

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE UMA FORMULAÇÃO COMERCIAL CONTENDO TORTA DE NIM NO CONTROLE DE NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS DE EQUINOS

[Evaluating the effectiveness of a formulation containing neem's pie in control of equine gastrointestinal nematode]

Anderson Silva Dias^{1,2,1}, Vitor Dalmazo Melotti³, Diego Henrique Serrano³, Gabriel Altoé³, Renan Mello Spadetto³, Gester Breda Aguiar³, Luís Antonio Trindade de Oliveira Júnior¹, Roberto Ramos Sobreira³

¹Docente, curso Medicina Veterinária, Facastelo

²Doutorando, Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa

³Discente, curso Medicina Veterinária, Facastelo

Resumo – Os desafios para o controle dos nematóides gastrintestinais de equinos é devido, em grande parte, à resistência a antihelmínticos observada em populações dos ciatostomíneos e dos grandes estrôngilos. Poucos esforços são realizados na investigação de tratamento alternativo para o controle desses agentes em equinos, além do emprego de fármacos. Esse trabalho objetivou testar a eficácia de uma formulação de torta de nim no controle desses parasitos. Assim, foi fornecida, diariamente, uma formulação contendo 20 gramas de nim por animal por seis meses misturados a farinha de milho (100g/animal) ao grupo tratado (A), ao grupo controle foi fornecida mistura mineral na mesma quantidade que ao grupo tratado. A mistura mineral foi fornecida na dose de 1g por animal/dia por seis meses. Foram coletadas semanalmente amostras de fezes diretamente do reto desses animais que foram submetidas a exame parasitológico quantitativo de flutuação. Após a coprocultura e a recuperação das larvas, essas foram submetidas à identificação em microscopia de luz. A média do número de ovos de nematóides gastrintestinais por gramas de fezes dos equinos do grupo tratado foi de 89,50 ovos por gramas de fezes, e no controle, de 255,71 ($P < 0.001$). Foram contadas e identificadas 100 larvas recuperadas das coproculturas por amostra de fezes e não foi verificada diferença ($P > 0.05$) entre os dois grupos (A e B) na frequência de ciatostomíneos e grandes estrôngilos. Após seis meses de aplicação desse produto foi possível verificar redução no número de ovos por gramas de fezes dos equinos tratados (A) em relação ao controle (B).

Palavras-Chave: torta de nim; grandes estrôngilos; ciatostomíneos; frequência; equino.

Abstract – Challenges to control of gastrointestinal nematodes of equine is due, largely, to antihelmintic resistance observed in populations of cyathostominae and large strongyles. Few effort are accomplished to seek a alternative to the control this agents therefore of the employment of drugs. The present work had as aim test the efficacy of a phytoterapic formulation of neem's pie on gastrointestinal nematodes of equine. For this, a formulation comprise 20 grams of neem for animal per six months added at cornmeal (100g per animal, daily) plus water ad libidum at animals in the treated group (A). The same was supplied at control animals (group B) except neem's pie. The mineral mix was supplies at animals at dose 1g per animal daily. They were harvested sample of faeces directly from the rectum of the animals that were submitted at parasitological examination of flotation. After coprocultures, recovery larvae were identified by light microscopy. Mean number eggs of gastrointestinal nematodes per grams of faeces of equine of treated group was 89.50 and, in the control, was 255.71 ($P < 0.001$). It was counted and identified 100 recovered larvae of coprocultures per samples of faeces and it do not verified differences ($P > 0.05$) among two groups (A and B) in the frequency of cyathostominae and large strongyles. After six months of application of neem's pie, it was possible verify a reduction in number eggs per grams of faeces of the treated equine (group A) compared to animals of control group (B).

Keywords: Neem's pie; large strongyles; cyathostominae; frequency; equine.

¹ Autor para correspondência: E-mail: andersonsilvadias@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

A criação de equinos no Brasil ocupa o terceiro lugar mundial, com população de 5,9 milhões de animais, além de 3 milhões de muas e asininos. Estima-se que a equinocultura brasileira movimenta cerca de R\$ 7,5 bilhões por ano e que gere em torno de 650 mil empregos diretos (Brasil, 2006). Porém, pouco é investido no Brasil em pesquisas nas áreas de sanidade e nutrição de equinos.

