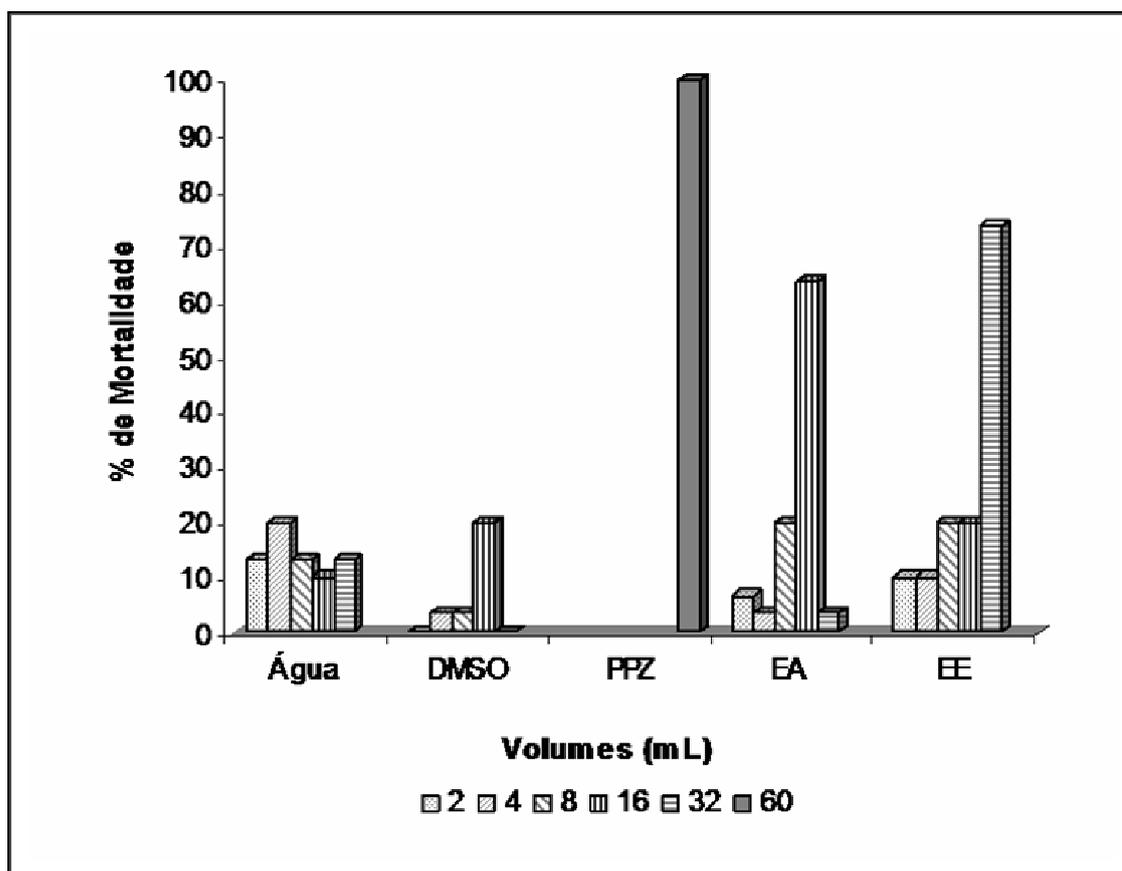
**Figura 16.** Efeito acumulado do extrato aquoso (mg/mL) da raiz de *Scoparia dulcis* sobre *Ascaridia galli*



**Figura 17.** Efeito acumulado do extrato etanólico (mg/mL) da raiz de *Scoparia dulcis* sobre *Ascaridia galli*

### 3.5. *Simarouba versicolor*

Os resultados obtidos com *S. versicolor* demonstrados na figura 18, revelaram uma tendência da planta apresentar um resultado melhor aumentando-se a concentração, principalmente para o EE, pois os resultados obtidos com as concentrações iniciais foram semelhantes ao controle negativo ( $P>0,05$ ). Enquanto que o EA e o EE tiveram seus melhores resultados com as concentrações 3,20 mg/mL e 6,80 mg/mL com percentuais de mortalidade 63,33% e 73,33%, respectivamente (Tabela 2). Comparando os resultados obtidos do EA e EE com seus controles, observa-se que estes não diferiram dos controles negativos e foram inferiores à piperazina ( $P>0,05$ ).

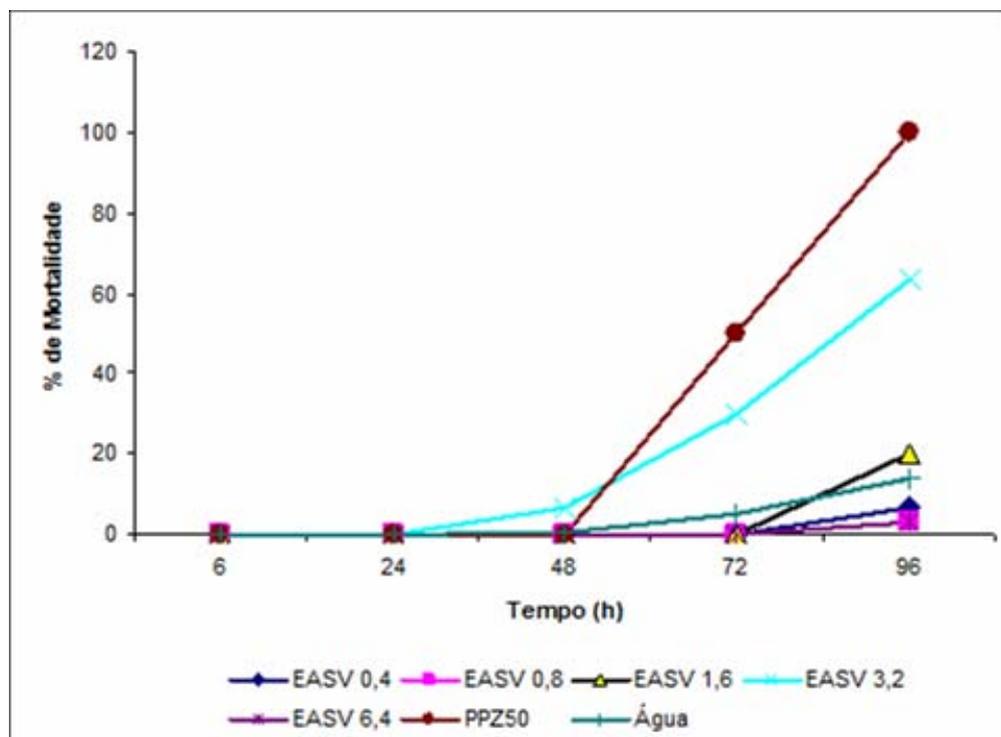


**Figura 18.** Percentual médio de mortalidade de *Ascaridia galli* tratado com os extratos aquosos e etanólicos da casca de *Simarouba versicolor* com seus respectivos controles.

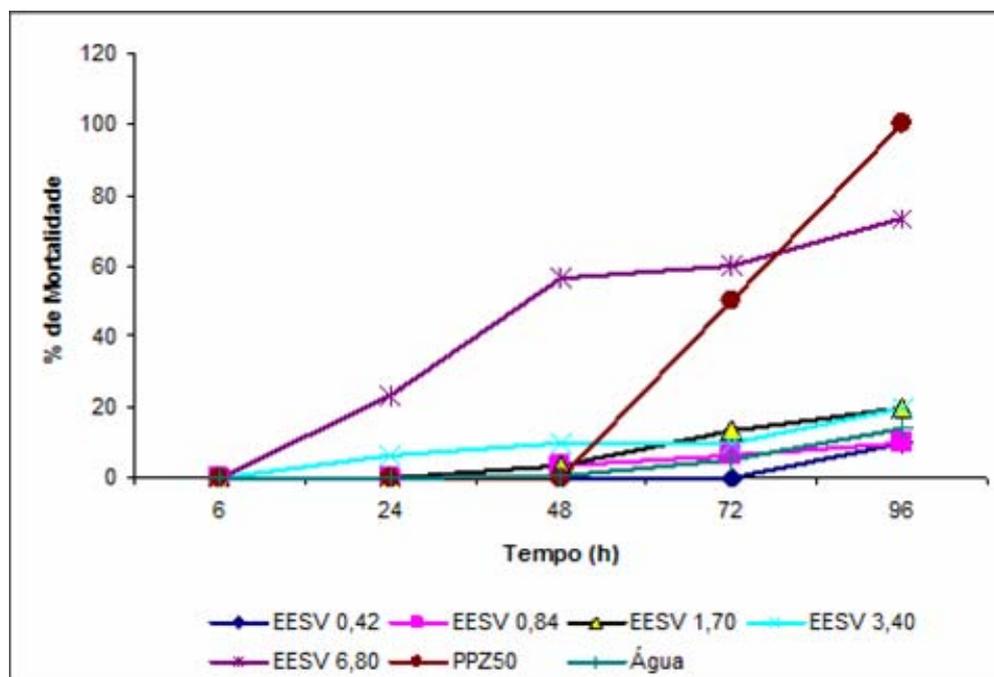
Quanto ao efeito acumulado (Figura 19) do EA, com exceção da concentração 3,2 mg/mL, a mortalidade para todas as outras concentrações só começou a ocorrer depois de 72 horas de exposição ao tratamento. Estes resultados estão de acordo com aqueles obtidos em experimentos anteriores realizados por este grupo de pesquisa, onde foi utilizado apenas três concentrações do EA da *S. versicolor*, sendo que o tempo de observação foi registrado até que o parasito viesse a óbito, seja pelo envelhecimento da cultura ou pela ação dos tratamentos totalizando 336 horas de observação, também neste caso verificou-se que o pico de mortalidade teve início após 72 horas de exposição ao tratamento (FERNANDES, 2004b).

Processo semelhante pode ser observado para o EE, porém, a concentração 3,40 e 6,80 mg/mL observou-se mortalidade logo após 6 horas de tratamento, o que nos leva a crer que dobrando-se esta concentração provavelmente seria obtido 100% de mortalidade (Tabela 1).

Enquanto que nas concentrações restantes a mortalidade só se pronunciou depois de 72 horas (Figura 20).



**Figura 19.** Efeito acumulado do extrato aquoso (mg/mL) da casca de *Simarouba versicolor* sobre *Ascaridia galli*



**Figura 20.** Efeito acumulado do extrato etanólico da casca de *Simarouba versicolor* sobre *Ascaridia galli*

Estes resultados demonstram que apesar de algumas concentrações terem sido capazes de provocar a morte dos parasitos, o tempo decorrido para que isto acontecesse foi muito acima do esperado, o que leva a acreditar que provavelmente o mecanismo envolvido nessa mortalidade podem estar relacionados com captação de glicose levando a um esgotamento das reservas energéticas do parasito ou mesmo influenciando a abertura os canais de cloro nas membranas musculares ligadas ao GABA (REINEMAYER; COURTNEY, 2003), pois, durante o experimento verificou-se que os parasitos mortos apresentavam flacidez e tinha um aspecto de degeneração do tecido.

#### 4. CONCLUSÕES

O presente trabalho permitiu tirar as seguintes conclusões:

- O extrato aquoso da planta *Annona squamosa* (pinha), apresentou uma atividade anti-helmintica significativa. Enquanto que o extrato etanólico foi incapaz de atuar sobre o nematóide *A. galli*, o que nos leva a sugerir que a substância responsável por este efeito esteja em maior concentração na fração aquosa, sendo portanto solúvel em água.
- *Hymenaea courbaril* (jatobá), dentre as plantas estudadas, foi a que apresentou o melhor resultado contra o *A. galli* em especial quando se utilizou-se o extrato etanólico, que apresentou comportamento semelhante ao controle positivo (piperazina). Porém, apresentando seu efeito logo nas primeiras horas de exposição ao tratamento.
- *Operculina macrocarpa* (Batata-de-Purga) também apresentou melhor resultado quando se usou o extrato etanólico, pode-se sugerir que o principio ativo responsável por esta mortalidade encontra-se na fração alcoólica.
- *Scoparia dulcis* (vassourinha) apresentou melhores resultados quando se utilizou a sumidade florida e o caule. Dentre os extratos estudados, o extrato aquoso foi o que teve maior homogeneidade quanto às concentrações usadas. Porém, o extrato etanólico mostrou uma tendência a apresentar melhores resultados se a concentração for aumentada, nesta espécie, apenas a raiz não obteve resultados significativos.
- A *Simarouba versicolor* (Pau-Paraíba) teve resultados semelhantes tanto para o extrato aquoso como para etanólico e também mostrou uma tendência para apresentar melhores resultados se a concentração dos extratos forem aumentadas em teste futuros. Estes resultados também sugerem que as substâncias presentes nestes extratos podem ser solúveis em água ou álcool.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIFITO- Assoc. Bras. das Indústrias de Fitoterápicos. Fitoterápicos - Nosso verde vale ouro, 2002. Disponível em: [www.abifisa.org.br/noticias2.asp](http://www.abifisa.org.br/noticias2.asp), Acessado em: 24/06/2007.
- ACKERT, J.E. The morphology and life history of the fowl nematode *Ascaridia Lineata* (Schneider). *Parasitology*, v. 23, p.360-79, 1931.
- ACKERT, J.E. The large roundworm of chickens. *Vet. Med. England*,v. 35, p.106-8. 1940.
- ANDRADE, S. F. **Manual de Terapêutica Veterinária**.Cap. 18. Endoparasitoidas e Ectoparsitoidas. 2ª Edição. Ed. Roca, São Paulo, 2002
- BUMSTEAD, N., MILLARD, B.M., BARROW, P.A. & COOK, J.K.A Genetic basis of disease resistance in chickens. in: OWEN, J.B. & AXFORD, R.F.E. (Eds) *Breeding for Disease Resistance in Farm Animals*. Wallingford, Commonwealth Agricultural Bureau. p. 10–23, 1991.
- CHADFIELD, M. S.; PERMIN, A.; NANSEN, P.; BISGAARD, M. Investigation of the parasitic nematode *Ascaridia galli* as a potential vector for Salmonella dissemination in poultry. *Parasitol. Res.*, v.87, p 317-25, 2001.
- DAHL, C.; *et al.* The effect of concurrent infection with *Pasturella multocida* and *Ascaridia galli* on free range chickens. *Rev.Microbiol.* v. 86, p. 313-24, 2002.
- DIAS, B. S. F. **A implementação da convenção sobre diversidade biológica no Brasil: desafios e oportunidades**. Campinas: André Tosello, 1996. 10p.
- ESHETU, Y.; Mulualem, E.; Ibrahi, H.; Berhanu, A.; Aberra, K. Study of gastro-intestinal helminths of scavenging chicken in four rural districts of Amahara region, Ethiopia. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* v. 20, n.3, p: 791-6, 2001.
- FERNANDES, R. M. Avaliação da atividade anti-helmintica de plantas em frango de corte naturalmente infectados com *Ascaridia galli* (SCHRANK,1788) FREEBORN, 1923 E *Heterakis gallinarum* (SCHRANK,1788) MADSEN, 1949. 100p. (Tese em Parasitologia). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Veterinária, Seropédica-RJ, 1998.
- FERNANDES, M. Z. L. C. M.; Ensaio farmacológico da atividade anti-helmíntica “*in vitro*” de plantas sobre os nematóides *Ascaridia galli* (Schrank, 1788) Freeborn, 1923 e *Heterakis gallinarum* (Schrank, 1788) Madsen, 1949. 75p. (Dissertação em Farmacologia),Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrária, Teresina, 2004b.
- FERNANDES, T. M. *Plantas Mediciniais: Memória da Ciência no Brasil*. Ed. Fiocruz, Rio de Janeiro, 2004d. 260p.
- GAULY, M.; BAUER, C.; PREISINGER, R.; ERHARDT, G. Genetic differences of *Ascaridia galli* egg output laying hens following a single dose infection. *Vet. Parasitol.* V. 103, n. 1-2, p. 99-107, 2002.

- GUPTA, R. K.; KESARI, A. N.; GEETA, W. MURPHY, P. S.; RAMESH, C. KAPIL, M.; VIBHA, T. . Hipoglycaemic and antidiabetic effect of aqueous extract of leaves of *Annona squamosa* (L.) in experimental animal. *Rev. Curr. Sci.* v. 88, n. 8, p. 1244-54, 2005a.
- HAMMOND, J.A., FIELDING, D. e BISHOP, S.C. Prospects for plant anthelmintics in tropical veterinary medicine. *Vet. Res. Communicat.* v. 21, p.213-228. 1997.
- KALEYSA RAJ, R. Screening of indigenous plants for anthelmintic action against human *Ascaris lumbricoides* Part II. *Indian J. Physiol. Pharmacol.*, v. 19, n. 1, p. 47-49, 1975.
- LORENZI, H; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: Nativas e exóticas.** Instituto Plantarum. Nova Odessa-SP, 2002. 544p.
- MAGWISHA, H. B.; KASSAKU, A. A.; KYVSGAARD, N. C.; PERMIN, A. A comparison of the prevalence and burden of helminth infections in grower and adult free-range chickens. *Trop. Anim. Health Prod.* v. 34, n.3, p. 205-14, 2002.
- PERMIN, A.; HANVIG, H. Genetic resistance to *Ascaridia galli* in chickens. *Vet. Parasitol.* V. 102, n. 1-2, p. 101-11, 2001.
- RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. *Toxicon*, v. 39, p. 603-13, 2001.
- REINEMAYER, C. R.; COURTNEY, C. H. Quimioterapia das doenças parasitárias. IN: **Farmacologia e terapêutica veterinária.** 8ª Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ, p.791-818, 2003.
- RIM, H. J.; KIM, K.S.; SEONG, S.H; RHEE, S.D.; ON, B. J.; LEE, H.K. Metabolism of C (14) – glucose by *Ascaridia galli* .*Korean J.Parasitol.* v.3, n.3, p.107-11, 1965.
- SCHOU, T.; PERMIN, A.; ROEPSTORFF, A.; SORESEN, P.; KJAER, J. Comparative genetic resistance to *Ascaridia galli* infections of 4 different commercial layer-line. *Brit. Poult. Scien.* v. 44, n. 2, p.182-85, 2003.
- SHARMA, R. K.; SINGH, K.; SAXENA, K. K. The effect of piperazine adipate and parbendazole on the carbohydrate metabolism of *Ascaridia galli* and *Heterakis gallinae*. *Vet. Parasitol.* v. 24, n. 3-4, p. 211-20, 1987b.
- SHILASKAR, D.V. & PARASAR, G.C. Evaluation of indigenous anthelmintics. *Indian J. Indg. Med.*, v. 6, p.49-53, 1989.
- SHIVAKUMAR, A.M.; CHANDRA, S. & SABIR, M.. Studies on the anthelmintic actions of mebendazole against *Ascaridia galli*. *Indian Vet. J.*, v. 52, p. 136-142, 1975.
- SOERJATO, D.D. Biodiversity prospecting and benefic sharing: perspective from field. *J. Ethnopharmacol.* V. 51, p. 1-15, 1996.
- WALL, M. E.; WANI, M. C. Camphothecin and taxol: from discovery to clinic. *J. Ethnopharmacol.* V. 51, p. 239-54, 1996.

