

## AÇÃO ANTI-HELMÍNTICA DA PUNICA GRANATUM (ROMÃ)

F. N. A. CARMO<sup>1</sup>, A. J. D. MEDEIROS<sup>2</sup>, F. A. T. SILVA, R. A. MEDEIROS; S. A. M. M. DIAS e K. M. FEITOSA  
E-mail: francisca.carmo@ifrn.edu.br<sup>1</sup>; ana.medeiros@ifrn.edu.br

### RESUMO

O parasitismo por nematoides gastrointestinais provoca muitas perdas econômicas para os produtores de ovinos. O tratamento mais comumente usado é a administração de produtos químicos, havendo a possibilidade do surgimento de resistência parasitária. A fitoterapia vem sendo usada como alternativa no controle das parasitoses em ovinos. O objetivo desse trabalho foi verificar o potencial ação anti-helmíntica in vitro do extrato de romã contra endoparasitas gastrointestinais. O experimento foi conduzido no laboratório do IFRN. Após coletadas as frutas, foram processadas em triturador e armazenadas em recipiente de vidro, As amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal em ovino do rebanho do IFRN Câmpus Ipanguaçu infectadas naturalmente por helmintos gastrointestinais. Foram utilizadas placas de 24 poços, em 6 repetições por grupo,

de acordo com protocolo de CHAGAS, A. C. S (2011). Utilizamos 7 grupos experimentais, sendo um controle negativo, com água destilada; um controle positivo com anti-helmíntico oxicida e 5 grupos do extrato aquoso de Punica granatum L, O maior percentual de inibição de eclosão de ovos foi obtido na diluição de 12% onde em total de 87 ovos 64% foram inibidos próximo do valor referente ao controle positivo onde foi utilizado um oxicida comercial. Os resultados obtidos neste estudo sugerem que o extrato aquoso da casca da Punica granatum– Romã foi eficaz no tratamento in vitro do nematoide gastrointestinal Hamonchus contortus. Novos experimentos devem ser realizados, para que sejam investigados outras diluições e compostos ativos e assim viabilizar uma melhor aplicação pelo produtor rural.

**PALAVRAS-CHAVE:** Parasitismo, fitoterapia, extrato, Romã

## ACTION OF ANTHELMINTIC PUNISHMENT (POMEGRANATE)

### ABSTRACT

The gastrointestinal nematode parasitism by many causes economic losses to sheep producers. The most commonly used treatment is the administration of chemicals, with the possibility of the emergence of parasite resistance. The herbal medicine has been used as an alternative in the control of parasites in sheep. The aim of this study was to investigate the potential anthelmintic action in vitro of pomegranate extract against gastrointestinal endoparasites. The experiment was conducted in the laboratory of IFRN. After collected the fruits were processed in crusher and stored in glass containers, Fecal samples were collected directly from the rectum in sheep of the flock IFRN Campus Ipanguaçu naturally infected by gastrointestinal helminths. We used 24-well plates in six replicates per group, according to

protocol Chagas, A. C. S (2011). We used seven experimental groups, with a negative control, distilled water, a positive control with anthelmintic and oxicidal 5 groups of aqueous extract of Punica granatum L, the highest percentage inhibition of hatching eggs was obtained at a dilution of 12% where in total of 87 eggs were inhibited 64% close to the value for the positive control where we used a commercial oxicidal. The results of this study suggest that the aqueous extract from the bark of Punica granatum-Rome was effective in vitro treatment of gastrointestinal nematode Hamonchuscontortus. Further experiments should be performed, to be investigated further dilutions and active compounds and thus enable a better application by farmers.

**KEYWORDS:** Parasitism, herbal extract, pomegranate

## 1 INTRODUÇÃO

A caprinocultura é uma atividade largamente explorada nos países tropicais, visando a produção sustentada de carne, leite e peles. O interesse pela exploração de caprinos e ovinos vem aumentando nos países edesenvolvidos, onde o uso de tecnologias, com o objetivo de aumentar a produção já é significativo (VIEIRA et. al.,2003).

As parasitoses ocupam lugar de destaque como causas de perda de produtividade, causando atraso de crescimento e mortalidade dos animais. Esses parasitas gastrointestinais de ovinos e caprinos causam enormes prejuízos aos criadores, tendo como principais: redução na produção de carne, leite e lã e para o animal anemia, diarreia, anorexia e morte súbita.

Os gastos com tratamentos anti-helmínticos utilizados em ruminantes no Brasil giram em torno de 1,4 bilhões de reais/ano (VIEIRA et. al., 2003).

