

Influência do resíduo líquido do sisal (*Agave sisalana*, Perrine) sobre a alimentação larvar e motilidade de adultos, *in vitro*, de nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes.

SILVEIRA, Roberta Xavier¹; CHAGAS, Ana Carolina Souza²; BOTURA, Mariana Borges³; BATATINHA, Maria José Moreira³; KATIKI, Luciana Morita²; BEVILAQUA, Cláudia Maria Leal⁴; BRANCO, Alexsandro⁵; MACHADO, Elane de Alencar Arrais⁶; BORGES, Simone Lopes⁷; ORNELAS-ALMEIDA, Maria Angela³.

¹ Bolsista FAPESB, Programa de Pós-graduação em Ciências Animal nos Trópicos, Escola de Medicina Veterinária da UFBA.

² Embrapa – Pecuária Sudeste/ Laboratório de Sanidade Animal

³ Escola de Medicina Veterinária da UFBA/ Departamento Patologia e Clínicas

⁴ Universidade Estadual do Ceará/ Departamento de Medicina Veterinária

⁵ Universidade Estadual de Feira de Santana/ Departamento de Fitoquímica.

⁶ Bolsista PIBIT/CNPq, Escola de Medicina Veterinária da UFBA/ Departamento Patologia e Clínicas.

⁷ Bolsista FAPESP, Escola de Medicina Veterinária da UFBA/ Departamento Patologia e Clínicas.

RESUMO

A utilização do sisal na obtenção de produtos com ação antiparasitária é uma alternativa de diversificação da exploração do setor agropecuário. O objetivo deste estudo foi avaliar a ação do resíduo líquido de *Agave sisalana* sobre o desenvolvimento, *in vitro*, de nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes. O resíduo líquido das folhas de *A. sisalana* obtido pelo processo de desfibramento, foi utilizado nos testes de inibição da alimentação larval (TIAL) e motilidade de adultos (TMA) de nematóides gastrintestinais (NGI) de ovinos e caprinos, respectivamente. A inibição do desenvolvimento e da alimentação de larvas foi de 100%, após a exposição, igual ou superior, a 0,12 mg/mL do resíduo. No teste de motilidade de adultos a inibição foi de 100% para concentração de 75 mg/mL, com 24h, e para 37 mg/mL e 18 mg/mL, com 48h. Os testes *in vitro* utilizados para avaliar a ação da seiva da folha da *A. sisalana* sobre larvas e adultos de NGI demonstraram o seu potencial antiparasitário.

Palavras-chave: *Agavaceae*, fitomedicina, nematóides gastrintestinais

INTRODUÇÃO

O aproveitamento dos resíduos da *Agave sisalana* poderá diversificar os setores farmacêutico e agropecuário, pois no resíduo encontram-se saponinas, que apresentam atividades antiinflamatória e antibacteriana (ZULLO et al., 1989; FRANCIS et al., 2002). Plantas com atividade antiparasitária interferem na motilidade e na mortalidade de larvas de nematóides de ruminantes (MIN & HART, 2003).

Os nematóides gastrintestinais são considerados um dos principais problemas para a criação de pequenos ruminantes e seu controle tem sido limitado pela resistência anti-helmíntica. O uso de plantas medicinais é considerado como uma alternativa à aplicação de medicamentos anti-helmínticos (SCHAİK et al., 2006). *Agave sisalana* destaca-se pela sua adaptação a regiões semi-árida, como o Nordeste brasileiro. É composta por 60% de suco, que é rejeitado juntamente com o bagaço (36%) no processo de desfibramento. Assim sendo, o sisal, poderá ser alternativa terapêutica útil para o tratamento das nematodeoses dos pequenos ruminantes, por sua eficácia, baixo custo operacional, facilidade de aquisição. Este estudo objetivou avaliar o efeito do resíduo líquido da *A. sisalana* sobre nematóides gastrintestinais de ovinos e caprinos utilizando os testes *in vitro* de inibição da alimentação larvar e motilidade de adultos.