## 4. CAPITULO II

### **AVALIAÇÃO FARMACOTERAPÊUTICA DA ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA “IN VIVO” DE PLANTAS SOBRE OS NEMATÓIDES *Ascaridia galli* (SCHRANK, 1788) FREEBORN 1923 e *Heterakis gallinarum* (SCHRANK, 1788) MADSEN, 1949**

#### **RESUMO**

A criação orgânica de aves e a resistência dos helmintos a vários medicamentos sintéticos tem direcionado o uso de plantas medicinais na produção avícola. Esta aparece como uma alternativa no tratamento das helmintíases aviárias. Dentro desta perspectiva, e baseado nos levantamentos etnobotânicos e no uso popular quanto às plantas listadas como tendo atividade anti-helmíntica, selecionou-se para o presente estudo as plantas *Annona squamosa*, *Operculina macrocarpa*, *Scoparia dulcis*, *Hymenea courbaril* e *Simarouba versicolor* com o objetivo de determinar a atividade anti-helmíntica “*in vivo*” dos extratos aquosos (EA) e etanólicos (EE) sobre os nematóides *Ascaridia galli* e *Heterakis gallinarum*. As plantas foram submetidas à secagem em estufa de circulação forçada de ar durante três dias na temperatura máxima de 45° C ( $\pm 1$ ) e posteriormente trituradas. O EA foi preparado na concentração inicial de 10% e o EE foi obtido colocando-se 500 a 1000g da matéria vegetal em etanol seguida de quatro extrações a frio. A atividade anti-helmíntica foi determinada em galinhas poedeiras naturalmente infectadas. Utilizou-se 108 aves, adultas, com peso médio de 1,5 kg, divididas em grupos de seis animais, sendo constituídos 14 grupos testes, um controle positivo (piperazina tetrahidratada), três grupos controles negativos: água destilada para o extrato aquoso, DMSO e Tween 80 para o extrato etanólico num total de 18 grupos. A atividade anti-helmíntica das plantas foi avaliada com a aplicação do teste crítico controlado e os resultados expressos em termos de percentuais médios de eliminação que foram analisados estaticamente. A planta que apresentou maior percentual de eliminação de *A. galli* foi *A. squamosa* com 38,95% para o EA. O EA também foi o mais eficaz para a sumidade florida, caule e raiz de *S. dulci* e para *S. versicolor* eliminando 28,68%; 21,38% 36,23% e 19,32%, respectivamente. *O. macrocarpa* e *H. courbaril* não apresentaram diferença entre os extratos com percentuais de eliminação para o EA de 23,64% e 24,5% e para o EE de 22,4% e 27,03%, respectivamente. No teste realizado com *H. gallinarum* os percentuais de eliminação não foram estatisticamente significantes para maioria das plantas, onde apenas *S. versicolor* teve percentuais de eliminação mais significativos com 20,22% para o EA e 29,15% para o EE e ainda a *A. squamosa* que confirmando os testes “*in vitro*” teve no EA seu melhor resultado com 20,60% de eliminação. Estes resultados sugerem que embora os percentuais de eliminação do teste “*in vivo*” tenham sido pequenos em relação ao teste “*in vitro*” eles confirmaram que *A. galli* é mais sensível aos tratamentos que *H. gallinarum* provalmente pela localização do segundo e que as substâncias responsáveis pela ação sobre *A. galli* estavam presentes na sua maioria na fração aquosa e sobre o *H. gallinarum* na fração alcoólica.

**PALAVRAS-CHAVE:** Atividade anti-helmíntica, *in vivo*, extratos, plantas, *A. galli* e *H. gallinarum*

**PHARMACOTHERAPEUTIC EVALUATION OF ANTIHELMINTIC ACTIVITY  
“IN VIVO” OF PLANTS ON NEMATODE *Ascaridia galli* (SCHRANK, 1788)  
FREEBORN 1923 and *Heterakis gallinarum* (SCHRANK, 1788) MADSEN, 1949**

**ABSTRACT**

The creation organic poultry and resistance of the helminth several synthetic medicines, has directed the use of medicinal plants in poultry production. This appears as an alternative in the treatment of helminths poultry. Within this perspective, and based on the ethnobotanical surveys and the use popular on the plants listed as having anthelmintic active, selected for the present study the plants *Annona squamosa*, *Operculina macrocarpa*, *Scoparia dulcis*, *Hymenea courbaril* and *Simarouba versicolor* with the objective to determine the anthelmintic activity “*in vivo*” of aqueous (AE) and ethanolic extracts (EE) on the nematodes *Ascaridia galli* and *Heterakis gallinarum*. Plants were subjected to drying in a forced movement of air for three days in the maximum temperature of 45 ° C ( $\pm$  1) and subsequently crushed. The AE was obtained with a initial concentration of 10% and EE was obtained rubbing up 500 to 1000g of vegetable matter in ethanol followed by four extractions the cold. The anthelmintic activity was determined in chickens laying hens naturally infected. It was used 108 chickens, adult, with an average weight of 1.5 kg, divided into groups of six animals, and 14 groups consisting tests, a positive control (piperazine tetrahydrate), three groups negative controls: distilled water for aqueous extract DMSO and Tween 80 for the ethanolic extract a total of 18 groups. The anthelmintic activity of the plants was evaluated in the application of critical controlled test and the results expressed in terms of average percentage and elimination that were statistically analyzed. “*In vivo*” tests in the plant showed that a higher percentage of elimination of *A. galli* was the *A. squamosa* with 38.95% for the AE. The AE also was the most effective for sumidade florida, stem and root of *S.dulcis* and for *S.versicolor* removing 28.68%, 21.38% 36.23% and 19.32%, respectively. The plants *O. macrocarpa* and *H. courbaril* showed no difference between the extracts that had a percentuals of elimination for the AE of 23.64% and 24.5% and the EE of 22.4% and 27.03% respectively. In the test conducted with *H. gallinarum* the percentage of disposal were no significant for most plants, where only a *S.versicolor* had percentuals of elimination more significant with 20.22% for AE and 29.15% for EE and the *A. squamosa* confirming that the tests “*in vitro*” in the AE had best result with 20.60% of elimination. These results suggest that although the percentage of elimination of the test “*in vivo*” have been lower than “*in vitro*” test, they confirmed that the *A. galli* is more sensitive to treatment that *H. gallinarum* probably because this parasite stay at cecum and the substances responsible for action on the *A. galli* were present mostly in aqueous fraction and the *H. gallinarum* in alcoholic fraction.

**KEYWORDS:** Anthelmintic Activity, extracts, plants, *Asacridia galli*, *Heterakis* and *gallinarum*

## 1. INTRODUÇÃO

A infecção parasitária intestinal é considerada como um sério problema causando grandes perdas econômicas no setor da avicultura, principalmente no que diz respeito à mortalidade, retardo do crescimento, redução do índice de conversão alimentar, diminuição da produção de ovos e da fertilidade, e favorecimento à passagem de toxinas através da parede intestinal com aumento da suscetibilidade às doenças infecciosas (FERNANDES, 1998).

Os prejuízos causados por helmintos e a relação destes com outras doenças infecciosas é um dos maiores obstáculos para que os avicultores melhorem a produção de carne e ovos. Dentre os parasitas mais observados em aves são comumente encontrados *Ascaridia galli* e *Heterakis gallinarum* provocando a ascaridiose (MILLER, 1977; AKHTAR; RIFFAT; 1985; SHILASKAR; PARASAR, 1989).

Este fato pode ser observado através do grande número de pesquisas sobre prevalências das helmintíases aviárias realizadas. Eshetu *et al.* (2001) estudando a prevalência de helmintos de aves na Etiópia constataram 91% de positividade em 267 aves, sendo que estas apresentavam de uma a nove espécies de parasitos. Dentre estes 17,28% eram de *H. gallinarum* e 35,58% de *A. galli*. Magwisha *et al.* (2002) comparando a prevalência de helmintos em criações extensiva na Tanzânia verificaram a presença de *A. galli* em 69% das aves jovens e 29% em adultos e a prevalência de *Heterakis* foi significativamente ( $P < 0,005$ ) influenciada pelo sexo e idade das aves, sendo maior em machos jovens e fêmeas adultas. Observação interessante principalmente no que diz respeito à fase de recria para corte e na produção de ovos.

No Brasil, Fernandes (1998) estudando a atividade anti-helmíntica de plantas “*in vivo*”, observou que em 70 frangos de corte infectados naturalmente, criados semi-extensivamente, 94,3% eram positivos para *A. galli* e 100% para *H. gallinarum*. O mesmo autor também verificou a localização desses helmintos e observou que 97,7% de *A. galli* estavam presentes no intestino delgado e 2,3% no intestino grosso dos frangos, enquanto 99,2% de *H. gallinarum* foram observados no ceco e 0,8% no cólon.

Outro fato importante na produção de carne e ovos é o crescimento dos sistemas de avicultura orgânica que vêm aumentando em importância em vários países, sendo esta também, uma alternativa para os pequenos e médios produtores. No entanto, verifica-se que em contraste com o sistema convencional, estas criações são afetadas por várias mudanças no manejo, tais como: acesso a áreas de pasto e proibição no uso de medicamentos preventivos, incluindo o uso de antiparasitários. Tal modelo implica no aperfeiçoamento do manejo e na alimentação das aves, uma vez que tendo acesso a piquetes estes terão contato com ovos, larvas e hospedeiros intermediários de diversos helmintos (TRAMSBORG *et al.*, 1999).

PERMIN *et al.* (1999) verificando a prevalência de helmintos gastrintestinais em diferentes sistemas de produção, registraram no sistema orgânico uma prevalência de 72,5%, no sistema intensivo (convencional) 19,4% e na criação em gaiolas de 0% do nematóide *H. gallinarum*. Isso mostra claramente como este tipo de manejo afeta a condição sanitária dos lotes.

No mesmo sentido, verifica-se um aumento na criação doméstica de galinhas por pequenos produtores da agricultura familiar, incentivado pelos governos estaduais, com o objetivo de suprir as necessidades protéicas e fornecer uma fonte de renda extra para estes produtores. Sabe-se que em função de suas particularidades, como tamanho, diversidade de produção, baixa utilização de insumos e acesso restrito a financiamentos agrícolas, a agricultura familiar é o segmento diretamente beneficiado das tecnologias geradas para a agricultura orgânica. A manutenção do produtor na propriedade, decorrente do aumento de sua renda traz um impacto social de médio e longo prazo na diminuição de custos de infra-

estrutura urbana. A produção orgânica, em geral, demanda maior mão de obra, afetando positivamente a geração de empregos, fixando o homem ao campo e, conseqüentemente, com impacto social importante (CARVALHO, 2001).

Atualmente as plantas desfrutam uma posição respeitável, especialmente nos países em desenvolvimento, onde a disponibilidade de serviços de saúde modernos está limitada. Remédios indígenas seguros, efetivos e baratos estão ganhando popularidade entre as pessoas de áreas urbanas e rurais. Informação de grupos étnicos em medicina tradicional indígena fez um papel vital na descoberta de produtos modernos de plantas como agentes de quimioterápicos (AGRA *et al.* 2007).

Matos (2000) afirma que a avaliação de novas drogas vegetais através da pesquisa é o caminho para que se possa fazer o correto aproveitamento das plantas medicinais e seus derivados aplicados a fitoterapia. Considerando a necessidade de dados experimentais que possibilitem a comprovação científica através de uma avaliação segura (AMORIM; *et al.* 1989), o presente trabalho justifica-se por acreditar, que em parte, contribuirá para o desenvolvimento de uma fitoterapia alternativa ou complementar, voltada para o tratamento das helmintíases aviárias, fornecendo subsídios para o fortalecimento da avicultura orgânica, mercado atualmente em franca expansão. Dentro desta perspectiva e baseado nos levantamentos etnobotânicos e no uso popular quanto às plantas listadas como tendo atividade anti-helmíntica, selecionou-se para o presente estudo as plantas *Annona squamosa*, *Operculina macrocarpa*, *Scoparia dulcis*, *Hymenea courbaril* e *Simarouba versicolor* com o objetivo de determinar a atividade anti-helmíntica “*in vivo*” dos extratos aquosos e etanólicos sobre os nematóides *Ascaridia galli* e *Heterakis gallinarum*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios farmacológicos foram conduzidos no período de março de 2004 a janeiro de 2007 no anexo do Biotério Experimental do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Piauí (UFPI).

### 2.1. Procedimentos Preliminares

#### 2.1.1. Obtenção da Matéria Vegetal

A matéria vegetal foi coletada nos Estados do Piauí e Maranhão, sendo identificadas e depositadas no Herbário Graziela Barroso do Núcleo de Referência das Ciências Ambientais do Trópico Ecotonal do Nordeste (TROPEN) da UFPI (Quadro 1). As plantas coletadas foram submetidas à secagem em estufa de circulação forçada de ar<sup>1</sup> durante três dias a uma temperatura máxima de 45° C ( $\pm 1$ ), depois triturada em macromoinho de facas do tipo Willye, obtendo-se um pó que foi acondicionado em frasco de vidro âmbar hermeticamente fechado e identificado, onde permaneceram até o momento do preparo dos extratos.

---

1. Estufa com circulação mecânica, Mod. 320 E com Controlador Microprocessado Mod. 320 MP. Fabricante: Fanem Ltda.

**Quadro 1.** Identificação, parte usada e tipo de extrato das espécies estudadas com suas respectivas excicatas de depósito no Herbário Graziela Barroso do TROPEN.

Família	Espécie	Nome Vulgar	Parte Usada	Extrato	Procedência	Nº da Excicata	Coleta
Annonaceae	<i>Annona squamosa</i> , L	Fruta-de-Conde	Folha	Aquoso e Etanólico	Teresina, Pi 50°05' 42°49'	TEPB-9.482	11/2005
Convolvulaceae	<i>Operculina macrocarpa</i> , (L.) Farw.	Batata-de-Purga	Tubérculo	Aquoso e Etanólico	Angical, Pi 6°05' 41°28'	TEPB-20.883	12/2005
Farbaceae	<i>Hymenea courbaril</i> , L.	Jatobá	Casca	Aquoso e Etanólico	Teresina, Pi 50°05' 42°49'	TEPB-21.654	02/2005
Simaroubaceae	<i>Simarouba versicolor</i> , St. Hill.	Pau-Paraíba	Casca	Aquoso e Etanólico	Angical, Pi 6°05' 41°28'	TEPB-14.301	06/2005
Scrophulariaceae	<i>Scoparia dulcis</i> , L	Vassourinha	Sumidade florida Caule Raiz	Aquoso e Etanólico	Timon, Ma 5°5' 42°50'	TEPB-20.519	04/2005

### 2.1.2. Preparo dos Extratos

Os extratos aquosos (EA) foram obtidos através da decocção, na qual utilizou-se 100g da matéria vegetal (pó) para 1000 mL de água destilada, deixando-se ferver por aproximadamente três minutos. Após o resfriamento à temperatura ambiente, a solução obtida foi filtrada, acondicionada em frasco âmbar previamente identificado e mantidos sob refrigeração até o momento de seu uso. Para obtenção da concentração em mg/mL dos EA, na concentração de 10%, foram submetidos a determinação do peso seco (item 2.1.3.).

O extrato etanólico (EE) foi obtido colocando-se 500 a 1000g da matéria vegetal em etanol PA<sup>2</sup> de forma que esta ficasse totalmente imersa no líquido. Então, deixou-se durante quatro dias em temperatura ambiente num processo de maceração a frio. Passado este período o etanol foi retirado e filtrado com auxílio de um funil e papel de filtro, depois o extrato acondicionado em frascos âmbar e guardado ao abrigo da luz até a conclusão das extrações. Após quatro extrações sucessivas juntou-se, em uma cuba, todo o líquido extraído e fez-se a homogeneização, em seguida procedeu-se a retirada do etanol utilizando-se um evaporador rotativo<sup>3</sup> a 40° (± 1) acoplado um banho termostatizado<sup>4</sup>, em seguida o EE foi liofilizado para retirar a água restante no extrato. Para a realização dos testes “*in vivo*” o extrato foi diluído em dimetilsulfóxido<sup>5</sup> (DMSO) e em Tween 80 a 12,5%, obtendo-se uma concentração de 12,5 mg/mL

### 2.1.3. Determinação do peso seco

Uma alíquota de 1 mL de cada extrato foi colocada em frascos limpos, previamente pesados e identificados, os quais foram acondicionados na estufa de circulação forçada de ar<sup>1</sup> a uma temperatura máxima de 45° C (± 1) até a obtenção de um peso constante, procedimento realizado em triplicata. A massa média obtida referente a 1 mL foi relacionada ao respectivo volume total, obtendo-se então a massa total em mg/mL.

2. Álcool Etilico Absoluto: Etanol PA, PM= 46,07, Fabricante: Química Especializada Erich Ltda. (QEEL)

3. Evaporador Rotativo, Mod. Q-344B2, Fabricante: Quimis Aparelhos Científicos Ltda.

4. Banho termostatizado Mod. TE 2000, Fabricante: Tecnal Projetos, Assessoria e Instalações Industriais Ltda

5. Dimetilsulfóxido (DMSO) PA; (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, Fabricante= VETEC Química Fina Ltda.