As formas nas quais equídeos são criados no Brasil favorecem a grande incidência de infecções parasitárias já nas primeiras semanas de vida. Dentre os principais agentes que causam morbidade e mortalidade em equinos destacam-se os nematóides gastrintestinais, em especial, os ciatostomíneos e os grandes estrôngilos (Pereira & Melo, 1989).

Dessa forma, deve-se destacar o problema de resistência em relação aos antihelmínticos pelos ciatostomíneos e grandes estrôngilos em equinos. O controle das infecções desses agentes depende principalmente da utilização de produtos antiparasitários de forma supressiva ou estratégica e, em menor escala, de forma curativa. O tratamento supressivo é o fator mais importante na promoção da seleção de organismos resistentes, prejudicando a sustentabilidade de qualquer programa sanitário (Molento, 2005).

O emprego de métodos alternativos no controle de parasitos tem sido o foco de diversos trabalhos (Waller & Faedo, 1996, Sangster, 1999), dentre eles, tem se destacado o emprego de fitoterápicos (Waller & Faedo, 1996). O nim (*Azadirachta indica*, A. Juss) é uma planta originária da Índia, pertencente à família das Meliaceae. Ele apresenta vários compostos biocidas, encontrados em toda a planta, elementos conhecidos como tripenóides ou limonóides são relacionados por diversos pesquisadores, no entanto, o mais potente entre eles é a azadiractina. Os produtos a base de nim apresentam eficácia contra elevada quantidade de organismos maléficos seja na agricultura, na pecuária ou outras atividades. Sua atuação acontece no controle de insetos, nematóides, caramujos, crustáceos, bactérias, vírus e fungos (Mossini & Kemmelmeier, 2005).

Os princípios ativos presentes no nim apresentam ação sobre diferentes locais no corpo dos parasitos. As ações dessas substâncias os parasitos incluem: diminuição da ingestão de nutrientes, diminuição da postura de ovos de ectoparasitos, regulação do crescimento, inibição da reprodução, impedimento de movimentação e inibição da síntese de quitina. Essa ação acontece na maioria dos casos nas fases

larvais, mas algumas espécies respondem nas suas fases adultas (Mossini & Kemmelmeier, 2005).

Diversos ensaios experimentais são relatados quanto ao emprego de formulações contendo nim no controle de nematóides gastrintestinais em ruminantes. Pessoa (2001) obteve uma boa ação no laboratório ao extrair a azadiractina das sementes de nim, provocando inibição de 68% na eclodibilidade de *H. contortus* a uma concentração de 1%. Ahmed et al. (1994) obtiveram eficácia de 35 a 40% do extrato aquoso também da semente de nim contra nematóides gastrintestinais de ovinos, valores próximos aos obtidos por Mostafa et al. (1996).

Lipinski et al. (2011) avaliaram a eficácia do nim associado a alho desidratado em bubalino utilizando 2 gramas de cada fitoterápico e obtiveram eficiente controle da ovoposição de nematóides gastrintestinais. Amin et al. (2009) observaram a eficácia de diversas plantas indianas no controle de nematóides gastrintestinais de bovinos, dentre as quais, o nim apresentou eficácia aceitável.

Estudos realizados na Embrapa Caprinos com folhas secas do nim apresentaram como resultado ação ovicida com 88,6% de eficácia a 240.000 ppm em cultura de fezes (Chagas, 2004). Não tem sido observados relatos quanto à aplicação de nim no controle de nematóides gastrintestinais em equinos. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficácia de uma formulação comercial de sal mineral contendo extrato de nim a 2% administrado para equinos.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Os animais envolvidos no ensaio experimental eram equinos, mestiços, com idade média de $6,1 \pm 0,7$ anos e peso de $390,2 \pm 32,8$ Kg no início, no grupo tratado (A). No grupo controle (B), a média de idade foi de $6,0 \pm 0,9$ anos e o peso foi $393,8 \pm 39,47$ Kg. Os animais eram provenientes do clube do cavalo de Castelo, Espírito Santo. A formação dos dois grupos ocorreu por sorteio dos animais, na qual fora formado dois grupos de seis animais. Todo o estudo caracterizou-se como duplo cego. Os animais foram vermifugados inicialmente com formulação à base de albendazol 8% e triclorfon 58% (Hipotac, Pearson®) cerca de dois meses antes do início do ensaio experimental. Os animais receberam esse tratamento prévio para que os mesmos pudessem ser desafiados de forma uniforme no início do ensaio experimental. Antes da aplicação do vermífugo, a carga parasitária dos equinos foi mensurada através de exames parasitológicos quantitativo, todos se apresentaram