METODOLOGIA

Fezes de animais infectados com nematóides gastrintestinais (95% *Haemonchus*) foram processadas utilizando malhas (1mm e 105, 55 e 25µm) e água a 40°C para obtenção dos ovos. Para o teste de

alimentação larvar (ÁLVAREZ-SÁNCHEZ et al., 2005) 30 μ L suspensão de larvas de primeiro estágio (L1) (cerca de 100 L1) e 720 μ L de água destiladas foram adicionadas aos microtubos, sendo acrescentado aos do grupo teste 750 μ L do resíduo líquido do sisal para obtenção das concentrações de 0,015; 0,03; 0,06; 0,12; 0,25; 0,5 e 1mg/mL. O controle com água destilada e os tratamentos foram realizados em duplicatas, e o delineamento repetido duas vezes. Após incubação das larvas com o resíduo líquido por duas horas à temperatura ambiente, adicionou-se 8 μ L de *E. coli* marcada com fluoresceína, que foram homogeneizados e incubados em B.O.D. (24°C e UR >80%) por 18 h. Os tubos foram centrifugados por 1 minuto a 3.824 xg. Usou-se 200 μ L do sedimento para contagem das L1 que apresentaram fluorescência no intestino. Após, foi acrescentado lugol e feita a leitura do total de larvas. Para o teste de motilidade (Hounzangbe-Adote et al., 2005), adultos de *H. contortus* foram coletados de caprino, imediatamente após o seu abate, lavados em solução salina a 37°C. Dois espécimes foram transferidos para cada poço da microplaca, ao qual foram adicionados 500 μ L de meio de cultura RPMI-1640 (GIBCO), com L-glutamina acrescido do meio GIBCO-15240, na diluição de 1:100 e igual volume do resíduo líquido para obtenção das concentrações 4,687; 9,375; 18,75; 37,58 e 75mg/mL. Os controles foram o meio de cultura acrescido de água destilada ou ivermectina 1mg/mL. Seis repetições foram realizadas para cada concentração ou controle e as placas foram incubadas a 37°C, em estufa com 5% de CO₂, e as avaliações da motilidade feitas com 6, 24 e 48 h sob estereomicroscópio. Os percentuais de inibição foram calculados (Coles et al., 1992, modificado por Bizimnyera et al., 2006) e os resultados avaliados por análise de variância e teste de TUKEY (p<0,05).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resíduo líquido das folhas da *A. sisalana* demonstraram *in vitro* potencial antiparasitário, inibindo a alimentação de larvas (Figura 1) e a motilidade de adultos (Tabela 1), com variação do percentual de inibição entre zero e 100%, após exposição das larvas L1 por duas horas ao resíduo, e de adultos por 6, 24 e 48 h. Para o teste de inibição da alimentação larvar (TIAL) houve inibição de 100% nas quatro maiores concentrações (1 a 0,12 mg/mL), com (p<0,05) entre as maiores e menores concentrações (0,015; 0,03 e 0,06mg/mL), que não diferiram estatisticamente entre si e não foram efetivas. Para o teste da motilidade de adultos (TMA), houve influência entre o tempo de exposição e a diminuição dos movimentos dos *H. contortus*, excetuando-se às 24h após o tratamento, na concentração de 75mg/mL, quando ocorreu a morte de todos os parasitos, e na concentração 9,375 mg/mL, que não correspondeu ao padrão de resposta das outras concentrações, possivelmente em virtude de falha nos procedimentos, uma vez que às 48 h constatou-se o percentual de inibição de 83,3 \pm 38,9, que não diferiu significativamente do tratamento com ivermectina. A média do percentual de inibição foi 26,77% e de 0; 33,5; 75% para o controle com água destilada nos TIAL e TMA, respectivamente.

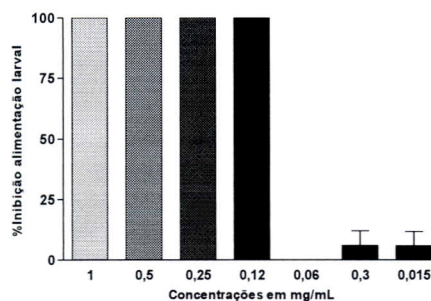


FIGURA 1. Inibição (%) da alimentação de larvas de primeiro estágio de nematóides gastrintestinais (95% *Haemonchus contortus*) de ovinos, com o uso do resíduo líquido da *Agave sisalana*, em diferentes concentrações.