Atualmente busca-se formas opcionais de controle parasitário que não sejam métodos químicos, tendo como base o uso de fitoterápicos. Dentro desse contexto, o uso da romã tem sido relatado em literatura e no conhecimento popular como eficiente recurso no combate as verminoses.

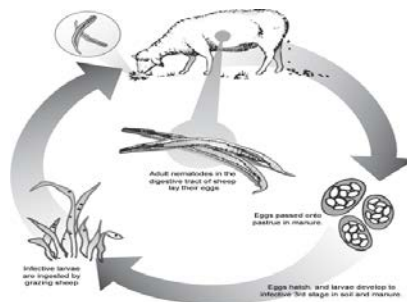
Diversos vegetais têm sido usados, na forma de chás ou infusões, com fins profiláticos e curativos de infecções e infestações. *Punica granatum*L originaria da Ásia e espalhada em toda a região do Mediterrâneo e cultivada em quase todo o mundo, inclusive no Brasil. Já se conhece atividade das cascas do caule e da raiz desta planta contra vermes chatos como a solitária, diarreia crônica e disenteria amebiana, cuja ação é justificada pela presença do alcaloide isopeletierina e seus análogos (LORENZI, 2002).

O objetivo desse trabalho foi verificar o potencial ação-anti-helmíntica in- vitro do extrato de romã contra endoparasitas gastrointestinais. Essa pesquisa se justifica pelo fato de não serem adotados, pelos pequenos produtores, técnicas fitoterápicas de controle a verminoses em caprinos por meio de plantas medicinais.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

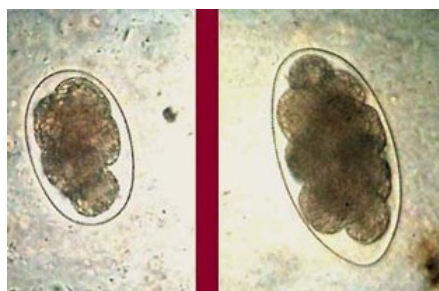
Em condições naturais, antes da domesticação, o equilíbrio entre parasita e hospedeiro permitia a tolerância dos animais a essa enfermidade. Com a domesticação, e conseqüentemente o aumento no numero de animais por área, alterou-se esse equilíbrio, em favor dos parasitas fazendo com que o principal problema sanitário dos rebanhos ovinos e caprinos seja verminose (XAVIER, 2005).

As helmitoses de caprinos são causadas por parasitoses pertencentes às classes Nematoda, Cestodas e Trematodas, tendo como os principais gêneros parasitas: o *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Strongyloides*, *Moniezia*, *Cooperia*, *O esophagostomum*, *Skrjabimema*, *Trichuris* e *Cysticercus* (ATHYDE et al.,1996). (ATHAYDE et al., 2005).



**Figura 01: Ciclo do Haemonchus contortus (Fonte: www.basonevoice.org)**

O desenvolvimento do parasita começa a partir do ovo, este apresenta 3 camadas: uma membrana interna fina e impermeável e que apresenta características lipídicas, uma camada média quitinosa, com ferindo rigidez ao ovo; uma camada externa constituída de proteína, muito densa e viscosa ( URQUHART, et al., 1996)



**Figura 02: Imagem do ovo do Hamonchus contortus (Fonte: www.studyblue.com)**

A Romã, que é rica em diversos polifenóis, foi usada durante séculos em culturas antigas por suas propriedades medicinais. É um arbusto ou pequena árvore nativa da Ásia e tem sido usada como adstringente, hemostática, antidiabética, anti-helmíntica e antidiarréica. Os benefícios à saúde são atribuídos a sua diversidade fitoquímica. O extrato contém antioxidantes únicos que protegem as células endoteliais contra o dano oxidativo.. A fitoterapia e a homeopatia no controle de verminoses são alternativas que poderão reduzir o custo com a aquisição de anti-helmínticos bem como prolongar o aparecimento de resistência anti-helmíntica. Muitas plantas são, tradicionalmente, conhecidas como possuidoras de atividade anti-helmíntica, necessitando entretanto, que suas eficácias sejam cientificamente comprovadas (VIEIRA et. al., 2003).

A droga, para ser considerada como anti-helmíntico eficiente, precisa ter a propriedade de penetrar na cutícula do verme ou, então, ganhar o interior de seu trato alimentar. A forma de ação ocorre por narcose ou paralisia do verme, ou então ao lesar a sua cutícula, o que acarretaria digestão parcial ou rejeição do verme por mecanismos imunológicos (RANG, et al., 2011).