#### 2.1.4. Manutenção das aves

Durante o experimento foram adquiridas de granjas da zona rural de Teresina galinhas poedeiras em fase de descarte e que não recebiam vermífugo há pelo menos três meses. Estas foram colocadas em um galpão composto por uma área coberta tendo como piso cama de maravalha com acesso a bebedouros e comedouros, além da cama de galinha. Na cobertura do galpão, sobre as telhas, instalou-se uma mangueira perfurada a laser (microfuros) que aspergia água sobre a cobertura, mantendo assim o conforto térmico dos animais. Junto à área coberta, os animais tinham acesso a uma área descoberta e de chão batido, que foi mantida sempre capinada, evitando que os animais tivessem acesso a plantas. O acesso a este pátio teve como objetivo a manutenção da infecção natural no plantel. A determinação da infecção do plantel foi realizada logo após a aquisição dos animais por meio de exames coprológicos, utilizando-se a técnica de Willis ligeiramente modificada (WILLIS, 1927 *apud* UENO, 1994). Diagnosticada a infecção, as aves positivas foram separadas para realização dos testes.

#### 2.2. Atividade anti-helmíntica “*in vivo*”

A atividade anti-helmíntica foi determinada em galinhas poedeiras naturalmente infectadas com *A. galli* e *H. gallinarum*. Utilizou-se 108 aves, adultas, com peso médio de 1,5 kg, divididas em grupos de seis animais, sendo constituídos 14 grupos testes, um controle positivo (piperazina tetrahidratada<sup>6</sup>), três grupos controles negativos um com água destilada para o extrato aquoso e os outros com os diluentes usados para o extrato etanólico (DMSO e Tween 80) num total de 18 grupos.

Diagnosticada a infecção, os animais foram transferidos para gaiolas galvanizadas com fundo removível (Figura 1) para facilitar a coleta das fezes, onde passaram por um período de adaptação de 72 horas, recebendo diariamente 50g de ração e água *ad libitum*. Antes do início dos testes, as aves foram submetidas a um período de jejum de 12 horas, tendo disponível água à vontade. Após este período os extratos foram administrados no volume de 10mL/Kg, durante três dias consecutivos, utilizando-se uma sonda intragástrica (FERNANDES, 2005a).

As fezes emitidas em cada período de 24 horas foram coletadas e transferidas para frascos previamente identificados, contendo água para promover o amolecimento das mesmas. Efetuou-se um total de quatro coletas. No laboratório, a matéria fecal foi lavada em água corrente e peneiradas em tamis USBS-50, abertura 0,297 mm e tyler 48 sob outro tamis de malha USBS-40, abertura 0,42 mm e tyler 35 colocado no fundo da pia, de modo a reter o resíduo que passasse pelo primeiro tamis. A matéria fecal lavada foi então acondicionada novamente nos frascos e em seguida adicionou-se uma solução de AFA quente (Ácido Acético, Formol 40% e Álcool a 70% (AMATO, *et al.* 1991)) para conservação e posterior contagem dos helmintos eliminados. No quinto dia do experimento as aves foram sacrificadas e necropsiadas (Resolução nº 714 de 20/06/2002 do Conselho Federal de Medicina Veterinária – CFMV), posteriormente a mucosa do trato gastrointestinal foi raspada e o conteúdo colocado em frascos contendo AFA quente para posterior contagem e identificação dos helmintos remanescentes (Figura 2).

A recuperação dos helmintos consistiu em examinar a matéria fecal, bem como o material procedente da necropsia, os quais foram colocados em placa de Petri contendo água e observados com auxílio de microscópio estereoscópio. Foi possível separar e contar os helmintos, os quais foram transferidos para frasco de vidro previamente identificado, contendo solução conservadora de AFA, onde permaneceram até a identificação. Os exemplares dos nematóides obtidos foram identificados através da microscopia óptica, onde

---

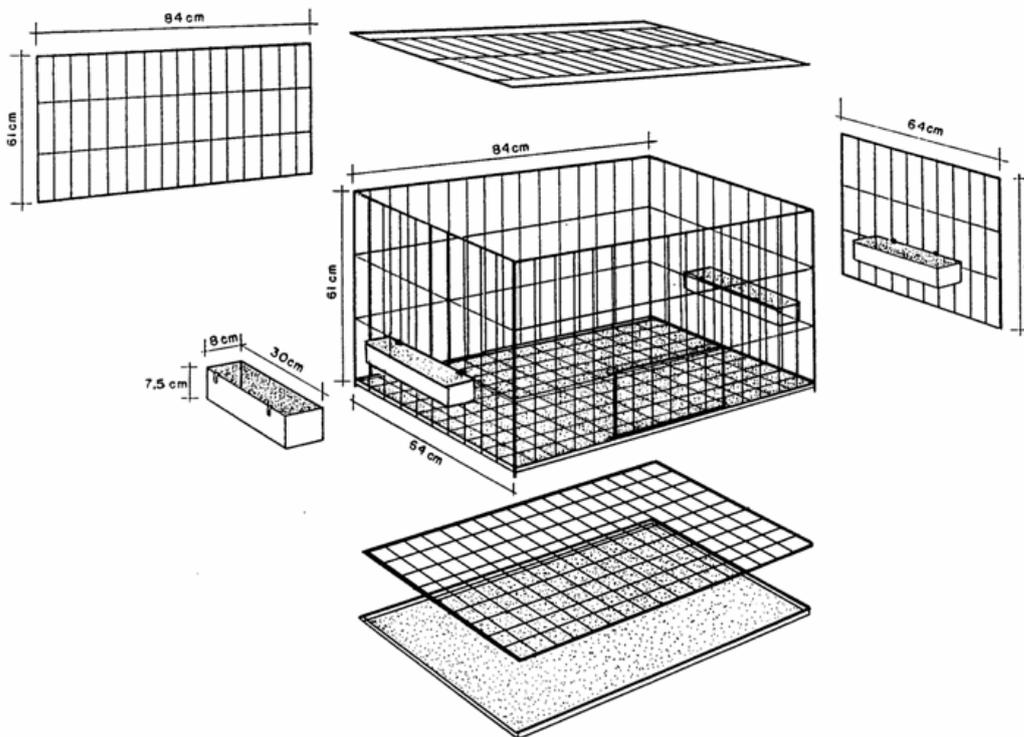
6.Proverm Tortuga

foram colocados entre lâmina e lamínula de vidro, aos quais foram adicionados gotas de lactofenol de Aman com a finalidade de clarificar suas estruturas favorecendo sua visualização. As características morfológicas que permitiram a identificação dos nematóides estão demonstradas nas Figuras de 7 e 8 (Revisão de Literatura), as quais correspondem à descrição feita por Ackert (1931), Levine (1980), Soulsby (1987) e Fortes (2004).

A atividade anti-helmíntica das plantas foi avaliada com a aplicação do teste crítico controlado (STEWART, 1955), adaptado ao modelo experimental e expressa em termos de percentuais médios de eliminação de *A. galli* e de *H. gallinarum* nas fezes, em relação ao total desses vermes apurados na contagem fecal e na necropsia, conforme a seguinte fórmula:

$$\% \text{ de atividade anti-helmíntica} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ total de nematóides eliminados nas fezes após o tratamento}}{\text{N}^{\circ} \text{ total de nematóides eliminados nas fezes após o tratamento} + \text{N}^{\circ} \text{ total de nematóides recuperados na necrópsia}} \times 100$$

Cálculo semelhante foi aplicado aos grupos controles negativos com o objetivo de avaliar a eliminação espontânea dos helmintos e para verificar se os diluentes não interferiram na atividade dos extratos. Os resultados analisados estaticamente através da estimativa de proporções dentro do intervalo de confiança de 95% usando-se o software SAS (1986).



**FIGURA 1.** Esquema diapositivo da gaiola de manutenção das aves durante a realização dos testes de avaliação anti-helmíntica.



**FIGURA 2.** Diagnóstico da infecção, manutenção das aves em experimentação, necropsia e coleta do material após administração das substâncias durante avaliação anti-helmíntica in vivo.

### 3. RESULTADO E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos do peso seco e da atividade anti-helmíntica obtidos com as cinco espécies de plantas e com piperazina são demonstrados nas tabelas e figuras abaixo; a eficácia do tratamento corresponde aos percentuais médios de mortalidade do *A. galli* e *H. gallinarum*.

As concentrações em mg/mL dos extratos aquosos (EA) dos volumes adicionado cada placa teste, calculados através da determinação do peso seco, estão demonstrados na tabela 1. Para o extrato etanólico (EE) observa-se que não houve variação nas concentrações de cada planta. Isto ocorreu devido à metodologia de obtenção deste extrato, no qual, este passa por um processo de evaporação para retirada do etanol e posteriormente por uma liofilização para retirada da água, obteve-se um produto seco ou pastoso capaz de ser pesado e diluído numa concentração fixa para todas as plantas testadas (Tabela 1). Também pode observar que o extrato etanólico de *H. courbaril* apresentou um rendimento bem elevado (90g) na forma de pó, sendo este resultado bastante expressivo pois, segundo Rates (2001) a grande dificuldade na realização de ensaios clínicos está relacionada com a quantidade de extrato e de princípio ativo obtidos das plantas e cita como exemplo o Taxol, isolado planta *Taxus brevifolia*, que para se obter 2,5 Kg deste produto é necessário 27.000 toneladas da casca.

**Tabela 1.** Concentração em mg/mL dos extratos aquoso e etanólico determinada a partir do peso seco.

Volume	ASFL	HCCC	OMTB	SDSF	SDCL	SDRZ	SVCC	EE
1ml	0,30	1,80	0,25	0,47	1,70	1,84	0,20	0,21
2ml	0,60	3,60	0,50	0,94	3,40	3,70	0,40	0,42
4ml	1,20	7,20	1,00	1,90	6,80	7,40	0,80	0,84
8ml	2,40	14,40	2,00	3,80	13,60	14,80	1,60	1,70
16ml	4,80	28,80	4,00	7,60	27,20	29,60	3,20	3,40
32ml	9,60	57,60	8,00	15,20	54,40	59,20	6,40	6,80
<b>Peso Seco</b>	<b>17,10</b>	<b>108,00</b>	<b>15,00</b>	<b>28,40</b>	<b>101,40</b>	<b>110,11</b>	<b>12,00</b>	<b>12,50</b>

ASFL = *Annona squamosa* folha; HCCC = *Hymenaea courbaril* casca; OMTB = *Operculina macrocarpa* tubérculo; SVCC = *Simarouba versicolor* casca; SDSF = *Scoparia dulcis* sumidade florida; SDCL = *Scoparia dulcis* caule; SDRZ = *Scoparia dulcis* raiz;

#### 3.1. Prevalência e carga parasitária

Neste trabalho, a prevalência observada em 108 aves necropsiadas foi de 96,3% para *A. galli* e 95,4% para *H. gallinarum*, demonstrando uma íntima associação entre estes dois parasitos que é favorecida por estes parasitarem regiões diferentes. Porém, também, foram observadas algumas variações com relação à localização desses helmintos, principalmente nos animais que foram submetidos ao tratamento com os extratos das plantas. Verificou-se que 75,9% de *A. galli* estavam presentes no intestino delgado cerca de 20,4% foram encontrados no intestino grosso, em especial no ceco, fato observado em todos os grupos tratados com plantas, onde a variação no número de animais que apresentaram parasitos nesta região foi no mínimo um e no máximo três para cada grupo, comportamento semelhante ao observado por (FERNANDES, 1998), usando o leite de coco em testes de atividade anti-helmíntica. Isto provavelmente decorra de uma tentativa do parasito de escapar do contato com os extratos testados e conseqüentemente resistir ao efeito destes tratamentos.

No caso de *H. gallinarum* 89% foram observados no ceco e apenas 6,8 % no cólon nos grupos tratados com *S. dulcis* sumidade florida (EESF) e caule (EACL), *O. macrocarpa* (EEOM) e *S. versicolor* (EASV), confirmando que a localização deste parasito no ceco dificulta a atuação dos anti-helmínticos sobre ele. Porém, a principal localização destes helmintos estão em conformidade com àqueles descritos por VATNE (1963), TONGSON; McCRAW (1967) e PANKAVICK *et al.* (1973).

### 3.2. Efeito dos extratos das plantas sobre *A. galli* e *H. gallinarum* comparados aos seus controles negativos e positivo

Na Tabela 1 verifica-se que a carga parasitária dos animais portadores de *A. galli* variou de 0 a 345 parasitos/ave e um total máximo de 616 parasitos, fato que provavelmente influenciou no percentual de eliminação espontânea medida através do grupo controle negativo que recebeu apenas água, onde o percentual foi de 16,55%, sendo este resultado superior aos encontrados por Fernandes *et al.* (2005a) que verificaram uma eliminação em torno de 9,7% e uma carga parasitária variando de 0 a 80 parasitos /ave e um total máximo de 238 parasitos. Quanto aos percentuais médios de eliminação dos diluentes Tween (11,63%) e DMSO (22,64%) pode-se ver que o primeiro apresentou uma eliminação inferior ao controle com água e muito próximo do valor encontrado por Fernandes *et al.* (2004c) (9,70%). Enquanto o DMSO apresentou uma eliminação 1/3 maior que da água e o dobro da apresentada pelo tween. No entanto, estes não diferiram estatisticamente ( $P>0,05$ ) entre si, demonstrando que estes não influenciaram nos resultados obtidos com os extratos etanólicos.

A Tabela 2 revela que a carga parasitária em relação ao *H. gallinarum* foi menor quando comparada ao *A. galli*, onde observou-se uma variação de 0 a 83 parasitos por animal e uma carga máxima 223. Quanto à eliminação espontânea, o percentual foi de 1,49% quatro vezes maior que os encontrados por Fernandes *et al.* (2005a) com 0,37% de eliminação. Esta diferença provavelmente está relacionada ao estresse térmico a que as aves foram submetidas, pois os autores realizaram seu experimento no Rio de Janeiro onde a temperatura é muito mais amena que no Estado do Piauí. Embora tenham sido usados vários recursos como microaspressores para diminuir este efeito, a produção avícola nesta região, ainda sofre com temperaturas muito elevadas que variam de 30°C a 40°C (INMET, 1990), aumentando significativamente o estresse calórico. Esta hipótese foi reforçada quando observou-se que a carga parasitária encontrada pelos mesmos autores foi superior a encontrada neste trabalho, portanto não sendo esta a explicação mais plausível neste caso.

Na mesma tabela, observa-se que o percentual médio do tween 80 (2, 25%) sobre *H. gallinarum* não diferiu estatisticamente ( $P>0,05$ ) do grupo tratado com água e embora o DMSO também não tenha diferido estatisticamente seu efeito foi de 9,43%, sendo quatro vezes maior que o tween e seis vezes maior que o controle negativo.

#### 3.2.1. Efeito da *Annona squamosa* sobre o *A. galli* e *H. gallinarum*

Esta planta foi a que apresentou o melhor resultado em termos de percentuais médios de eliminação de *A. galli*, onde o melhor extrato foi o aquoso com aproximadamente 40% (Tabela 1) percentual duas vezes e meia maior que a eliminação espontânea. Verifica-se, também que o EE da mesma planta apesar de não diferir estatisticamente do seu controle ( $P>0,05$ ) apresentou uma eliminação (20%) de aproximadamente o dobro da apresentada pelo tween. Observando os dois extratos verifica-se que estes resultados sugerem uma maior concentração da substância responsável pela eliminação dos helmintos esteja na fração aquosa.

Em relação ao *H. gallinarum*, a *A. squamosa* também apresentou um melhor resultado para o extrato aquoso (20,6%), sendo este mais eficaz sobre os dois nematóides em detrimento do EE ter apresentado nos dois casos a metade do efeito do EA. Observa-se, também, que não houve diferença significativa estatisticamente entre os extratos e os controles positivo e negativo ( $P>0,05$ ), sendo que a piperazina apresentou um percentual de eliminação quase idêntico 20,69% ao do EA aquoso. Este comportamento confirma os dados da literatura que afirma ser a piperazina não é muito eficaz contra o *H. gallinarum* (ADAMS, 2003).