positivos para ovos de nematóides gastrintestinais. Os animais receberam alimentação a base de capim picado em cocho, complementado com feno e sal mineral e foi administrada água *ad libitum* aos animais. Os animais permaneceram a maior parte do tempo nas baias, eles foram separados em grupos A e B. Esses eram alocados durante cerca de 10 horas por dia em dois piquetes de tamanhos similares e isolados e distantes um do outro em torno de 500 metros.

Ensaio experimental

Aos animais do grupo A, foram administrados 0,05 gramas de torta de nim (formulação comercial) por Kg P.V. (em torno de 20 gramas), a formulação possuía 81,8% da planta de nim, que foi oferecida na ração em cocho diariamente, por seis meses, em torno de 18,2% da formulação era formada por uma mistura mineral. Aos animais do grupo B, foi fornecida quantidade de mistura mineral similar em quantidade ao administrado ao grupo A. Para cada animal dos grupos A e B eram fornecidos em torno de 100 gramas diárias de farinha de milho juntamente com as formulações testadas.

Quinzenalmente, foram coletadas amostras de fezes nos animais dos grupos tratados e controle diretamente do reto dos animais e enviadas para o Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Castelo, onde as amostras foram homogeneizadas e dois gramas foram retirados para realizar o teste de flutuação de Ueno & Gonçalves (1998), modificado de Gordon & Withlock (1939), para quantificação de ovos por gramas de fezes. Partes dessas amostras foram destinadas à realização de coprocultura, técnica descrita por Roberts & O'Sullivan (1950). Após 15 dias de incubação, essas amostras foram submetidas ao procedimento de recuperação e as larvas recuperadas foram destinadas à identificação seguindo a chave classificatória de Bevilacqua et al. (1993), em microscopia em objetiva com aumento de 40x. Foram realizadas a contagem de 100 larvas para cálculo percentual.

Análise estatística

Para verificar a formulação contendo nim foi eficaz em reduzir o número de ovos por gramas de fezes comparando os animais do grupo tratado em relação aos do controle, o número de ovos de nematóides gastrintestinais por gramas de fezes foram convertidos para $\log(x + 1)$ e comparados por análise de variância e teste de Tukey a 1 e 5%. Os percentuais de larvas de ciatostomíneos e grandes estrôngilos dos grupos tratado e controle foram testados pelo teste de Friedman a 1 e 5%.

RESULTADOS

As médias do número de ovos de nematóides gastrintestinais por gramas de fezes dos equinos do grupo tratado (A) foram de 89,50 ovos por gramas de fezes (OPG) e no grupo controle (B), de 255,71 OPG. Foi verificada uma diferença ($P < 0,001$) entre as médias de ovos por gramas de fezes dos dois grupos, tratado e controle (Figura 1). No mês de setembro foi verificada a menor média de ovos por gramas no grupo tratado, de 25 OPG, e a maior no mês de junho, de 141,50 OPG; no grupo controle a menor média foi verificada no mês de julho (180 OPG) e a maior no mês de agosto, de 366,67 OPG.

As percentagens de larvas recuperadas após coprocultura foram no grupo A: 22,58% para *Strongylus vulgaris*; 13,25%, para *S. equinus*; para *S. edentata*, 9,0%; 2,98% para *Triodontophorus* e 49,52% para ciatostomíneos, e 2,67% para *Strongyloides papillosus*, e 24,75; 12,80, 10,84; 5,66; 44,06 e 1,89%, respectivamente no grupo B (Figura 2). Não foi verificada diferença no percentual de larvas entre os grupos A e B ($P > 0,05$).