Nas populações de helmintos gastrointestinais, existem indivíduos que são mais resistentes que outros á ação de medicamentos específicos, sendo que a utilização de um determinado produto, por um período prolongado, tende a criar uma pressão seletiva no sentido de aumentar a quantidade de helmintos resistentes (MATTOS ,et. al., 2008).

Segundo Vieira, et al.(2003), a resistência é o aumento significativo no número de indivíduos, em uma população, capaz de suportar doses de um composto químico que tenha

provado ser letal à maioria de uma população normalmente sensível a futuras exposições a uma droga pode ser transmitida aos seus descendentes.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Local de análises

O experimento foi conduzido no laboratório do IFRN e apoio do laboratório de Parasitologia Molecular da UFERSA e do laboratório de Química da UERN.

#### 3.2 Obtenção dos Extratos

Amostras da *Punica granatum L.* foram obtidas junto a comunidade na cidade de Assú, Rio Grande do Norte. Após coletadas as frutas será trazidas para o laboratório da UERN Mossoró, onde foi desidratadas em estufa durante 48 horas a 40°C, processadas em triturador e armazenadas em recipiente de vidro com tampa até o momento da preparação dos extratos.

#### 3.3 Obtenção das amostras fecais

As amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal de um Ovino do rebanho do IFRN Câmpus Ipanguaçu infectadas naturalmente por helmintos gastrointestinais, sendo as fezes acondicionadas em sacos plásticos bem lacrados e identificados encaminhadas ao laboratório de Saúde Animal do IFRN.



Figura 03: Coleta das fezes (fonte: Próprio autor)

#### 3.4 Contagem de ovos de helmintos por gramas de fezes ( OPG )

Primeiramente aferido o peso das amostras fecais em torno de 4g, em seguida trituradas num gral com auxílio de um bastão de vidro, logo após colocada em recipientes plásticos em contato com solução salina para facilitar a submersão do ovo do helminto, em seguida passa por uma peneira comum para separar o resíduo da solução. O próximo passo foi colocar amostra de ovos em um recipiente acrescentar a solução hipersaturada de cloreto de sódio, aguardar 5 minutos para a flutuação dos ovos e observar nas câmaras McMaster ao microscópio com o aumento de 10 e 20 x e indicar o grau de infecção do hospedeiro.

### 3.5 Processamento das Fezes

Recuperação dos ovos de Nematoides gastrointestinais. Foi coletado fezes diretamente da ampola retal dos animais infectados naturalmente que apresentaram OPG assim de 2.000 ovos. Após a primeira centrifugação foi descartado o sobrenadante, completado com solução saturada para que houvesse a suspensão dos ovos e centrifugados novamente. O conteúdo do sobrenadante foi filtrado na ultima peneira lavado mais uma vez com água destilada e o liquido colocado em cálice para decantação, deixado em repouso por 30 minutos em temperatura ambiente. Após 30 minutos difundiu-se a suspensão de ovos pipetando a quantidade de 100µl de ovos em uma lamina limpa e seca verificou-se na referida se havia na referida lamina a quantidade aproximadamente de 50 ovos.

### 3.6 Teste de Eficácia

#### 3.6.1 Teste de eclodibilidade

Foram utilizadas placas de 24 poços, em 6 repetições por grupo, de acordo com protocolo de CHAGAS, A. C. S (2011). Utilizamos 7 grupos experimentais, sendo um controle negativo, com água destilada; um controle positivo com anti-helmíntico ovicida e 5 grupos do extrato aquoso de *Punica granatum L*, sendo o extrato a 20%, nas diluições 12%, 6%, 3%, 1,5%, 0,75%. Para realização do teste, foram utilizadas alíquotas de 250µl de ovos, provenientes da amostra fecal, para cada poço da placa de 24 poços, utilizou-se volume variável da solução a ser testada, em 6 repetições por grupo. As placas foram mantidas a temperatura ambiente nas primeiras 24 horas, depois foi acrescentada lugol para estacionar o desenvolvimento do ovo nos dias seguintes foram acondicionados sobre refrigeração, no laboratório de Fitosanidade Campus IFRN Ipangaçu.



Figura 04: Preparação da placa para o teste de eclodibilidade.



Figura 05: Material para o teste de eclodibilidade. Em destaque os vidros com extrato da romã.

### 3.6.2 Análise estatística

Avaliamos o percentual de atividade do extrato de acordo com o número de ovos que não eclodiram para cada tratamento. Os dados obtidos foram submetidos aos testes de desvio padrão.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A ação ovicida do extrato aquoso da *Punica granatum* após 24 horas de exposição pode ser verificada na tabela 03. Observa-se diferenças de ação entre as diluições 0,75 %, 1,5%, 3%, 6%, 12%. O maior percentual de inibição de eclosão de ovos foi obtido na diluição de 12% onde em total de 87 ovos 64% foram inibidos próximo do valor referente ao controle positivo onde foi utilizado um ovicida comercial. Ao verificar a tabela 04, os outros tratamentos obtiveram os valores 0,75% 32,61%, 1,5% 59,00%, 3% 61,02%, 6% 44,37% C+ 63,16% , C- 20,73%.