**Tabela 2.** Influência dos extratos de plantas, dos solventes e da piperazina na eliminação de *Ascaridia galli*

Tratamentos	Parte	Extratos	Diluyente	Dose mg/kg/dia	Número de Helmintos Eliminados	Contagem de Helmintos na Necropsia (Mín./Máx.)	Total de Helmintos	(%) de Eliminação
<i>A. squamosa</i>	Folha	Aquoso	Água	256,20	37	58 (3-15)	95	38,95
		Etanólico	Tween	187,50	07	28 (0-19)	35	20,00
<i>H. courbaril</i>	Casca	Aquoso	Água	1.622,50	34	105 (4-37)	139	24,50
		Etanólico	DMSO	187,50	50	135 (7-75)	185	27,03
<i>O. macrocarpa</i>	Tubérculo	Aquoso	Água	422,25	26	84 (12-15)	110	23,64
		Etanólico	DMSO	187,50	43	149 (4-60)	192	22,40
	Sumidade Florida	Aquoso	Água	426,45	76	189 (2-74)	265	28,68
		Etanólico	Tween	187,50	10	39 (0-22)	49	20,41
<i>S. dulcis</i>	Caule	Aquoso	Água	1.521,45	31	114 (0-38)	145	21,38
		Etanólico	Tween	187,50	05	53 (1-19)	58	8,62
	Raiz	Aquoso	Água	1.651,65	50	88 (5-29)	138	36,23
		Etanólico	DMSO	187,50	25	103 (0-49)	128	19,53
<i>S. versicolor</i>	Casca	Aquoso	Água	178,35	119	497 (8-345)	616	19,32
		Etanólico	DMSO	187,50	18	127 (5-81)	145	12,41
Água destilada	-	-	Água	0,0	68	343 (14-163)	411	16,55
Dimetilsulfóxido	-	-	Água	12,5%	36	123 (0-60)	159	22,64
Tween 80	-	-	Água	12,5%	05	38 (1-22)	43	11,63
Piperazina	-	-	Água	100,00	498	07 (0-3)	505	<b>98,61*</b>

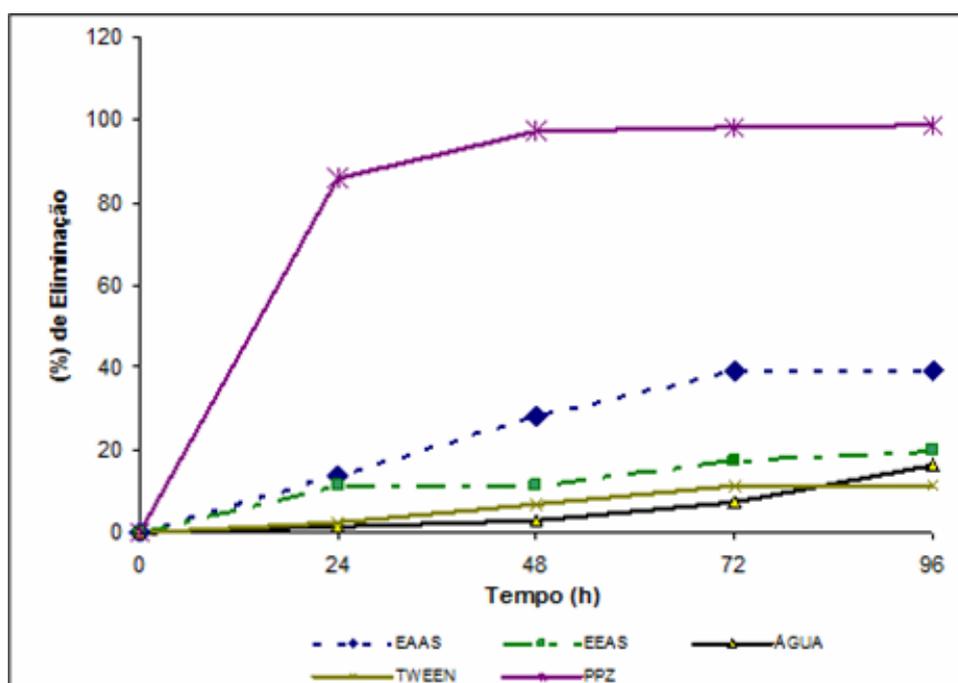
\* (P&lt;0,05)

**Tabela 3.** Influência dos extratos de plantas, dos solventes e da piperzina na eliminação de *Heterakis gallinarum*

Tratamentos	Parte	Extratos	Diluyente	Dose mg/kg/dia	Número de Helmintos Eliminados	Contagem de Helmintos na Necropsia (Mín./Máx.)	Total de Helmintos	(%) de Eliminação
<i>A. squamosa</i>	Folha	Aquoso	Água	256,20	13	50 (0-17)	63	20,63
		Etanólico	Tween	187,50	20	162 (0-71)	182	11,00
<i>H. courbaril</i>	Casca	Aquoso	Água	1.622,50	03	90 (8-24)	93	3,22
		Etanólico	DMSO	187,50	15	139 (4-47)	154	9,74
<i>O. macrocarpa</i>	Tubérculo	Aquoso	Água	422,25	08	63 (3-26)	71	11,27
		Etanólico	DMSO	187,50	14	157 (15-50)	171	8,19
	Sumidade Florida	Aquoso	Água	426,45	00	63 (1-18)	63	0,00
		Etanólico	Tween	187,50	08	143 (1-65)	151	5,30
<i>S. dulcis</i>	Caule	Aquoso	Água	1.521,45	02	90 (3-33)	92	2,17
		Etanólico	Tween	187,50	13	128 (12-61)	141	9,22
	Raiz	Aquoso	Água	1.651,65	02	44 (0-14)	46	4,35
		Etanólico	DMSO	187,50	12	113 (13-31)	125	9,60
<i>S. versicolor</i>	Casca	Aquoso	Água	178,35	19	75 (2-31)	94	20,21
		Etanólico	DMSO	187,50	65	158 (1-83)	223	29,15
Água destilada	-	-	Água	0,0	01	66 (7-20)	67	1,49
Dimetilsulfóxido	-	-	Água	12,5%	10	96 (7-26)	106	9,43
Tween 80	-	-	Água	12,5%	02	87 (0-39)	89	2,25
Piperazina	-	-	Água	100,00	18	69 (1-25)	87	20,69

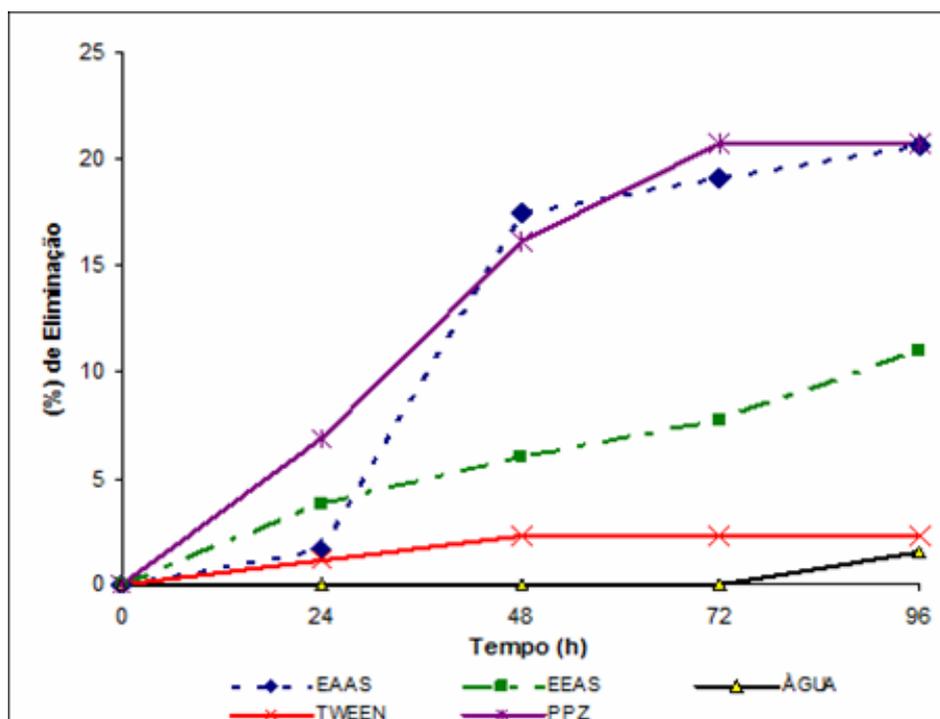
As figuras 3 e 4 demonstram o início do efeito dos tratamentos ao longo de 96 horas de observação para o *A. galli* e para o *H. gallinarum*, respectivamente. Na primeira, observa-se que os extratos aquoso (EAAS) e etanólico (EEAS) da *A. squamosa* iniciaram seu efeito logo após 24 horas da administração, comportamento semelhante ao controle positivo. No entanto a piperazina em 24 horas já havia eliminado cerca de 80% do *A. galli*, enquanto que nos extratos observa-se uma elevação da eliminação de forma gradativa. Este fato nos leva a creditar que o mecanismo de ação dos extratos esteja mais relacionado com a captação de glicose, onde os helmintos só morrem após esgotarem suas reservas energéticas (RIM *et al.*, 1965). Este fato também pode ser observado em teste “*in vitro*” (Cap.1) onde a mortalidade dos *A. galli* só começou a ocorrer após 48 horas de observação.

Sharma *et al.* (1987a) estudando o metabolismo de carboidrato “*in vitro*” em *A. galli* e de *Heterakis gallinarum* verificou que após o tratamento com adipato piperazina ( $10^{-2}$  M) verificou que a captação de  $O_2$  estava reduzida em 87% no *A. galli* e em 70% no *H. gallinae*. Este também observou que o conteúdo de glicogênio estava significativamente reduzido em ambos parasitas, enquanto nível de ácido láctico foi aumentado, indicando que o mecanismo de ação da piperazina está mais relacionado a interferência no metabolismo muscular que pode levar a uma paralisia e conseqüente expulsão do parasito, do que com o metabolismo de glicose que leva a inanição.



**Figura 3.** Efeito acumulado dos extratos aquoso e etanólico (mg/mL) da folha de *Annona squamosa* sobre o percentual eliminação de *Ascaridia galli* ao longo do tempo

Quanto ao *H. gallinarum* (Figura 4) verifica-se um comportamento semelhante entre o EAAS e o controle positivo onde a eliminação já ocorre antes de 24 horas, onde estes após 48 horas ficam muito próximo do percentual máximo de eliminação diferentemente do observado para o nematóide *A. galli*. Porém, o EAAS teve um efeito ascendente bem rápido, diferentemente da piperazina que apresentou uma eliminação mais gradativa.



**Figura 4.** Efeito acumulado dos extratos aquoso e etanólico (mg/mL) da folha de *Annona squamosa* sobre o percentual eliminação de *Heterakis gallinarum* ao longo do tempo

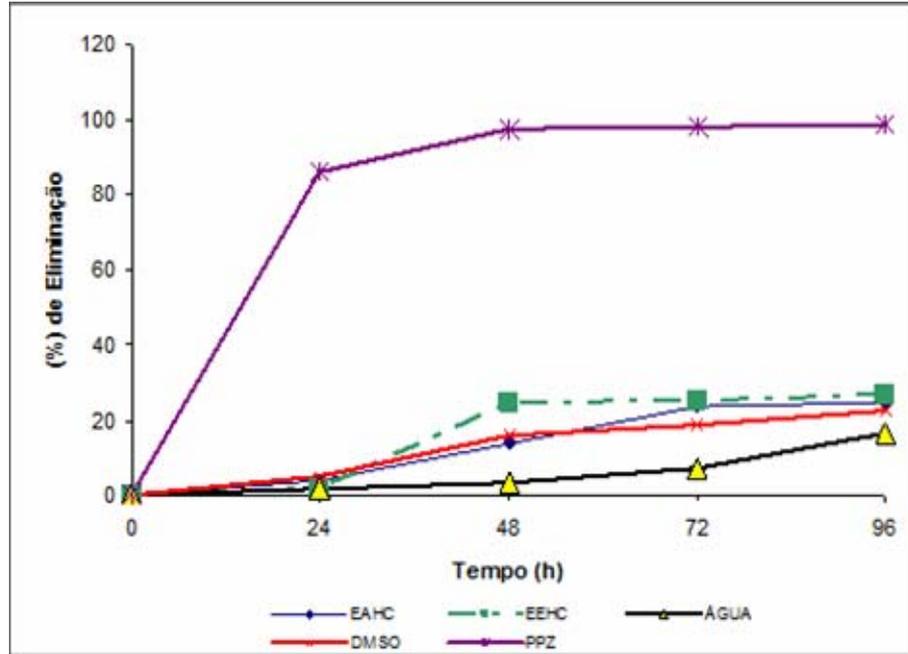
### 3.2.2. Efeito da *Hymenaea courbaril* sobre o *A. galli* e *H. gallinarum*

O efeito desta planta sobre o *A. galli* é observado na Tabela 1, onde verifica-se que não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os extratos aquoso (EAHC) e etanólico (EEHC), sendo que o segundo apresentou um efeito ligeiramente maior que o primeiro, 24,5% e 27,03% respectivamente. No entanto, quando comparados ao controle negativo e ao diluente (DMSO) estes demonstraram quase o dobro do efeito, embora estatisticamente não tenham diferido dos controles ( $P > 0,05$ ). Furtado *et al.* (2006) estudando o efeito anti-helmíntico da *Hymenaea stagnocarpa*, verificou a inibição de 84,78% da eclosão de ovos do nematóide *Haemonchus sp.* demonstrando uma tendência deste gênero a apresentar uma ação anti-helmíntica.

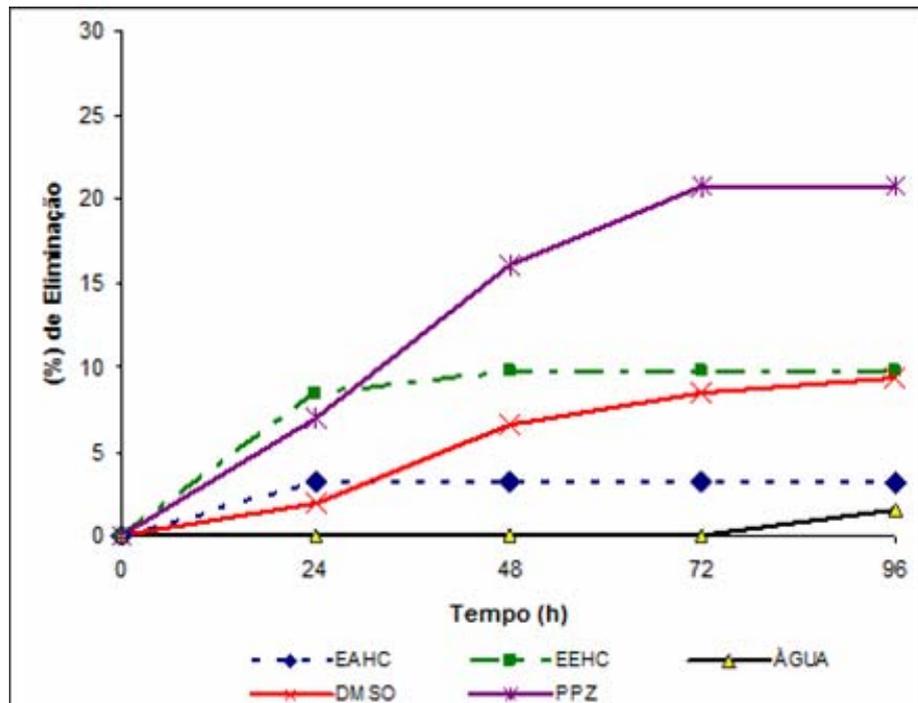
Na tabela 2 verifica-se que o percentual de eliminação desta planta sobre o *H. gallinarum* foi bem inferior ao observado para o *A. galli* e mais uma vez o extrato mais eficiente foi o etanólico (9,74%) que teve um percentual de eliminação duas vezes maior que o extrato aquoso (3,19%). Comparando-os aos controles negativos ver-se que estes não diferiram da água e do DMSO, tendo valores muito próximos destes. Para o controle positivo estes representaram 1/7 e 1/2 do efeito obtido com a piperazina, respectivamente, no entanto não houve diferença estatística ( $P > 0,05$ ) entre eles.

Na figura 5 tem-se o percentual médio de eliminação de *A. galli* dos extratos da *H. courbaril* ao longo das quatro coletas, nesta observa-se que seu efeito só começou 24h depois da segunda administração. Comportamento este que difere do controle positivo que começou a eliminar os parasitos imediatamente após ter sido administrado as aves a primeira dose do tratamento, mostrando um efeito muito rápido sobre este nematóide. No entanto, o pico máximo de eliminação ocorreu em 48 horas tanto para o controle positivo como para os extratos, permanecendo com pequena variação até o término das observações.

A Figura 6 demonstra o efeito destes tratamentos sobre o *H. gallinarum* onde verifica-se que o comportamento tanto dos extratos como dos controles positivo e negativo foi diferenciado, onde os parasitos começaram a ser eliminados logo após a primeira dose do tratamento, porém o controle positivo só atingiu seu pico após 72hs de observação, enquanto os extratos atingiram este pico em 24hs. Observa-se também que tanto o EAHC como EEHC comportaram-se de forma semelhante entre si com um percentual de eliminação muito próximo não havendo diferença estatística entre eles ( $P>0,05$ ).



**Figura 5.** Efeito acumulado dos extratos aquoso e etanólico (mg/mL) da casca de *Hymenaea courbaril* sobre o percentual eliminação de *Ascaridia galli* ao longo do tempo

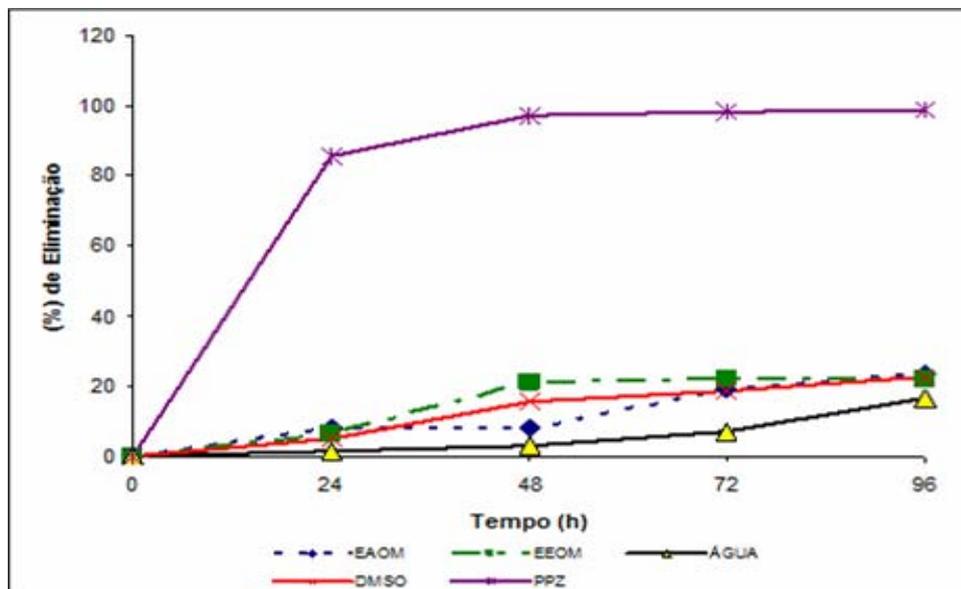


**Figura 6.** Efeito acumulado dos extratos aquoso e etanólico (mg/mL) da casca de *Hymenaea courbaril* sobre o percentual eliminação de *Heterakis gallinarum* ao longo do tempo

### 3.2.3. Efeito da *Operculina macrocarpa* sobre *A. galli* e *H. gallinarum*

A Tabela 1 revela que não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre os extratos aquoso e etanólico de *O. macrocarpa* quando comparados entre si, estes apresentaram um percentual médio de eliminação de 23,64% e 22,40% de *A. galli*, respectivamente, resultado este que corresponde a  $\frac{1}{4}$  do percentual de eliminação do controle positivo. Os extratos quando comparados aos controles negativos (água e DMSO) também não apresentaram diferença significativa ( $P>0,05$ ). Embora esses resultados não tenham sido muito expressivos eles demonstram uma ligeira ação sobre os nematóides. Almeida et al. (2007) usando esta planta no tratamento de nematóides de caprinos, encontraram uma redução de 63,09% no OPG após 30 dias da administração na ração de 9g/ 20 kg de peso corporal. Comportamento semelhante ocorreu em relação ao *H. gallinarum* em que o percentual de eliminação dos extratos aquoso e etanólico não diferiram entre si. ( $p<0,05$ ). Comprando-os com sua ação sobre *A. galli* estes representaram metade do efeito.