Verificou-se também para TMA que às seis horas de exposição ao resíduo líquido, houve inibição de zero e 16,67%, não havendo diferença significativa entre as concentrações e destas com a ivermectina, já às 24 h os percentuais de inibição com o resíduo líquido foram superiores (p<0,05) em comparação à ivermectina (Tabela 2). O percentual de 83,3 \pm 38,9 observado para o grupo tratado com ivermectina demonstrou a possibilidade de resistência anti-helmíntica para esta população de *H. contortus*.

Neste trabalho a avaliação *in vitro* do resíduo do sisal pelos testes TIAL e TMA, resultaram em inibição superior a 99%, para a alimentação e motilidade dos NGI. Estes resultados corroboram com as observações de Domingues. (2008) que obteve 95% de redução de larvas de NGI, após incubação de coproculturas com o resíduo líquido na concentração de 86,5mg/mL. A atividade antiparasitária observada neste estudo pode estar associada ação de composto ativos presentes no resíduo do sisal com as saponinas (triterpeno ou esteróide) relacionadas às atividades biológicas (ZULLO et al., 1989; FRANCIS et al., 2002).

Conclui-se que o resíduo líquido da folha da *A. sisalana* influenciou nos processos fisiológicos dos nematóides gastrintestinais de ovinos e caprinos e que o mesmo poderá ser uma alternativa ao controle destas nematodeoses. Entretanto antes da sua utilização com fitoterápicos novos estudos deverão ser conduzidos para a investigação dos seus mecanismos de ação e dos princípios ativos responsáveis por seu efeito antiparasitário.

TABELA 2. Inibição (%) da motilidade de adultos de *Haemonchus contortus* de caprinos, com o do resíduo líquido da *Agave sisalana*, em diferentes concentrações.

	Concentração (mg/mL)	% Inibição da motilidade		
		6h	24h	48h
Extrato do sisal	75,00	16,7±38,2 ^a	100±0 ^{BA}	100±0 ^b
	37,58	0±0 ^a	87,5± 29,3 ^{BAB}	100±0 ^b
	18,75	0±0 ^a	70,8±43,8 ^{BABC}	100±0 ^b
	9,375	0±0 ^a	0±0 ^{AD}	83,3±38,9 ^b
	4,687	0±0 ^a	49,9±37,0 ^{BBC}	66,7±49,2 ^b
Ivermectina	1,00	0±0 ^a	37,3±29,3 ^{ACD}	83,3±38,9 ^b

Letras minúsculas diferentes na mesma linha e maiúsculas na mesma coluna caracterizam diferença significativa ($p < 0,05$).

REFERÊNCIAS

ÁLVAREZ-SÁNCHEZ, M.A. et al. The larvar feeding inhibition assay for the diagnosis of nematode anthelmintic resistance. *Exp. Parasitol.*, 110, 56-61, 2005.

BIZIMENYERA, E.S. et al. *In vitro* activity of *Peltophorum africanum* Sond. (Fabaceae) extracts on the egg hatching and larvar development of the parasitic nematode *Trichostrongylus columbriformis*. *Vet. Parasitol.*, 142, 336-343, 2006.

COLES, G.C. et al. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.*, 44, 35-44, 1992.

DOMINGUES, L.F. Avaliação da atividade anti-helmíntica do resíduo líquido de *Agave sisalana* Per. (sisal) em caprinos. Salvador, Bahia, 2008, 68p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos) – Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, 2008.

FRANCIS, G. et al. The biological action of saponins in animal systems: a review. *British J. of Nutrition.*, 88, 587–605, 2002.

HOUNZANGBE-ADOTE, M.S. et al. *In vitro* effects of four tropical plants on three life-cycle stages of the parasitic nematode, *Haemonchus contortus*. *Res. in Vet. Sci.*, 78, 155-160, 2005.

MIN & HART, 2003, Tannis suppression internal parasites. *J. of Animal Sci.*, 81, 102-109, 2003.

SCHAIK et al., 2006 *Sericea lespedeza* hay as a natural deworming agent against gastrointestinal nematode infection in goats. *Vet. Parasitol.*, 139, 150–157, 2006.

ZULLO, M. A. T. et al. Saponinas esteróidicas em sisal. *Bragantia*, 48, 21–25, 1989.