DISCUSSÃO

O emprego de uma formulação contendo nim, administrada na dose de 20 gramas diárias (por seis meses) por animal foi avaliado nesse trabalho. Os animais do grupo tratado (A) apresentaram uma diminuição no número de ovos por gramas de fezes após o segundo mês, ou seja, apenas após oito semanas de administração de 20 gramas de torta de nim (formulação comercial) (Figura 1). O que não foi verificado nos animais no grupo controle (B).

Após a recuperação de larvas, foi verificado que não houve redução diferencial entre diferentes grupos de nematóides gastrintestinais em equinos (Figura 2 e 3), ou seja, não houve, por exemplo, redução da população de ciatostomíneos ou de grandes estrôngilos em relação à população total de nematóides. Esse fato apresenta-se animador, uma vez que o grande problema que se tem observado quanto ao emprego de fármacos antinematóides em equinos é a resistência seletiva observada em relação à população de ciatostomíneos. É verificado que a prevalência de ciatostomíneos foi maior durante todo o ensaio experimental que dos outros estrôngilídeos, e esse fato se explica pelo fato dos ciatostomíneos terem um menor período pré patente (dois meses) e pelo fato de esse grupo de helmintos apresentar grande diversidade, em torno de quarenta espécies diferentes.

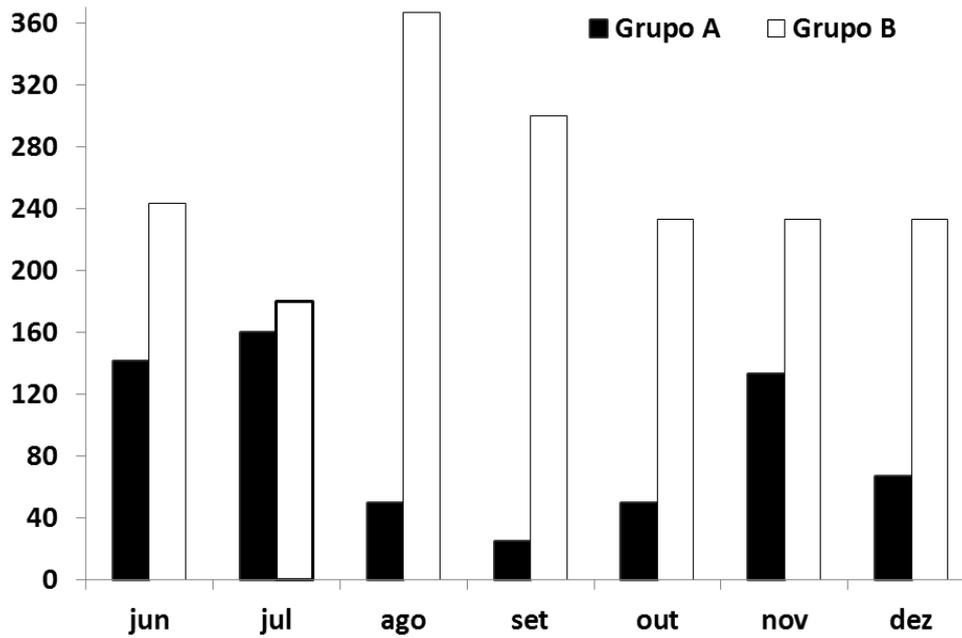


Figura 1. Número de ovos de nematóides gastrintestinais de equinos por gramas de fezes de equinos de animais dos grupos: tratado com formulação comercial de nim. (grupo A) e grupo controle (grupo B). Foram realizadas coletas de amostras de fezes dos animais dos dois grupos e submetidas a teste quantitativo de flutuação, as amostras foram coletadas durante o período de junho a dezembro de 2011.