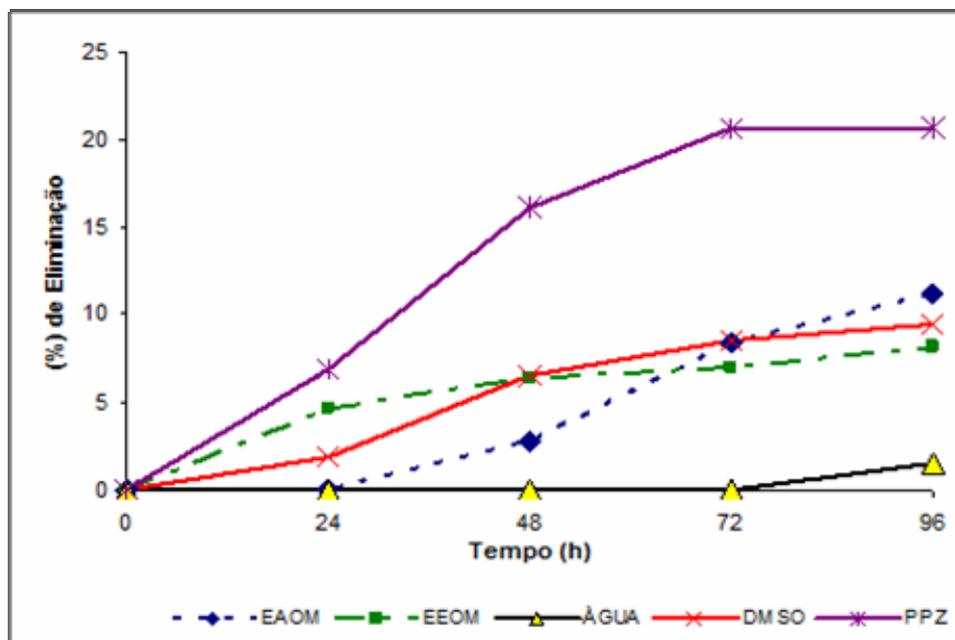
A Figura 7 demonstra que o pico de mortalidade de *A. galli* para o extrato aquoso de *O. macrocarpa* (EAOM) só ocorreu após 96 horas, sendo uma mortalidade diretamente proporcional ao tempo transcorrido, ou seja, houve um aumento gradativo da mortalidade em relação ao tempo de observação, comportando-se igual ao seu controle negativo (água). Enquanto, a *O. macrocarpa* (EEOM) mesmo tendo iniciado a mortalidade com 24 horas, atingiu seu efeito máximo sobre o nematóide em 48 horas, comportamento idêntico ao seu controle (DMSO). Quanto ao controle positivo (PPZ50) a mortalidade ocorreu nas primeiras horas de observação, onde registrou-se 100% de eliminação logo após 48 horas de observação.



**Figura 7.** Efeito acumulado dos extratos aquoso e etanólico (mg/mL) da casca de *Operculina macrocarpa* sobre o percentual de eliminação de *Ascaridia galli* ao longo do tempo.

Quanto ao nematóide *H. gallinarum* (Figura 8) verifica-se uma diferença de comportamento entre o EAOM e o EEOM, no qual o primeiro iniciou uma trajetória de mortalidade a partir de 24 horas e manteve-se de forma ascendente até as 96 horas de observação, sendo semelhante ao controle positivo. Quanto ao controle negativo verificou-se que os parasitos sobreviveram durante todo período de observação, confirmando que a solução de tyrode embora um pouco mais diluída não influenciou nos resultados. No entanto,

o EEOM iniciou seu efeito nas primeiras horas de observação e manteve-se mais ou menos estável e diferente do controle negativo (DMSO) que se comportou de forma semelhante ao EAOM.



**Figura 8.** Efeito acumulado dos extratos aquoso e etanólico (mg/mL) da casca de *Operculina macrocarpa* sobre o percentual eliminação de *Heterakis gallinarum* ao longo do tempo

### 3.2.4. Efeito da *Scoparia dulcis* sobre *A. galli* e *H. gallinarum*

Na Tabela 1 verifica-se que independente da parte usada o extrato aquoso de *S. dulcis* foi o que apresentou os maiores percentuais de eliminação sobre *A. galli*. Efeito oposto ao observado para o nematóide *H. gallinarum* (Tabela 2), no qual o extrato etanólico foi quem apresentou um maior percentual de eliminação para todas as partes testadas, mostrando uma diferença de resistência entre estes nematóides, provavelmente porque as substâncias responsáveis por esta ação tenham mecanismos de ação diferente ou porque os nematóides sejam diferentes fisiologicamente contribuindo para que haja resposta diferenciadas.

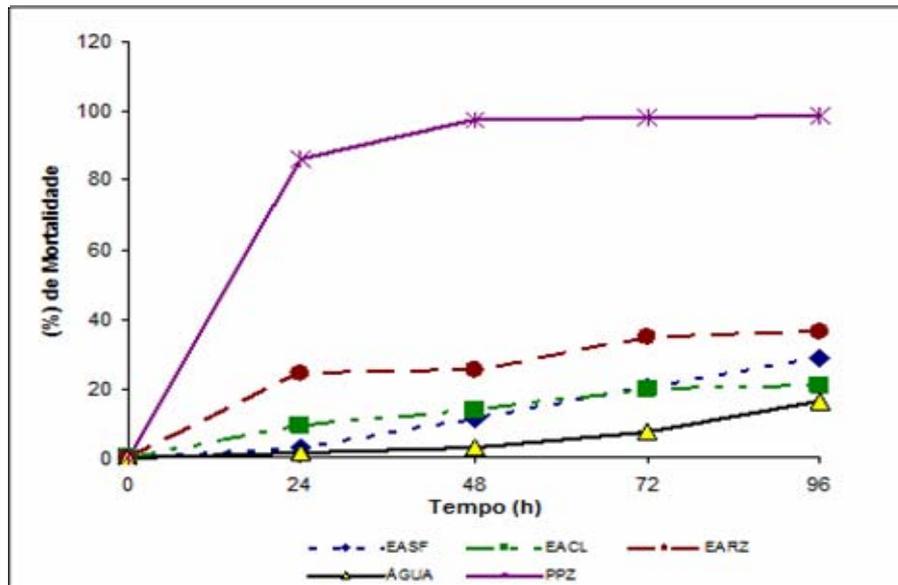
Verificando o resultado obtido com as diferentes partes da planta (Tabela 1), observa-se que o extrato aquoso da raiz (EARZ) foi o que apresentou melhor resultado eliminando 36,26 dos parasitos, sendo este resultado superior aos encontrados para o extratos aquosos da sumidade florida (EASF) com 28,68% e do caule (EACL) com 21,38%, no entanto estes não apresentaram diferença estatística entre si ( $P > 0,05$ ). Porém, quando comparados a piperazina (PPZ) verifica-se que esta foi estatisticamente superior aos extratos aquosos de todas as partes estudadas ( $P < 0,05$ ).

Estudando o efeito destes extratos sobre *H. gallinarum* (Tabela 2), observa-se que tanto o EA como o EE não diferiram estatisticamente dos seus controles negativo e positivo ( $P > 0,05$ ). Porém, mesmo sendo sua ação muito pequena é possível verificar que o extrato etanólico do caule (EECL) e da raiz (EERZ) apresentaram um efeito correspondente a aproximadamente 50% do efeito da piperazina sobre este nematóide.

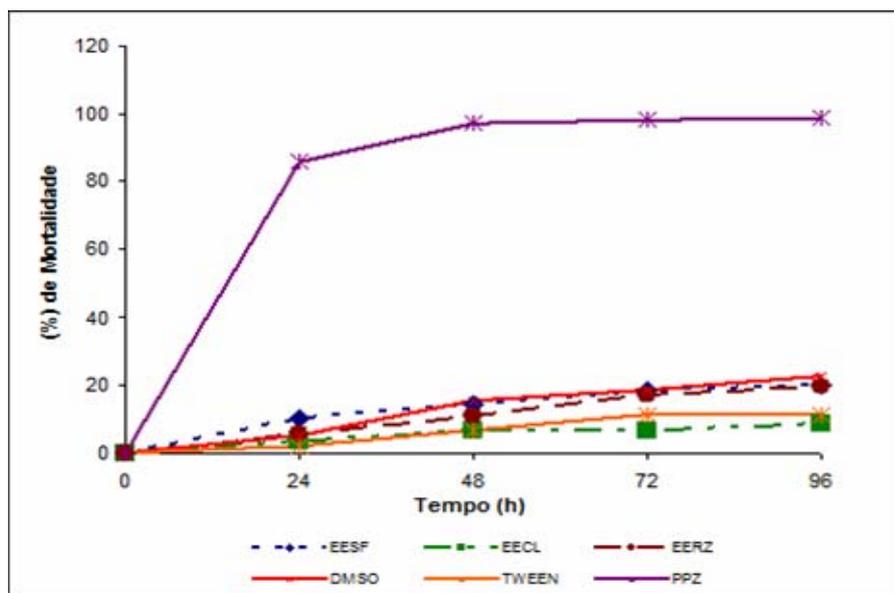
Nas tabelas 1 e 2 observa-se os tipos de extrato verifica-se que o extrato aquoso apresentou maior ação sobre o *A. galli*, levando a conclusão de que as substâncias responsáveis pela eliminação deste parasito são hidrossolúveis e estão em maior concentração

na raiz e sumidade florida. Enquanto que para *H. gallinarum* a mortalidade foi maior quando se usou EE da raiz e do caule.

Nas Figuras 9 e 10 pode-se observar o efeito acumulado sobre *A. galli* ao longo das quatro coletas. Nestas percebe-se que a eliminação do parasito começou a ocorrer logo depois da primeira coleta (24hs), independente da parte usada e também do extrato. Comportamento que não diferiu dos controles positivo e negativos, no entanto a piperazina teve seu pico maior de eliminação após as 48 e depois permaneceu constante, enquanto o EA do CL e da RZ eliminaram os nematóides até 72 horas depois e a SF manteve seu efeito até 96 horas depois do tratamento. Esta ação provavelmente deve-se ao efeito hipoglicêmico do extrato aquoso desta planta (LATHA; PARI, 2004).

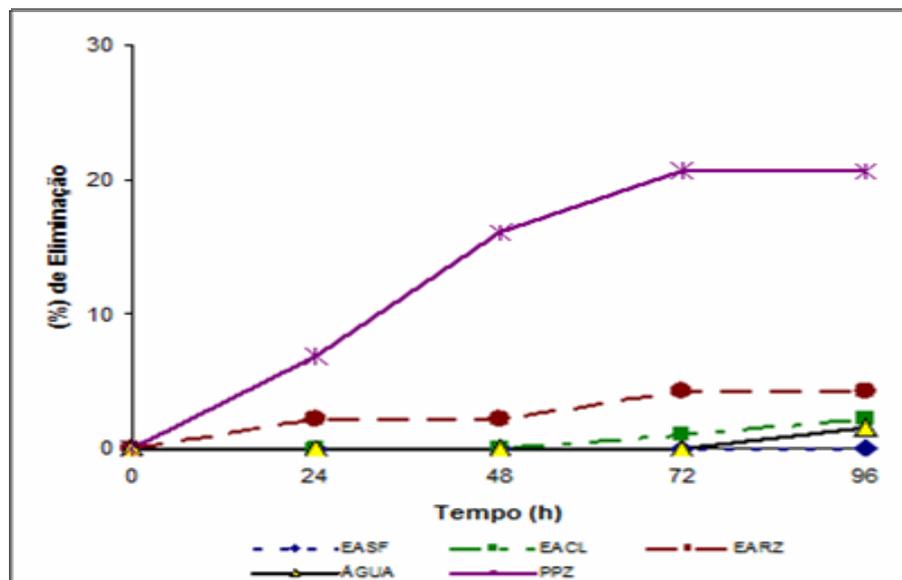


**Figura 9.** Efeito acumulado do extrato aquoso (mg/mL) das diferentes partes de *Scoparia dulcis* sobre o percentual eliminação de *Ascaridia galli* ao longo do tempo

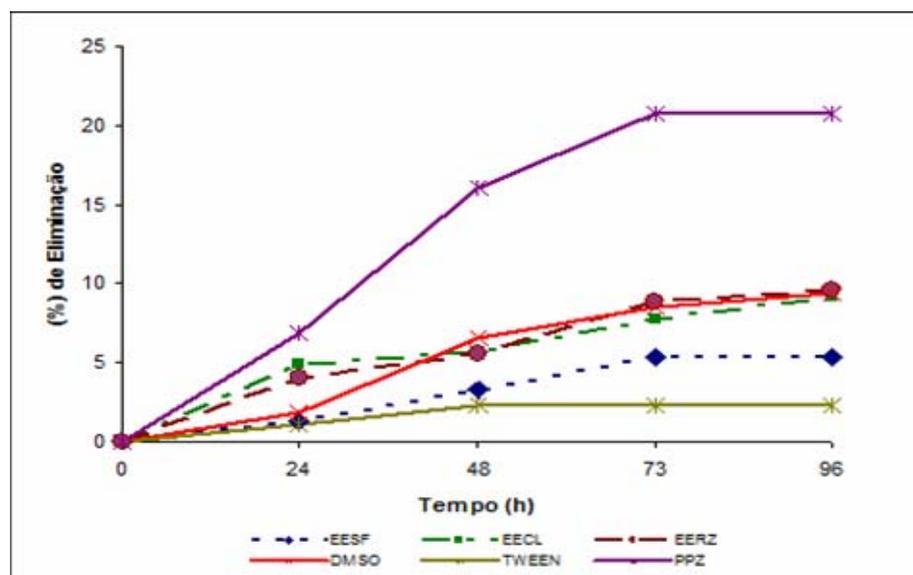


**Figura 10.** Efeito acumulado do extrato etanólico (mg/mL) das diferentes partes *Scoparia dulcis* sobre o percentual eliminação de *Ascaridia galli* ao longo do tempo

As Figuras 11 e 12 demonstram o efeito das partes de *S. dulcis* sobre *H. gallinarum*, onde observa-se que o controle positivo (piperazina) só apresentou a eliminação máxima após decorrido 72 horas, porém seu efeito foi gradativo, provavelmente isto tenha ocorrido devido a dificuldade de contato dos extratos com o parasito que tem como localização o ceco. Outra explicação poderia ser o mecanismo de ação da piperazina que atua na captação de glicose efeito já citado anteriormente. Este comportamento também foi observado para os EACL de todas as partes da planta com exceção da SF que não foi capaz de eliminar nenhum deste nematóide. Na Figura 11 pode-se observar que o EE de todas as partes apresentaram comportamento semelhante ao DMSO com o pico de mortalidade ocorrendo após 72 hs de observação, enquanto o tween teve seu máximo de eliminação com 48 hs permanecendo estável depois.



**Figura 11.** Efeito acumulado do extrato aquoso (mg/mL) das diferentes partes de *Scoparia dulcis* sobre o percentual eliminação de *Heterakis gallinarum* ao longo do tempo



**Figura 12.** Efeito acumulado do extrato etanólico (mg/mL) das diferentes partes de *Scoparia dulcis* sobre o percentual eliminação de *Heterakis gallinarum* ao longo do tempo

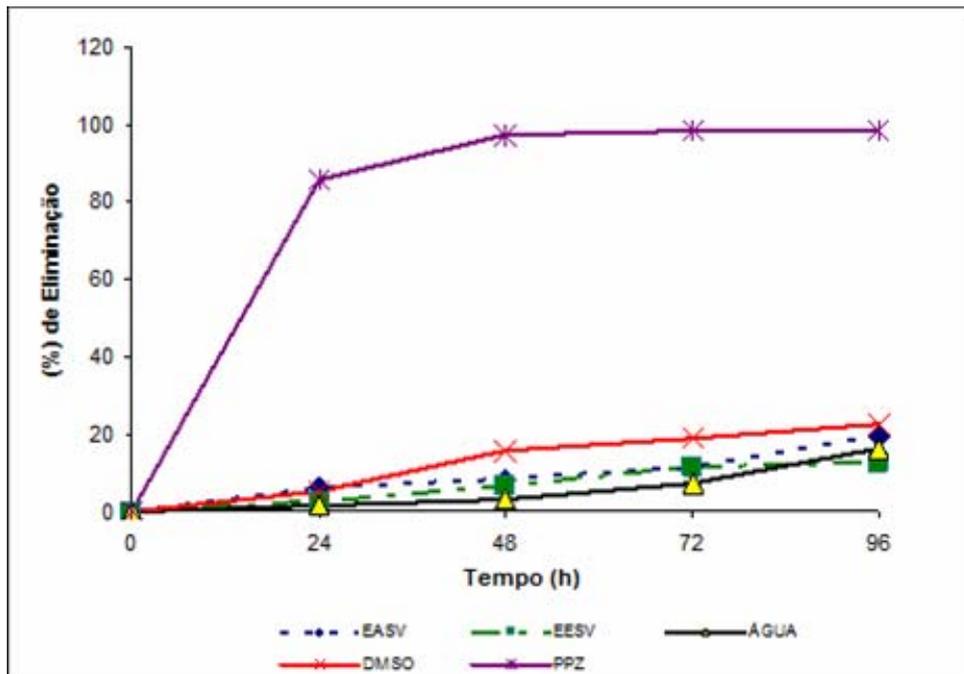
### 3.2.5. Efeito da *Simarouba versicolor* sobre *A. galli* e *H. gallinarum*

Os resultados obtidos com a *S. versicolor* sobre *A. galli* podem ser observados na Tabela 1, nesta verifica-se que o melhor efeito foi obtido quando usou-se o extrato aquoso de *S. versicolor* (EASV) com um percentual médio de eliminação de 19,32%, enquanto o extrato etanólico de *S. versicolor* (EESV) apresentou apenas 12,41%. Porém este percentual, quando comparado com a eliminação espontânea (16,55%), verifica-se que não houve diferença estatisticamente significativa ( $P>0,05$ ) (Tabela 1). Este também apresentou aproximadamente a metade do percentual de eliminação do DMSO. Este comportamento provavelmente é sugestivo de uma reação entre o principio ativo e o diluente em que o EESV levou a uma interação negativa proporcionando a inibição de sua ação, pois quando observa-se o efeito isolado do DMSO, percebe-se que este foi bem superior ao efeito dele associado ao EESV.