Tabela 02: Total de ovos e quantidade de larvas que eclodiram e que foram inibidas.

Diluições	Total de Ovos	LE	LI
0,75%	15	67,39%	32,61%
1,5%	82	41,0%	59,00%
3%	108	38,98	61,02%
6%	79	55,63%	44,37%
12%	87	35,63%	64,37%
C+	84	36,84%	63,16%
C-	72	79,27%	20,73%

LE: Larvas eclodidas LI: Larvas inibidas

Da verificação dos valores encontrados percebeu-se que das concentrações a melhor eficácia foi obtida na concentração de 12% ( $p < 0,05$ ) e em 0,75 como concentração mínima inibitória ( $p < 0,05$ ), sugerindo haver ação de princípio ativo na concentração de 12%.

Segundo, Cordeiro (2010), em estudo realizado com folhas de *M. charantia* (melão de são caetano) obteve uma ação ovicida com extrato etanólico com maior ação a 12% com 55,0 de inibição dos ovos.

Tabela 03: Percentual da eficácia média (PEM)  $\pm$  desvio padrão (DP) da *Punica granatum* na inibição da eclodibilidade dos ovos de nematoides gastrointestinais em ovinos.

Concentração (%)	PEM $\pm$ DP
0,75%	32,61% $\pm$ 3,38
1,5%	59,00% $\pm$ 9,89
3%	61,02% $\pm$ 9,05
6%	44,37% $\pm$ 5,71
12%	64,37% $\pm$ 4,65
C+	63,16% $\pm$ 8,58
C-	20,73% $\pm$ 9,07

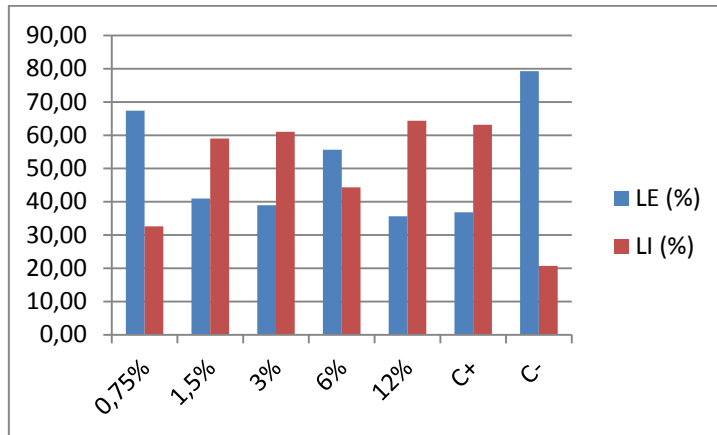


Figura 06. Avaliação percentual do desenvolvimento e inibição dos ovos de nematoides gastrointestinais em ovinos submetidos a ação da *Punica granatum* em 24 horas de incubação.

O extrato da *Punica granatum* segundo recomendação da Farmacopéia brasileira, preparado a 20% nas concentrações 0,75, 1,5, 3, 6, 12 teve uma ação satisfatória na concentração de 12% com 64,37% de ação inibitória em comparação ao controle positivo com 63,16% de ação.

Em outros estudos com fitoterápicos com *E.stageiriana* e *C.guianensis*, não apresentaram resultado satisfatório, pois sua eficácia foi inferior a 50% em todas concentrações quando confrontados ao antihelmintico utilizado no rebanho local, (Closantel 10%) que possui eficácia de 100%. Já em relação a *C.martinii* e *H.crepitans* apresentaram ação sobre a eclosão dos ovos de nematódeos gastrintestinais nas concentrações testadas, exceto nas concentrações de 5% e 2,5%, onde não foi possível a visualização do material. Já nas concentrações de 1,25%, 0.625% os resultados observados foram de 96,81%, 94,57%, e de 98,05%, 93,92% para *H.crepitans* e *C. martinii* respectivamente, considerados positivos para ação antihelmíntica. (CHAVES,2010)

## 5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo sugerem que o extrato aquoso da casca da *Punica granatum*– Romã foi eficaz no tratamento in vitro do nematoide gastrointestinal *IHaemonchus contortus*. Novos experimentos devem ser realizados, para que sejam investigados outras diluições e compostos ativos e assim viabilizar uma melhor aplicação pelo produtor rural.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M.A.O. DE; DOMINGUES, L.F.; ALMEIDA, G.N.; SIMAS, M.M. DOS S.; BOTURA, M.B.; CRUZ, A.C.F.G. DA; SILVA, A.V.A.F. DA; MENEZES, T.P.; BATATINHA, M.J.M. **Efeitos dos extratos aquosos de folhas de *Menthapiperita*L. e de *Chenopodiumambrosioides*L. sobre cultivos de larvas infectantes de nematóides gastrintestinais de caprinos.** *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 16, n.1, p. 57-59, 2007.