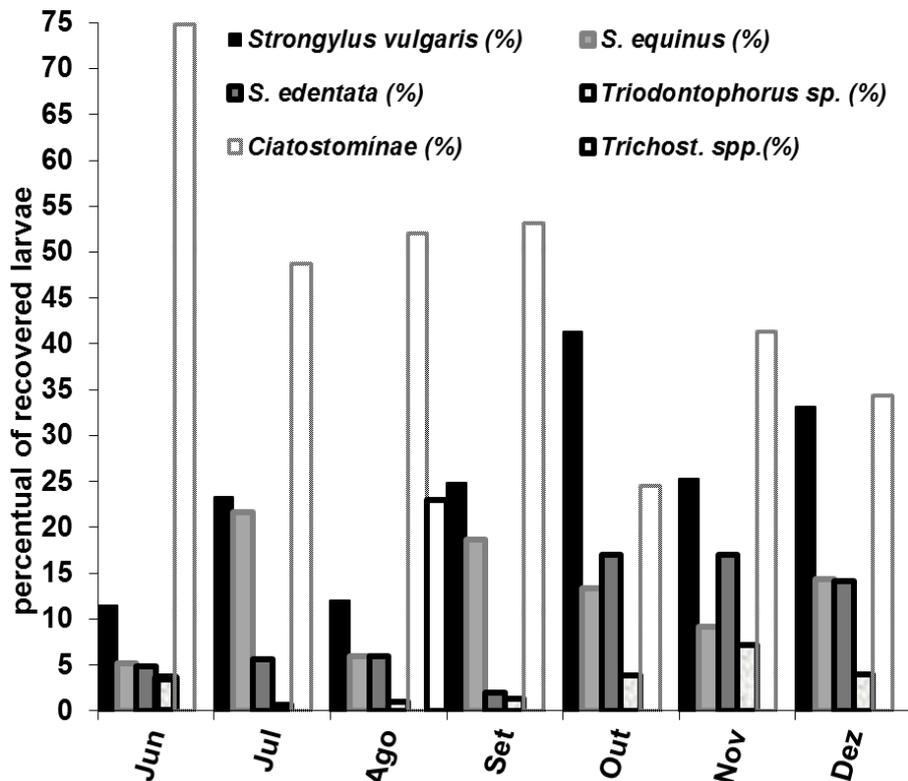


Figura 2. Percentual de larvas recuperadas de nematóides gastrintestinais de equinos após coprocultura de amostras de fezes de equinos do grupo controle. As coletas foram realizadas durante o período de junho a dezembro de 2011.

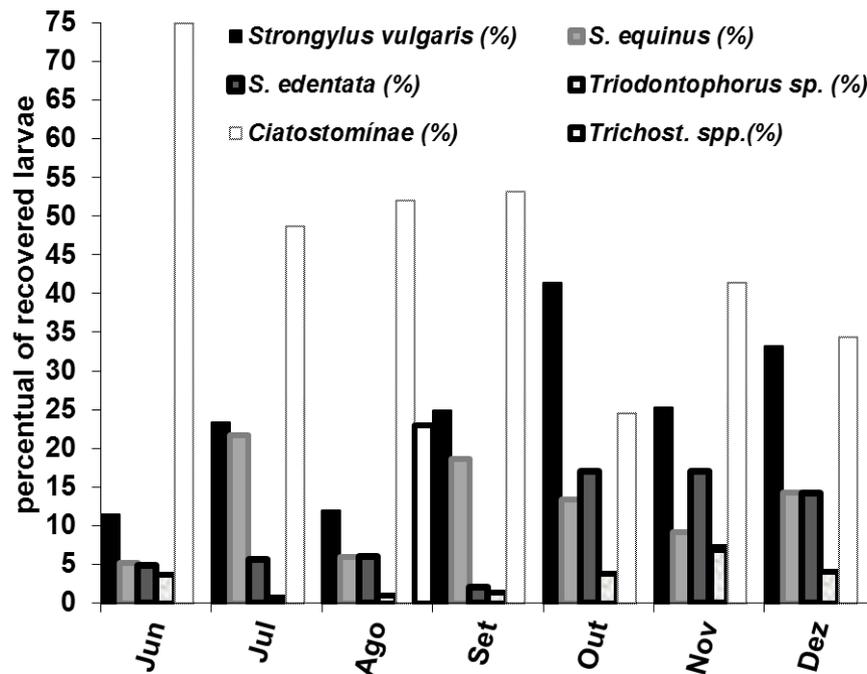


Figura 3. Percentual de larvas recuperadas de nematóides gastrintestinais de equinos após coprocultura de amostras de fezes de equinos do grupo tratado com formulação comercial de nim. As coletas foram realizadas durante o período de junho a dezembro de 2011.