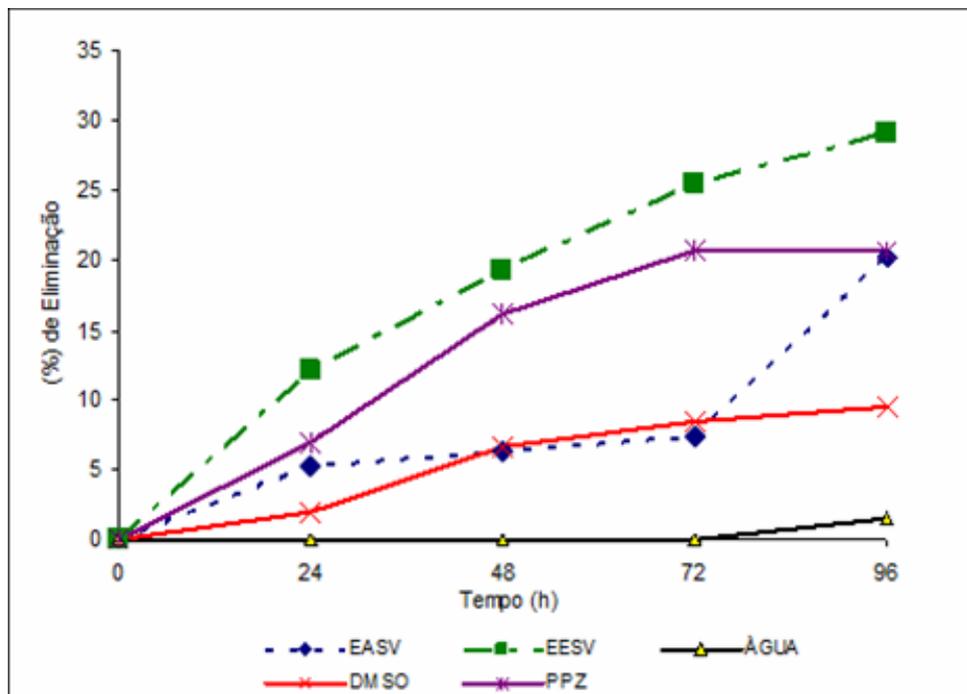
A tabela 2 demonstra o efeito desta planta sobre *H. gallinarum*, onde o EASV foi quatorze vezes maior que o controle negativo, embora tenha sido inferior a EESV. O EESV também apresentou um efeito superior ao seu controle negativo, cerca de duas vezes, além disso, este efeito foi maior que o da piperazina, indicando uma maior eficácia desta planta sobre *H. gallinarum*. Esta observação se torna muito importante uma vez que todas as plantas estudadas anteriormente exerceram um efeito muito pequeno sobre este nematóide, além do fato deste nematóide apresentar uma maior resistência aos medicamentos usados e sendo este um importante transmissor da histomoníase (FORTES, 2004), o que qualifica ainda mais, os resultados obtidos neste experimento. Dentre outras plantas estudadas a única que teve resultados aproximados foi a *A. squamosa* com extrato aquoso que apresentou uma eliminação semelhante ao controle positivo e negativo.

Esta planta tem sido pesquisada principalmente quanto seu efeito ectoparasiticidade e inseticida, sendo este trabalho pioneiro quanto ação anti-helmíntica. Pires *et al.* (2007) determinaram a concentração inibitória do EASV sobre a ovipostura do *Boophilus microplus*, no qual a concentração de 17,2 mg/mL foi capaz de inibir 100% da ovipostura. Simote *et al.* (2004) usando os extratos, metanólico, diclorometânico e hexânico observaram a redução a sobrevivência de formigas cortadeiras a partir do 6° dia de aplicação. Já Coelho *et al.* (2006) conseguiram a mortalidade de 95% do triatomíneo *Rhodnius milesi*. Este achado são importantes pois confirmam os resultados encontrados neste trabalho quanto a presença de substâncias ativas nas frações alcoólicas do extrato.

A Figura 13 demonstra que tanto o EASV como o EESV só apresentaram algum efeito após 24 horas de exposição ao tratamento, apresentando um efeito linear crescente e gradativo. Da mesma forma, a Figura 14 demonstra que o efeito do EESV sobre o *H. gallinarum* foi gradativo e ascendente muito semelhante ao da piperazina. Já o EASV só apresentou um efeito mais acentuado após 72 horas, demonstrando a possibilidade do mecanismo de ação das substâncias contidas neste extrato está relacionado com o metabolismo de glicose citado anteriormente.



**Figura 13.** Efeito acumulado dos extratos aquoso e etanólico (mg/mL) da casca de *Simarouba versicolor* sobre o percentual eliminação de *Ascaridia galli* ao longo do tempo



**Figura 14.** Efeito acumulado dos extratos aquoso e etanólico (mg/mL) da casca da *Simarouba versicolor* sobre o percentual eliminação de *Heterakis gallinarum* ao longo do tempo

#### 4. CONCLUSÕES

Os testes efetuados no presente trabalho, visando identificar a atividade anti-helmíntica de cinco espécies de plantas, comparadas ao efeito da droga padrão (piperazina) e ao controle, usando frangos naturalmente infectados com *A. galli* e *H. gallinarum* nos permitiu chegar as seguintes conclusões:

- A planta *Annona squamosa* foi a que apresentou o maior percentual de eliminação de *Ascaridia galli*, sendo ainda efetiva sobre o *Heterakis gallinarum*. Nos dois casos sugere-se que as substâncias responsáveis por este efeito estejam mais concentradas na fração aquosa;
- A *Hymenaea courbatil* e a *Operculina macrocarpa* não apresentaram diferença significativa entre o extrato aquoso e o etanólico quanto à eliminação de *A. galli*. Estas também não foram eficazes em relação ao *H. gallinarum*;
- A *Scoparia dulcis*, em relação às partes testadas, apresentou o melhor resultado sobre o *A. galli* quando usou-se a sumidade florida e raiz na forma de extrato aquoso. Porém, sobre o *H. gallinarum* nenhuma das partes e extrato testados foi capaz de eliminá-lo;
- A planta que apresentou o maior percentual de eliminação de *H. gallinarum* foi a *Simarouba versicolor* e o extrato etanólico foi o mais eficaz. De modo contrário, sobre o *A. galli* o extrato aquoso foi o que apresentou maior eficiência. Assim, acredita-se que são substâncias diferentes que atuaram sobre cada parasito, provavelmente por estes apresentarem diferenças fisiológicas;
- O extrato aquoso de todas as plantas foi o mais eficaz sobre o *A. galli*, enquanto o extrato etanólico apresentou melhores resultados quando testado sobre o *H. gallinarum*.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKERT, J.E. The morphology and life history of the fowl nematode *Ascaridia Lineata* (Schneider). *Parasitology*, v. 23, p.360-79, 1931.
- ADAMS, H. R. **Farmacologia e terapêutica veterinária**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1034 p., 2003.
- AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Rev. Bras. FarFarmacogn.* V. 17, p. 114-40, 2007.
- AKHTAR, M.S.; RIFFAT, S. Evaluations of *Melia azerdarach* Linn. fruit (Bakain) against *Ascaridia galli* infection in chickens. *Pakistan Vet.* v.5, p.34-7. 1985.
- ALMEIDA, W. V. F.; SILVA, M. L. C. R.; FARIA, E. B.; ATHAYDE, A. C. R. SILVA, W. W. Avaliação de plantas medicinais em caprinos da região do semi-árido paraibano naturalmente infectados por nematóides gastrointestinais. *Rev. Caatinga*, v. 20, n.03, p.1-7, 2007.
- AMATO, J. F. R.; BOEGER, W. A.; AMATO, S. B. **Protocolos para laboratório - Coleta e processamento de parasitos de pescado**. Imprensa Universitária, UFRRJ, Rio de Janeiro, 1991, 77p.
- AMORIM, A.; BORBA, H.R.; STEVENSON, S.R.; CARVALHO, A.A. Ação anti-helmíntica de plantas II - Triagem “in vivo” de 17 extratos aquosos brutos. *Rev. Bras. Farm.*, v. 70, n. 4, p. :98-100., 1989.
- CARVALHO, M. M. Use of tree legumes for the recovery of degraded pastures in the Atlantic Forest region of Brazil. In. IBRAHIM, M. International symposium on silvopastoral systems; Congress on agroforestry and livestock production in Latin America. San José **Anais...**, San José, Costa Rica, CATIE, . p.12-18, 2001.
- COELHO, A. A. M.; PAULA, J. E.; ESPÍNDOLA, L. S. Insecticidal activity os cerrado plant extracts on *Rhodnius milesi* Carvalho, Rocha, Galvão & Jurberg (Hemiptera: Reduviidae), under laboratory conditions. *Neotrop. Entomol.*v. 35, n. 1, p. 133-8, 2006.
- ESHETU, Y.; MULUALEM, E.; IBRAHIM H.; BERHANU A.; ABERRA K. Study of gastro-intestinal helminths of scavenging chicken in four rural districts of Amahara region, Ethiopia. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* v. 20, n.3, p: 791-6, 2001.
- FERNANDES, R. M. Avaliação da atividade anti-helmíntica de plantas em frango de corte naturalmente infectados com *Ascaridia galli* (SCHRANK,1788) FREEBORN, 1923 e *Heterakis gallinarum* (SCHRANK,1788) MADSEN, 1949. 100p. (Tese em Parasitologia). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Veterinária, Seropédica-RJ, 1998.

- FERNANDES, R. M.; RODRIGUES, M. L. A.; BORBA, H. R.; FERNANDES, M. Z. L. C. M.; AMORIM, A. Ausência da atividade anti-helmíntica de plantas em frangos de corte naturalmente infectados com *Heterakis gallinarum* (Schranck,1788) Madsen,1949. *Ciência Rural*, v.34, n.5, p.1629-32, 2004c.
- FERNANDES, R. M.; RODRIGUES, M. L. A.; BORBA, H. R.; FERNANDES, M. Z. L. C. M.; AMORIM, A. Atividade anti-helmíntica de plantas em frangos naturalmente infectados com *Ascaridia galli*. *Arq. Bras.Med. Vet. Zootec.* v. 57, n. 02, p.264-266, 2005a.
- FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. Ed. Ícone, São Paulo, 4ª ed. 607p. 2004.
- FURTADO, S. K.; NEGRELLE, R. B.; MIGUEL, O.G.; ZANILO, S.R. Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no estado do paraná: testes “*in vitro*” e “*in vivo*”.147p.Tese em agronomia, Universidade Federal do Paraná, 2006.
- INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/index.php> Acessado em 12/10/2007
- LATHA, M; PARI, L. Effect of an aqueous extract of *Scoparia dulcis* on blood glucose, plasma insulin and some polyol pathway enzymes in experimental rat diabetes. *Braz. J. Med. Biol. Res.* V.;37, n. 4, p. 577-86, 2004.
- LEVINE, N.D. **Nematode Parasites of Domestic Animals and of Man**,Ed. Library of Congress Catalog, USA, 477 p. 1980.
- MAGWISHA, H. B.; KASSAKU, A. A.; KYVSGAARD, N. C.; PERMIN, A. A comparison of the prevalence and burden of helminth infections in grower and adult free-range chickens. *Trop. Anim. Health Prod.* v. 34, n.3, p. 205-14, 2002.
- MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais: guia de sele o e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil**. 2ª edi o Imprensa Universitária – UFC, Fortaleza-Ce. 346p. 2000.
- MILLER. A.R. Como controlar los nematodos. *Agricult. de las Amer.*Caracas, Venezuela, v. 26, n.4, p.28-32, 1977.
- PANKAVICH, J.A.; POESCHEL, G.P.; SHOR, A.L. & GALLO, A. Evaluation of Levamisole against experimental infections of *Ascaridia*, *Heterakis* and *Capillaria* spp. in chickens. *Am. J. Vet. Res.*, v. 34, n. 4, p. 501-5. 1973.
- PERMIN, A. BISGARD, M; FRANSEN, F.; PARMAN, M.; NANSEN, P.; KOLD, J.. Prevalency of gastrointestinal helminths in diferent poultry production systems. *Bras. Poultry Science*, v.40, n.4, p. 439-43.1999.
- PIRES, J. E. P.; FERNANDES, M. Z. L. C. M.; FERNANDES, R. M.; VIANA, G. E. N.; DOURADO, J. C. L.; SOUSA, S. A. A. Determina o da concentra o inibitória média (CL<sub>50</sub>) do extrato aquoso da *Simarouba versicolor*, St. Hill sobre a ovipostura do carrapato bovino (*Boophilus microplus*, Canestrini, 1887). *Rev. Bras. Pl. Med.*, v. 9, n. 04, p. 23-6, 2007.

- RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. *Toxicon*, v. 39, p. 603-13, 2001.
- RIM, H. J.; KIM, K.S.; SEONG, S.H; RHEE, S.D.; ON, B. J.; LEE, H.K. Metabolism of C (14) – glucose by *Ascaridia galli*. *Korean J.Parasitol.* v.3, n.3, p.107-11, 1965.
- SHARMA, R. K.; SINGH, K.; SAXENA, K. K. The effect of piperazine adipate and parbendazole on the carbohydrate metabolism of *Ascaridia galli* and *Heterakis gallinae*. *Angew Parasitol* V. 28, n. 4, p.207-10. 1987a.
- SHILASKAR, D.V. & PARASAR, G.C. Evaluation of indigenous anthelmintics. *Indian J. Indg. Med.*, v. 6, p.49-53, 1989.
- SIMOTE, S. Y.; Estudo Fitoquímico de *Helietta puberula* (Rutaceae), *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae) e Busca de um Processo de Microencapsulação de Compostos Ativos, Visando o Controle de Formigas Cortadeiras. 232p. (Tese em Química) Universidade federal de São Carlos, São Carlos – SP, 2006.
- SOULSBY, E.J.L. *Parasitologia y Enfermades Parasitarias en los Animales Domesticos*. Interamericana, México, 823 p. 1987.
- STATISCAL ANALYSIS SYSTEM, SAS **System for linear models** Cary. SAS Institute, 211p, 1986.
- STEWARD, J.S. Anthelmintic studies: I. A controlled critical entero-nemacidal test. *Parasitology*, v. 45, p. 231-41, 1955.
- THAMSBORG, S. M.; ROEPSTORFF; LARSEN, M. Integrated and biological control of parasites in organic and convencional production systems. *Veterinary Parasitology*, v. 84, n.3/4, p.169-86, 1999.
- TONGSON, M.S.; MCGRAW, B.M. Experimental ascaridiasis: Influence of chicken age and infective egg dose on struture of *Ascaridia galli* populations. *Experimental Parasitology*, v. 21, p.160-72, 1967.
- VATNE, R.D. Aspects of the biology of *Heterakis gallinarum* (nematoda) in chincken and their host-parasite relations. *Dissertation Abstract*, v. 24, n. 4, p.1767-8, 1963.
- WILLIS, H.H. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. In: UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 3ª ed., Japan international cooperation Agency, Tkyo, Japan, p.14, 1994.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente resultado revela uma atividade anti-helmintica para a *Annona squamosa* (fruta-do-conde) tanto no teste “*in vitro*” como “*in vivo*”. Sendo que o extrato aquoso foi mais eficaz que o extrato etanólico, tanto sobre *Ascaridia galli* como para *Heterakis gallinarum*, porém com resultados mais significativos sobre o primeiro. Estes resultados sugerem que a substância responsável por este efeito esteja em maior concentração na fração aquosa, sendo portanto solúvel em água. As plantas *Hymenaea courbaril* (jatobá) e *Operculina macrocarpa* (Batata-de-Purga) apresentaram maior eficácia contra o *A. galli* no teste “*in vitro*”, sendo o extrato etanólico responsável pelo maior percentual de mortalidade deste nematóide. Porém, no teste “*in vivo*” não houve diferença significativa entre o extrato aquoso e o etanólico quanto à eliminação de *A. galli*. Sendo que no mesmo teste não houve eliminação *H. gallinarum* independente do extrato usado. Confirmando as observações de que este parasito é mais resistente, possivelmente devido a sua localização no ceco, dificultando o contato com as substâncias responsáveis por esta ação.