ATHAYDE, A. C. R. et al. **Surto epizoótico de haemoncose e strogiloidose caprina no semi-áridoparaibano.** In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINARIAS, 15, 1996, Anais... Campo Grande., 1996. p.264.

ATHAYDE, A. C. R. et al. **Avaliação de plantas medicinais em caprinos da região do semi-árido paraibano naturalmente infectados por nematóides gastrintestinais.** Revista Caatinga (Mossoró, Brasil), v. 20, m. 3, p.01-07, julho/setembro 2007.

BATATINHA, MARIA JOSÉ MOREIRA, GISELE NUNES ALMEIDA, LUCIANA FERREIRA DOMINGUES, MONICA MATTOS DOS SANTOS SIMAS, MARIANA BORGES BOTURA, ANA CARLA FERREIRA GUEDES DA CRUZ, MARIA ANGELA ORNELAS DE ALMEIDA. **Efeitos dos extratos aquoso e metanólico de algaroba sobre culturas de larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos.** Ci. Anim. Bras., Goiânia, v.12, n.3, p. 514-519, jul./set. 2011

BOAS, L. H. B. V.; SETTE, R. S.; BRITO, M. J. Comportamento do consumidor de produtos orgânicos: Uma aplicação da teoria da cadeia de meios e fins. **Organizações Rurais & Agroindustriais**, v. 8, n. 1, p. 25-39, 2006.

BORGUINI, R. G.; MATTOS, F. L. Análise do consumo de alimentos orgânicos no Brasil. In: Congresso Brasileiro de Economia e Sociologia Rural, 40, 2002, Passo Fundo. **Anais...** Brasília: SOBER, 2002.

CORDEIRO, ATHAYDE, A.C.R.; VILELA, V.L.R.; COSTA, J.G.M.; SILVA, W.A.; ARAUJO, M.M.; RODRIGUES, O.G. **Efeito *in vitro* do extrato etanólico das folhas do melão-de-São-Caetano (*Momordicacharantia*L.) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos.** Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.12, n.4, p.421-426, 2010

CHAVES, SuelineCavlane. et al. **ATIVIDADE OVICIDA *IN VITRO* DOS OLEOS ESSENCIAIS DAS PLANTAS *Eucalyptusstageiriana*, *Carapaguianensis*, *Cymbopogonmartinii*, *Huracrepitans* NA INIBIÇÃO DA ECLODIBILIDADE DE NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS.** I Encontro de Ciências e Tecnologia. VIII Agrinorte. Sobral 2010.

DAROLT, M. R. **A qualidade dos alimentos orgânicos.** Planeta Orgânico. Disponível em: <<http://www.planetaorganico.com.br/daroltqualid.htm>>. Acesso em 04 dez 2010.

FURTADO, S. Krychak, R.B. Negrelle<sup>2</sup>, O.G. Miguel<sup>3</sup>, S.R. Zaniolo<sup>2</sup>, J. Kapronezai<sup>4</sup>, S.J. Ramos<sup>5</sup>, A. Sotello<sup>5</sup>. **Efeito de *caricapapayal*. (*caricaceae*) e *musa paradisiacalinn*. (*musaceae*) sobre o desenvolvimento de ovos de nematóides gastrintestinais de ovinos, *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.72, n.2, p.191-197, abr./jun., 2005**

SAAB, M. S. B. L. M. **Valor percebido pelo consumidor: um estudo de atributos da carne bovina.** 1999. Dissertação (Mestrado em administração) - Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade. USP, São Paulo, 1999.

SHETT, J. N.; GARDNER, D. M.; GARRETT, D. E. **Marketing theory:** Evolution and evaluation. New York: Wiley, 1988. 231p.

In.: ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO, 28. **Anais...** Rio de Janeiro: ABEPRO. 2008.

XAVIER, C. P. et al. **Epidemiologia de helmintos gastrintestinais em caprinos e ovinos pastejando capim-mombaça.** Universidade do Estado da Bahia, 2005.