Em relação à *Scoparia dulcis* (vassourinha), nos testes “*in vitro*”, obteve-se melhor resultados quando se utilizou a sumidade florida e o caule. Dentre os extratos estudados, o extrato aquoso foi o que teve maior homogeneidade no percentual de mortalidade. Porém, o extrato etanólico mostrou uma tendência a apresentar melhores resultados se a concentração for aumentada, pois nos dois casos a maior concentração também apresentou resultado semelhante ao extrato aquoso, apenas a raiz não obteve resultados significativos. Quanto aos testes “*in vivo*” a *S. dulcis* apresentou melhor resultado sobre *A. galli* quando usou-se a sumidade florida e a raiz, confirmando os resultados do teste “*in vitro*”, quanto a eficácia do extrato aquoso da sumidade florida. Porém, sobre *H. gallinarum* nenhuma das partes testadas foi capaz de eliminá-lo, seja na forma de extrato aquoso ou etanólico;

Os resultados obtidos nos teste “*in vitro*” para a *Simarouba versicolor* (Pau-Paraíba) foram semelhantes, tanto para o extrato aquoso como para etanólico, não havendo diferença quanto ao percentual de mortalidade. Porém, nos testes “*in vivo*”, esta,apresentou o maior percentual de eliminação de *H. gallinarum*, sendo o extrato etanólico o mais eficaz. De modo contrário, sobre o *A. galli* o extrato aquoso foi o que apresentou maior eficiência, estes resultados levam a acreditar que substâncias direferentes atuaram sobre cada parasito, provavelmente por estes apresentarem diferenças fisiológicas;

De modo geral, o extrato aquoso de todas as plantas foi o mais eficaz sobre o *A. galli*, enquanto o extrato etanólico apresentou melhores resultados quando testado sobre o *H. gallinarum*. Estes resultados servirão no futuro como ponto de partida para determinação dos mecanismos de ação das substâncias bioativas presentes nestes extratos, direcionando seu potencial uso de forma racional no controle das helmintíases.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS

- ABIFITO - Assoc. Bras. das Indústrias de Fitoterápicos. Fitoterápicos - Nosso verde vale ouro, 2002. Disponível em: [www.abifisa.org.br/noticias2.asp](http://www.abifisa.org.br/noticias2.asp). Acessado em: 24/06/2007.
- ACKERT, J.E. e HERRICK, C.A. Effects of the nematode *Ascaridia lineata* (Schneider) on growing chickens. *J. Parasit.*, v.15, p.1-13, 1928.
- ACKERT, J.E. The morphology and life history of the fowl nematode *Ascaridia Lineata* (Schneider). *Parasitology*, v. 23, p.360-79, 1931.
- ACKERT, J.E. The large roundworm of chickens. *Vet. Med. England*,v. 35, p.106-8. 1940.
- ADAMS, H. R. **Farmacologia e terapêutica veterinária**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1034 p., 2003.
- AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Rev. Bras. FarFarmacogn.* V. 17, p. 114-40, 2007.
- AHSAN, M.; ISLAM, S. K. N.; GRAY, A. I.; STOMSON, W. H. Cytotoxic Diterpenes from *Scoparia dulcis*. *J. Nat. Prod.* V. 66, p. 958-61, 2003.
- AKHTAR, M.S.; RIFFAT, S. Evaluations of *Melia azerdarach* Linn. fruit (Bakain) against *Ascaridia galli* infection in chickens. *Pakistan Vet.* v.5, p.34-7. 1985.
- ALMEIDA, S.P.de; SILVA, J.A.da; RIBEIRO, J. **Aproveitamento alimentar de espécies nativas do cerrado: araticum, barú, cagaita e jatobá**. 2 ed. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1990. 83p. (Documentos 26).
- AMATO, J. F. R.; BOEGER, W. A.; AMATO, S. B. **Protocolos para laboratório - Coleta e processamento de parasitos de pescado**. Imprensa Universitária, UFRRJ, Rio de Janeiro, 1991, 77p.
- AMORIM, A.; BORBA, H.R.; STEVENSON, S.R. & CARVALHO, A.A. Ação anti-helmíntica de plantas II - Triagem “*in vivo*” de 17 extratos aquosos brutos. *Rev. Bras. Farm.*, v. 70, n. 4, p. :98-100., 1989.
- ANDRADE, S. F; SANTARÉM, V. A. Endoparasiticidas e Ectoparasiticidas.In: **Manual de Terapêutica Veterinária**,2ª Edição. Ed. Roca, São Paulo, p.437-79, 2002.
- ARRIAGA, A. M. C.; MESQUITA, A. C.; POULIQUEN, Y.B. M.; LIMA, R. A.; CAVALCANTE, S. H.; CARVALHO, M. G.; SIQUEIRA, J. A.; ALEGRIO, L. V.; BRAZ FILHO, R. Chemical constituents of *Simarouba versicolor*. *Anais da Acad. Brás. Ciênc.* v.74, n.03, sept. 2002.

- ASANO, S.; MIZUTANI, M.; HAYASHI, T.; MORITA, N.; TAKEGUCHI, N. Reversible inhibitions of gastric H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPase by scopadulcic acid B and diacetyl scopadol. *The j. Biol. Chem.* V. 265, n. 36, p. 22167-73, 1990.
- BRANCH, L. C.; SILVA, I. M. F. **Folk Medicine of alter do chão, Pará.** *Acta Amazônica.* V. 13 (5/6), p. 737-97. 1983.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria n 6 de 31.1.95. *Diário Oficial da União*, v.200, seção I, p. 1523-1524, 6.2.1995.
- BOWMAN, D. D.; LYNN, R. C.; EBERRHARD, M. L.; ALCARZ, A. **Parasitologia Veterinária de Georgis.** 8ª edição, Ed. Manole, Barueri-SP, 2006. 422p.
- BRENES, B.; TORTELLY, R.; MENESES, R, C.; MUNIZ-PEREIRA, L. C.; PINTO, R, M. Prevalence and pathology of the nemaode *Hetarakis gallinarum*, the trematode *Paratanaisia bragai*, and the protozoan *Histomonas meleagridis* in the turkey, *Meleagris gallopavo*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 101, n. 6, p. 677-81, 2006.
- BUMSTEAD, N., MILLARD, B.M., BARROW, P.A. & COOK, J.K.A Genetic basis of disease resistance in chickens. in: OWEN, J.B. & AXFORD, R.F.E. (Eds) *Breeding for Disease Resistance in Farm Animals*. Wallingford, Commonwealth Agricultural Bureau. p. 10–23, 1991.
- BUSATO, A. P.; VARGAS-RECHIA, C. G.; REICHER, F. Xyloglucan from the leaves of *Hymenaea courbaril*. *Phytochemistry.* V. 58, p. 525-31, 2001.
- CARVALHO, J.C.T. Fitoterápicos anti-inflamatórios: Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas. Ribeirão Preto-SP; Tecmed, 480 p., 2004.
- CARVALHO, M. M. Use of tree legumes for the recovery of degraded pastures in the Atlantic Forest region of Brazil. In. IBRAHIM, M. International symposium on silvopastoral systems; Congress on agroforestry and livestock production in Latin America, 2º, 2001. San José **Anais...**, San José, Costa Rica, CATIE, . p.12-18, 2001.
- CHADFIELD, M. S.; PERMIN, A.; NANSEN, P.; BISGAARD, M. Investigation of the parasitic nematode *Ascaridia galli* as a potential vector for Salmonella dissemination in poultry. *Parasitol. Res.*, v.87, p 317-25, 2001.
- CHATROU, L. W.; RAINER, H.; MAAS, P.J.M. Annonaceae Soursop Family). p.18-20, *In:*N. Smith *et al.* Flowering plants of neotropic. Nova York: New York Botanical Garden. 2004.
- COELHO, A. A. M.; PAULA, J. E.; ESPÍNDOLA, L. S. Insecticidal activity os cerrado plant extracts on *Rhodnius milesi* Carvalho, Rocha, Galvão & Jurberg (Hemíptera: Reduviidae), under laboratory conditions. *Neotropic. Entomol.*v. 35, n. 1, p. 133-8, 2006.
- CORTES, D.; FIDEGADERE, B; CAVE, A. Bis-tetrahydrofuran acetogenins from annonaceae. *Phytochemistry*, v. 32, n. 06, p. 1467-73, 1993.
- COUCEIRO, E.M. Pinha, fruto do conde ou ata, sua cultura e origem. **Publicação da CEASA**, Recife, v.1, n.8, p.1973.

- CRUZ, G. L. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. 4<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Bertrand Brasil, p. 104-5, 1980.
- DAHL, C.; *et al.* The effect of concurrent infection with *Pasturella multocida* and *Ascaridia galli* on free range chickens. *Rev.Microbiol.* v. 86, p. 313-24, 2002.
- DAMASCENO, D. C.; VOLPATO, T. C.; SARTORI, T.C.F. RODRIGUES, P. F.; PRIN, E. A.; CALDERON. I.M.P.; RUDGE, M.V.C. Effect of *Annona squamosa* extract on early pregnancy in rats. *Phytomedicine.* V. 9, p. 667-72, 2002.
- DEO, P.G.; SRIVASTAVA, H.D. Studies on the age resistance of chickens to *Ascaridia galli*: (Schrank), Freeborn. *Indian J. Vet.*, v.32, n.2, p.93-6, 1962.
- DIAS, B. S. F. **A implementação da convenções sobre diversidade biológica no Brasil: desafios e oportunidades**. Campinas: André Tosello, 1996. 10p.
- DIAS, N. O.; SOUZA, I.V.B. SILVA, J. C. G. *et al.* Desempenho vegetativo e reprodutivo da pinheira (*Annona squamosa*, L) em função de diferentes comprimentos de ramos podados. *Rev. Brás. Frutic.* Jaboticabal-SP, v.26, n.3, p. 389-91, 2004.
- ESHETU, Y.; MULUALEM, E.; IBRAHIM H.; BERHANU A.; ABERRA K. Study of gastro-intestinal helminths of scavenging chicken in four rural districts of Amahara region, Ethiopia. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* v. 20, n.3, p: 791-6, 2001.
- FERNANDES, M. Z. L. C. M.; FERNANDES, R. M.; MENDONÇA, I. L.; LOPES, J. B. Avaliação da atividade anti-helmíntica “*in vitro*” do extrato aquoso da *Himatanthus sucuuba* sobre helmintos de galinha caipira (*Gallus gallus domesticus*, L.). *Sem. Inic. Cient.UFPI*,10, anais, Teresina - Pi, p.09, 2001.
- FERNANDES, M. Z. de L. C. M.; FERNANDES, R. M.; LOPES, J. B. VIANA, G. E. N. Determinação da toxicidade aguda da *Simarouba versicolor* em camundongos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 06, n. 2, p: 44-47, 2004a.
- FERNANDES, M. Z. L. C. M.; Ensaio farmacológico da atividade anti-helmíntica “*in vitro*” de plantas sobre os nematóides *Ascaridia galli* (Schrank, 1788) Freeborn, 1923 e *Heterakis gallinarum* (Schrank, 1788) Madsen, 1949. 75p. (Dissertação em Farmacologia), Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrária, Teresina, 2004b.
- FERNANDES, R. M. Avaliação da atividade anti-helmíntica de plantas em frango de corte naturalmente infectados com *Ascaridia galli* (SCHRANK,1788) FREEBORN, 1923 e *Heterakis gallinarum* (SCHRANK,1788) MADSEN, 1949. 100p. (Tese em Parasitologia). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Veterinária, Seropédica-RJ, 1998.
- FERNANDES, R. M.; RODRIGUES, M. L. A.; BORBA, H. R.; FERNANDES, M. Z. L. C. M.; AMORIM, A. Ausência da atividade anti-helmíntica de plantas em frangos de corte naturalmente infectados com *Heterakis gallinarum* (Schrank,1788) Madsen,1949. *Ciência Rural*, v.34, n.5, p.1629-32, 2004c.

- FERNANDES, R. M.; RODRIGUES, M. L. A.; BORBA, H. R.; FERNANDES, M. Z. L. C. M.; AMORIM, A. Atividade anti-helmintica de plantas em frangos naturalmente infectados com *Ascaridia galli*. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v. 57, n. 02, p.264-266, 2005a.
- FERNANDES, T. M. Plantas Mediciniais: Memória da Ciência no Brasil. Ed. Fiocruz, Rio de Janeiro, 260p. 2004d.
- FERNANDES, T. M.; SANTOS, A T. F.; PIMENTA, F. C. Atividade antimicrobiana das plantas *Plathymenia reticulata*, *Hymanaea courbaril* e *Guazuma ulmifolia*. *Ver. Patol. Trop.* V. 34, n. 2, p. 113-22, 2005b.
- FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. Ed. Ícone, São Paulo, 4ª ed. 607p. 2004.
- FRANÇA, E. A.; FILHO, S.M.; FREITAS, J. B. S. Avaliação da germinação de sementes de batata- de- purga amarela em dois substratos e cinco condições ambientais. *Ciênc. Agrotec.*, Lavras, v. 26, n. 2, p. 232-6, 2002.
- FRANCO, E. A. P.; BARROS, R. F. M. Uso e diversidade de plantas medicinais no Quilombo Olho D'água do Pires, Esperantina, Piauí. *Rev. Bras. Pl. Méd.*,v. 08, n. 3, ,p. 78-88, 2006.
- FREIRE, S. M.; TORRES, L. M.; SOUCCAR, C.; LAPA, A. J. Sympathomimetic effects of *Scoparia dulcis* and catecholamines isolated from plant extracts. *J. of Pharm. And Pharmacol.* V. 48, p. 624-28, 1996.
- FRICK, L.P. e ACKERT, J.E. The role of duodenal mucus in age resistance. *J. Parasit.*, v.27, p.36-7, 1941.
- FRÓES, V.; ROCHA; A. **Como fazer sua farmácia caseira; Alquimia Vegetal**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Recorde: Nova Era, 2001p, 1998.
- FURTADO, S. K.; NEGRELLE, R. B.; MIGUEL, O.G.; ZANILO, S.R. Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no estado do paraná: testes “in vitro” e “in vivo”. 147p. Tese em agronomia, Universidade Federal do Paraná, 2006.
- GABRASHANSKA, M., DASKALOVA, A. OSSIKOWSKI, E. Comparative investigations on the microelement status of *Ascaridia galli* (Schrank, 1788; Freeborn, 1923) and its host *Gallus gallus*. – *Helminthologia*, v.24, p. 209-14, 1987.
- GABRASHANSKA, M.; TEODOROVA S. E; MITOV, M. The effect of cobalt compounds on uninfected and *Ascaridia galli*-infected chickens: a kinetic model for *Ascaridia galli* populations and chicken growth. *J. Helminthol.* v.76, n.4, p. 303-10. 2002.
- GARCIA-ARGÁEZ, A.; PÉREZ-AMADOR, M.C. Distribution in the plant of glycoresins and ergoline alkaloids in three species of *Ipomoea* (Convolvulaceae). *Int J Exp Bot.*, v.60, n.1-2, p.73-76, 1997.
- GAULY, M.; BAUER, C.; PREISINGER, R.; ERHARDT, G. Genetic differences of *Ascaridia galli* egg output laying hens following a single dose infection. *Vet. Parasitol.* V. 103, n. 1-2, p. 99-107, 2002.

- GIANG, P. M.; TONG SON, P. MARTSUNAMI, K.; OTSUKA, H. Chemical and biological evaluation on scopadulane- type diterpenoids from *Scoparia dulcis* of Vietnamese origin. *Chem. Pharm. Bull.* V. 54, n. 4, p. 546 -9, 2006.
- GOSH, P. C.; LARRAHONDO, J. E.; LeQUESNE, P. W.; RAUFFAUF, R.F. Antitumor Plants. IV. Constituents of *Simarouba versicolor*. *Lloydia*, v.40, p.364, 1977.
- GREINAND, P.; MORETTI, C.; JACQUEMIN, H. Pharmacopées Traditionnelles en Guyane. Editons de Portom. **Collection Memories**, 108: Paris, p 307-405, 1987.
- GRIEVE, M. A. **Modern Herbal**. Online. Disponível em: [www.botanical.com/botanical/mgm/s/simaru.50.html](http://www.botanical.com/botanical/mgm/s/simaru.50.html). Acesso: 13/09/2002.
- GOTTLIEB, O.R.; BORIN, M.R.M. Natural products research in Brasil. **Ciência e Cultura** 49, 315-320, 1997.
- GOTTLIEB, O.R.; BORIN, M.R.M. Quantitative Chemobiology. *Pure & Appl.Chem.* V. 73, p. 583-8, 2001.
- GUPTA, R. K.; KESARI, A. N.; GEETA, W. MURPHY, P. S.; RAMESH, C. KAPIL, M.; VIBHA, T. . Hipoglycaemic and antidiabetic effect of aqueous extract of leaves of *Annona squamosa* (L.) in experimental animal. *Rev. Curr. Sci.* v. 88, n. 8, p. 1244-54, 2005a.
- GUPTA, S; SANYAL, S. N. DUGGAL, C. L. Study of the acetylcholinesterase activity of *Ascaridia galli*: kinetic properties and the effect of anthelmintics. *Acta Vet Hung.* V. 39, n. 3-4, p. 165-74, 2005b.
- GUSMAN, R.; ARAQUE, M.; GUIJARRO, G. Caracterizacion del anon (*Annona squamosa*) y su industrializacion a pequena escala. **Frutas Tropicales**. Boletim informativo, n.6, p.23-26, 1985.
- HALL, I.L.; LEE, K.H.; IMAKURA, Y.; OKANO, M.; JOHNSON, A.; “Antiinflammatory agents III. Structure-activity relationships of brusatol and related quassinoids”, *J. Pharm. Sci.* v. 72, p.1282-1284, 1983
- HAMMOND, J.A., FIELDING, D. e BISHOP, S.C. Prospects for plant anthelmintics in tropical veterinary medicine. *Vet. Res. Communicat.* v. 21, p.213-228. 1997.
- HAYASHI, T.; KISHI, M. KAWASAKI, M. ARISAWA, M.; MORITA, N. The crystal structure of scopadulcic acid a from Paraguayan crude drug “typychá kuratú” (*Scoparia dulcis*). *J. Nat. Prod.*, v. 51, n. 2, p. 360-3, 1988.
- HAYASHI, T.; GOTOH, K.; KASAHARA, K. Production od scopaduciol by cultured tisúes of *Scoparia dulcis*. *Phytochemistry.* V. 41, n. 1, p. 193-6, 1996.
- HOPP, D. C.; ZENG, L.; GU, Z.; McLAUGHLIN, J. L. Squamosin: An annonaceous with citotoxic selectivity for the human prostate tumor cell line (PC-3). *J. Nat. Prod.* V. 59, n. 2, p. 97-9, 1996.

- IDI, A.; PERMIN, A.; MURREL, K. D. Host age only partially affects resistance to primary and secondary infections with *Ascaridia galli* (Schrank, 1788) in chickens. v. 122, n. 3, p. 221-31, 2004.
- INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/index.php> Acessado em 12/10/2007
- KALEYSA RAJ, R. Screening of indigenous plants for anthelmintic action against human *Ascaris lumbricoides* Part II. *Indian J. Physiol. Pharmacol.*, v. 19, n. 1, p. 47-49, 1975.
- KHWAJA, N.; BHARGAVA, K. P.; KISHOR, K. Neurotransmitters in *Ascaridia galli*. *Ind. J. Pharmac.* V. 5, n. 2, p. 346-8, 1973.
- LATHA, M; PARI, L. Effect of an aqueous extract of *Scoparia dulcis* on blood glucose, plasma insulin and some polyol pathway enzymes in experimental rat diabetes. *Braz. J Med. Biol. Res.* V.;37, n. 4, p. 577-86, 2004.
- LEVINE, N.D. **Nematode Parasites of Domestic Animals and of Man.**, Ed. Library of Congress Catalog, USA, 477 p. 1980.
- LI, X. H. ; HUI, Y. H.; RUPPRECHT, J. K.; LIU, U. M.; WOOD, K. V.; SMITH, D. L.; CHANG, C. J.; McLAUGHLIN, J. L. Bullatacin, baullatacione, squamone, a new bioactive acetogenin, from the bark of *Annona squamosa*. *J. Nat.Produc* . v. 53, n. 1, p. 81-6, 1990.
- LI, Y.; CHEN, X.; SATAKE, M.; OSHIMA, Y.; OHIZUMI, Y. Acetylated Flavonoid Glycosides Potentiating NGF acion from *Scoparia dulcis*. *J. Nat. Prod.* V. 67, p. 725-7, 2004.
- LIMA, E. D. P.; PASTORE, G. M.; LIMA, C. A. A. L. Extração e atividade da enzima polifenoloxidase em diferentes partes da pinha (*Annona squamosa*, L) nos estádios de maturação verde e maduro. *Agop. Técn.*v. 22, n. 1-2, p. 33-43, 2001.
- LOBÃO, A. Q.; ARAÚJO, D.S.D.; KURTZ, B.C. Annonaceas das restingas do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rodrigésia*. V. 56, n. 87, p. 85-96, 2005.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras:** manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1992. 352p.
- LORENZI, H; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: Nativas e exóticas.** Instituto Plantarum. Nova Odessa-SP, 2002. 544p.
- MAAS, P.J.M.; KAMER, L.; JUNIKKA, R.; MELLO-SILVA; RAINER, H. Annonaceae of eastern and south-eastern Brazil (Bahia, Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso São Paulo e Rio de Janeiro). *Rodrigésia* v. 52, n.80, p. 61-94, 2002.
- MAGWISHA, H. B.; KASSAKU, A. A.; KYVSGAARD, N. C.; PERMIN, A. A comparison of the prevalence and burden of helminth infections in grower and adult free-range chickens. *Trop. Anim. Health Prod.* v. 34, n.3, p. 205-14, 2002.
- MARINHO, M.L.; ALVES, M.S.; RODRIGUES, M.L.C.; ROTONDANO, T.E.F.; VIDAL, I.F.; SILVA, W.W.; ATHAYDE, A.C.R. A utilização de plantas medicinais em

- medicina veterinária: um resgate do saber popular. *Rev. Bras. Pl. Med.*, v.9, n.3, p.64-69, 2007.
- MATOS, F.J.A. **Farmácias vivas**. 2ª.ed.rev. Fortaleza:EUFC, 1994. 180p.
  - MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil**. 2ª edição Imprensa Universitária – UFC, Fortaleza-Ce. 346p. 2000.
  - MATOS, F.J.A.**Plantas Medicinais: Guia de seleção e emprego de plantas usadas no Nordeste do Brasil**. Imp. Universitária? Edições UFC, Fortaleza-CE, 2002. 344p.
  - MENESES, R. C.; TORTELLY, R.; GOMES, D. C.; PINTO, R. M. Nodular Typhlitis Associated with the Nematodes *Heterakis gallinarum* and *Heterakis isolonche* in Pheasants: Frequency and Pathology with Evidence of Neoplasia. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. v. 98, n. 8, p. 1011-6, 2003.
  - MESSÍIA-VELA, S.; BIELAVSK, M.; TORRES; L.C.M.; FREIRE, S. M.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; SOUCCAR, C.; LAPA, A. J. “*in vivo*” inhibition of gastric secretion by aqueous extract of *Scorparia dulcis*, L. in rodents. *J. Ethnopharmacol.* v. 111, p. 403-8, 2007.
  - MESQUITA, A. G. **Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste do Brasil: *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae)**. Dissertação em Química Orgânica), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – CE, 119p. 1997.
  - MICHELIN D. C.; SALGADO H. R. N. Avaliação da atividade laxante de *Operculina macrocarpa* L. Urban (Convolvulaceae). *Rev Bras Farmacogn* v.14, p. 105-9. 2004.
  - MICHELIN, D. C. Caracterização fitoquímica e ensaios biológicos de *Operculina macrocarpa* (L) Urb. (Convolvulaceae). *Cad. de Farm.*, v. 21, n. 1, p.53, 2005.
  - MILLER. A.R. Como controlar los nematodos. *Agricult. de las Amer.*Caracas, Venezuela, v. 26, n.4, p.28-32, 1977.
  - MORAN JR., J. F.; MIZELLE J. D. Studies on *Ascaridia galli* (Schrank, 1758). *American Midland Naturalist*, v. 58, n.. 1, p. 170-81, 1957.
  - MORITA, H.; IIZUKA, T.; CHOO, C.; CHAN, K.; TAKEYA, K.; KOBAYASHI, J. I. Vasorelaxant activity of cyclic peptide, cyclosquamosin B, from *Annona squamosa*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* V. 16, p. 4609-11, 2006.
  - MORS, W. B.; RIZZINI, C. T.; PEREIRA, N. A. Medicinal Plants from Brasil : Michigan, Refences Publications. p.272, 2000.
  - MUKHLESUR RAHMAN, M.; PARVIN, S. EKHRAMUL HAQUE; M. EKHRAMUL ISLAM, M.; MOSADDIK, M. A. Antimicrobial and cytotoxic constituents from the seeds of *Annona squamosa*. *Fitoterapia*. V.76, p. 484-9, 2005.
  - NOGUEIRA RT, SHEPHERD GJ, LAVERDE JR A, MARSAIOLI AJ, IAMAMURA PM. Clerodane-type diterpenes from the seed pods of *Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa*. *Phytochemistry* v. 58, p. 1153-7, 2001.

- OLIVEIRA, R.A.G.; SILVA, M.S.H. **Plantas medicinais na atenção primária à saúde**. João Pessoa: UFPB, 1994. 64p.
- OLIVEIRA, S. M.; SPÓSITO FILHA, E.; FELICIO, J.D.; ROSSI, M.H.; GONÇALEZ, E. Avaliação da Eficácia do Extrato Aquoso de Frutos de *Annona squamosa* Sobre Ovos e Larvas de Nematódeos Gastrintestinais Parasitas de Ruminantes. *Arq.Inst.Biol.*, São Paulo, v.67 (supl.), p.1-145, 2000.
- O'NEILL, M. J.; BRAY, D. H.; BOARDMAN, P.; WRIGTH, C.W; PHILLIPSON, J.D.; WARHURST, D. C.; GUPTA, M. P.; CORREYA, M.; SOLIS, P. Plants as source of antimalarial drugs, Part 6: Activites of *Simarouba amara* fruits. *Ethnopharmacol.*v.22, p.1983-90, 1988.
- PANKAVICH, J.A.; POESCHEL, G.P.; SHOR, A.L. & GALLO, A. Evaluation of Levamisole against experimental infections of *Ascaridia*, *Heterakis* and *Capillaria* spp. in chickens. *Am. J. Vet. Res.*, v. 34, n. 4, p. 501-5. 1973.
- PARDHASARADHI, B. V. V. REDDY, M.; MUBARAK ALI, A.; KUMARI LEELA, A. KHAR, A. Differential cytotoxic effects of *Annona squamosa* seed extract on tumour cell lines: Role of reactive oxygen species and glutathione. *J. Biosci* v. 30, n. 2, p. 237-44, 2005.
- PAVLICEK, J. & DIKOVÁ, I. Experimental infection with *Ascaridia galli* in young chickens of different age. *Acta Vet. BRNO*, v. 44. p.223-33, 1975.
- PLANCHON L, BRETIN, P. **Précis de matière médicale**. Paris: Librairie Maloine, p.1224-35, 1937.
- PEREDA-MIRANDA, R.; BAH, M. Biodynamic constituents in the Mexican morning glories: purgative remedies transcending boundaries. *Curr. Top. Med. Chem.*, v.3, n.2, p.111-131, 2003.
- PEREZ, A.; ZALDIVAR, L.; SZCYPEL, B. e OVIES, D. Accion de diferentes temperatura, humedades relativas y la radiación solar sobre el desarrollo exógeno de los huevos de *Heterakis gallinarum* en condiciones experimentales. *Rev. Avicul*, Santiago, Chile,v. 25, n. 9, p. 9-13. 1981.
- PERMIN, A.; BOJESEN, M.; NANSEN, P.; BISGAARD; M; FRANDSEN; F.; PEARMAN, M. *Ascaridia galli* populations in chickens following single infections with differet dose levels. *Parasitol. Res.* V. 83, p. 614-7. 1997.
- PERMIN, A. BISGARD, M; FRANDSEN, F.; PEARMAN, M.; KOLD, J.; NANSEN, P.. Prevalency of gastrointestinal helminths in diferent poultry production systems. *Bras. Poultry Science*, v.40, n.4, p. 439-43.1999.
- PERMIN, A.; HANVIG, H. Genetic resistance to *Ascaridia galli* in chickens. *Vet. Parasitol.* V. 102, n. 1-2, p. 101-11, 2001.
- PERMIN, A.; ESMAN, J. B.; HOJ, C. H.; HOVE, T.; MUKARAIRWAL, S. Ecto-, endo-, and haemoparasites in free-range chickens in the Goromonzi District in Zinabwwe. *Prevent. Vet. Med.* v.54, n.3, p.213-24, 2002a.

- PERMIN, A.; BAUER, C.; PREISINGER, R.; ERHARDT, G. Genetic differences of *Ascaridia galli* egg output in laying hens following a single dose infection. *Vet. Parasitol.* V. 103, n. 1-2, p. 99-107, 2002b.
- PIO CORRÊA, M. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas.** Min. da Agricultura. IBDF, Vol. I - 747 p.,1984.
- PIRES, J. E. P.; FERNANDES, M. Z. L. C. M.; FERNANDES, R. M.; VIANA, G. E. N.; DOURADO, J. C. L.; SOUSA, S. A. A. Determinação da concentração inibitória média (CL<sub>50</sub>) do extrato aquoso da *Simarouba versicolor*, St. Hill sobre a ovipostura do carrapato bovino (*Boophilus microplus*, Canestrini, 1887). *Rev. Bras. Pl. Med.*, v. 9, n. 04, p. 23-6, 2007.
- PLACHON, L.; BRETIN, P. **Precis de matierié médicale.** Paris, Librairie Maloine, p. 1224-35, 1937.
- PONTES, A. F.; BARBOSA, M.R. V.; MAAS, P. J. M. Flora Paraibana: Annonáceae Juss. *Act. Bot. Brasilica.* V. 18, n. 2, p. 281-93, 2004.
- RAMOS, P. H.; Cultura da Graviroleira (*Annona muricata*, L.), p. 127-57. In: DONÁDIO, L. C. **Fruticultura Tropical.** Ed. Martins, A. B. G. & VALENTE, I. P. Jaboticabal – SP, 1992.
- RATNASOORIYA, W. D.; JAYAKODY, J. R. A. C.; PREMAKUMARA, G. A. S.; EDIRIWEERA, E. R. H. S. S. Antioxidant activity of water extract of *Scoparia dulcis*. *Fitoterapia.* V. 76, p. 220-2, 2005.
- RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. *Toxicon*, v. 39, p. 603-13, 2001.
- REINEMAYER, C. R.; COURTNEY, C. H. Quimioterapia das doenças parasitárias. IN: **Farmacologia e terapêutica veterinária.** 8ª Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ, p.791-818, 2003.
- RIM, H. J.; KIM, K.S.; SEONG, S.H; RHEE, S.D.; ON, B. J.; LEE, H.K. Metabolism of C (14) – glucose by *Ascaridia galli*. *Korean J.Parasitol.* v.3, n.3, p.107-111, 1965.
- ROBBERTS, J. E.; SPEEDIE M. K.; TYLER V. E. Terpenóides IN: *Farmacognosia e Farmacobiotechnologia.* Williams & Wilkins. Baltimore, MA - USA, 1997.
- RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande - Minas Gerais. *Ciênc. Agrotec Lavras*, MG, v. 25, p. 102-23, 2001.
- SANTOS, H. P. PURGATO, E.; MERCIER, H.; BUCKERIDGE, M. S. The control of storage xyloglucan mobilization in cotyledons of *Hymenaea courbaril*. *Plant. Physiology.* V. 135, p. 287-99, 2004a.
- SANTOS, A.F. PSANTANA, A. E. G.; ABREU, F.C. *Annona crassiflora* e o seu Potencial no Combate à Esquistossomose. Anais do XVIII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Manaus-AM, p. 51, 2004b.

- SAUNDERS, L.M.; TOMPKINS, D.M. e HUDSON, P.J. The role of oxygen availability in the embrionation of *Heterakis gallinarum* eggs. *Intern. J. Parasitol.* v.30, p.1481-5, 2000.
- SCHENKEL, E.P.; SIMÕES, C.M.O.; MENGUE, S.; MENTZ, L. A.; IRGANG, B.E.; STEHMANN, J.R. O espaço das plantas medicinais e suas formas derivadas na medicina científica. **Caderno de Farmácia** 1: 65-72, 1985.
- SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS / Editora da UFSC, Capítulo15. p.301-332. 2001.
- SCHOU, T.; PERMIN, A.; ROEPSTORFF, A.; SORENSEN P.; KJÆR, J. Comparative genetic resistance to *Ascaridia galli* infections of 4 different commercial layer-lines. *Brit. Poul. Scien.* V. 44, n. 2, p. 182–15, 2003.
- SEARS, C. The easy way to sell drugs. *New Scientist*, Nov.1995.
- SHARMA, R. K.; SINGH, K.; SAXENA, K. K. The effect of piperazine adipate and parabendazole on the carbohydrate metabolism of *Ascaridia galli* and *Heterakis gallinae*. *Angew Parasitol* V. 28, n. 4, p.207-10. 1987a.
- SHILASKAR, D.V. & PARASAR, G.C. “*in vivo*” and kymographic studies on *Psoralea corylifolia* and piper betle against avian *Ascaridia galli*. *Indian Vet. J.*, v. 62, p.387-94. 1985.
- SHILASKAR, D.V. & PARASAR, G.C. Evaluation of indigenous anthelmintics. *Indian J. Indg. Med.*, v. 6, p.49-53, 1989.
- SHIVAKUMAR, A.M.; CHANDRA, S. & SABIR, M.. Studies on the anthelmintic actions of mebendazole against *Ascaridia galli*. *Indian Vet. J.*, v. 52, p. 136-142, 1975.
- SIMÕES, C.M.O. MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN, J. R. *Plantas da Medicina Popular no Rio Grande do Sul*. Porto Alegre. Editora Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 174 p. 1986.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5<sup>a</sup>.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS / Editora da UFSC, 2003. 1102p.
- SIMOTE, S. Y.; Estudo Fitoquímico de *Helietta puberula* (Rutaceae), *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae) e Busca de um Processo de Microencapsulação de Compostos Ativos, Visando o Controle de Formigas Cortadeiras. 2006.232p. (Tese em Química) Universidade federal de São Carlos, São Carlos – SP, 2006.
- SOERJATO, D.D. Biodiversity prospecting and beneficist sharing: perspective from field. *J. Ethnopharmacol.* V. 51, p. 1-15, 1996.
- SOULSBY, E.J.L. **Parasitologia y Enfermades Parasitarias en los Animales Domesticos**. Interamericana, México, 823 p. 1987.

- SOUZA JR, I.M., BATISTA NETO, R. e MENESES, R. S. Levantamento de parasitos ocorrentes em "galinhas caipiras" *Gallus gallus domesticus* em dois Municípios do Estado da Bahia. In: SEM. BRASIL. PARASITOL. VET.10; I SEM. PARASITOL. PAÍSES MERCONSUL, Itapema, SC, 1997 IN: *Rev. Brás. Parasitol. Vet.* v. 06 (supl.), p. H-102, 1997.
- SOUZA, M. M. C.; LEITE, A. K. M. COSTA, C. T. C.; SILVA, A. R. A.; BEVILAQUA, C. M. L. PINHEIRO, D. C. S. N.; MORAIS, S. M.; CABRA, C. Avaliação da toxicidade do extrato acetato de etila de *Annona squamosa* em camundongos *Ciência Animal*, v. 13, n.2, p.:99-105, 2003.
- SOUSA, M. P.; MATOS, M. E. O.; MATOS, F. J. A. MACHADO, M.I.L. CRAVEIRO, A.A. **Constituintes químicos de plantas medicinais brasileiras**, Impr. Universitária/UFC, Fortaleza-CE. 416p., 1991
- STATISCAL ANALYSIS SYSTEM, SAS System for linear models *Cary*. SAS Institute, 211p, 1986.
- STEWARD, J.S. Anthelmintic studies: I. A controlled critical entero-nemacidal test. *Parasitology*, v. 45, p. 231-41, 1955.
- TINÉ, M. A. S. O conteúdo informacional da molécula de xiloglucano de cotilédones de *Hymenaea courbaril* reflete sua função em nível celular. Disponível em: [www.biotaneotropica.org.br](http://www.biotaneotropica.org.br). Acessado em: 17.07.2007.
- THAMSBORG, S. M.; ROEPSTORFF & LARSEN, M. Integrated and biological control of parasites in organic and convencional production systems. *Veterinary Parasitology*, v. 84, n.3/4, p.169-86,1999.
- TONGSON, M.S. & MCGRAW, B.M. Experimental ascaridiasis: Influence of chicken age and infective egg dose on struture of *Ascaridia galli* populations. *Experimental Parasitology*, v. 21, p.160-72, 1967.
- TSOICHEVA-GAYTANDZHIEVA, N. T., GABRASHANSKA, M. P., GALVEZ-MORROS, M. M. TEODOROVA, S. E., MITOV, M. I., TEPAVITCHAROVA, S. S., GALVEZ MARTOS, J. L. Trace element content in *Ascaridia galli* infected chicks under triple basic salt treatment *Expetrimet. Pathol. And Parasitol.* v. 6, n. 12, p. 24-9, 2003.
- URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; DUNN, A. M.; JENNINGS, J.W. **Parasitologia Veterinária**, 2ª edição, Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro-RJ, 1998. 273p.
- VATNE, R.D. Aspects of the biology of *Heterakis gallinarum* (nematoda) in chincken and their host-parasite relations. *Dissertation Abstract*, v. 24, n. 4, p.1767-8, 1963.
- VIEIRA, I. J. C. *Uma contribuição à química da família Simaroubaceae*. 1995 (Tese em Química), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos – SP, 1995
- WALL, M. E.; WANI, M. C. Camphothecin and taxol: from discovery to clinic. *J. Ethnopharmacol.* V. 51, p. 239-54, 1996.

- WILLIS, H.H. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. In: UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 3<sup>a</sup> ed., Japan international cooperation Agency, Tkyo, Japan, p.14, 1994.
- WILSON, K.I. Yazwinski, T. A.; Tucker, C. A.; Johnson, Z. B. A survey into prevalence of poultry helminthes in northwest Arkansas commercial broiler chickens. *Avian Dis.* v. 38, p. 158-60, 1994.
- WRIGTH, K. A. Labial sense organs of the nematode, *Heterakis gallinarum*. *J. Parasitol.* V. 63, n. 3, p. 528-39, 1977.