Macedo (2007) realizou um trabalho com folhas secas de nim em ovinos, verificou que a aplicação oral de três gramas de foi eficaz ($p < 0,005$) na redução na contagem de ovos por gramas de fezes. Tavares et al. (2008) obtiveram resultado satisfatório com 10% de nim em suco de folhas frescas no controle de nematóides gastrintestinais em ovinos em dois tratamentos com intervalos de 48 horas.

Foi verificado que o emprego do nim mostrou-se de fácil administração pelos tratadores e de boa palatabilidade por parte dos animais, pois a torta foi fornecida em associação com ração, uma vez que o nim apresenta sabor amargo, e também não houve acréscimo oneroso no trato dos animais, por não necessitar de remanejar os tratadores nos protocolos alimentares dos haras. Além disso, foi verificado que a formulação contendo nim foi eficaz na redução no número de ovos de nematóides gastrintestinais por gramas de fezes nos animais do grupo tratado em relação ao grupo controle ($P < 0,001$).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos apontam para uma eficácia do emprego do extrato de nim diariamente em mistura mineral de equinos comparado ao uso apenas de antihelmíntico de forma periódica.

AGRADECIMENTOS

Ao Clube do Cavalo de Castelo e à Facastelo pelo apoio técnico.

REFERÊNCIAS

- Ahmed N.U., Mostafa M., Awal M.A. & Alam M.N. 1994. Comparative efficacy of modern anthelmintics with that of Neem seeds against gastrointestinal nematodeoses in sheep. *Banglad. Vet. J.* 28(1-4):21-23.
- Amin M.R., Mostafa M., Hoque M.E. & Sayed M.A. 2009. In vitro antihelmintic efficacy of some indigenous medicinal plants against gastrointestinal nematodes of cattle. *J. Banglad. Agricul. Univers.* 7(1):57-61.
- Bevilaqua, C.M.L., Rodrigues, M.L.; Concordet, D. 1993. Identification of infective larvae of some common nematode strongylids of horses. *Rev Médic. Vét.*, 144(12): 989-995.
- Brasil 2006. MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Estudo do Complexo do Agronegócio Cavalo no Brasil. Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil. Brasília: CNA; p.1-72.
- Chagas, A.C.S. 2004. Ação ovicida do neem, *Azadirachta indica*, sobre helmintos de caprinos. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 13(1):266.
- Gordon, H. M., Whitlock, A.V. 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep feces. *J. Coun. Sci. Ind. Res.Aus.* 12: 50-52.
- Lipinski L.C., Martinez J. L., Santos M.V.R. Ferreira J.N. & Pfau, D.R. 2011. Avaliação do efeito anti-helmíntico e das alterações metabólicas em búfalos (*Bubalus bubalis*) com administração da torta de neem e do alho desidratado no Sul do Paraná. *Rev. Bras. de Agroecologia.* 6(3):168-175.

- Macedo F.R. 2007. *Efeitos da administração da folha do nim indiano (Azadirachta indica, A. Juss) no controle de helmintos em ovinos infectados naturalmente*. Dissertação (mestrado). Universidade de Brasília- Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília.
- Molento M.B. 2005. Resistência parasitária em helmintos de eqüídeos e propostas de manejo. *Ciênc. Rur.* 35(6):1469-1477.
- Mossini S.A.G. & Kimmelmeier A. 2005. A árvore Nim (*Azadirachta indica* A. Juss): Múltiplos Usos. *Acta Farmac. Bonae.* 24(1):139-148.
- Mostafa M., Mckellar QA., Alam M.N., Le Jambre L.F. & Know M.R. 1996. Epidemiology of gastrointestinal helminthes parasites in small ruminants in Bangladesh and their anthelmintic therapy. In: International workshop of sustainable parasite control in small ruminants, 1, 1996, Bogor. *Anais... Bogor: Australian Center for International Agricultural Research/ACIAR*, p. 105-108.
- Pereira V.S. & Mello M.J. 1989. Papel da predisposição do hospedeiro na produção habronemose cutânea ("esponja") dos Eqüídeos. *Arq. Inst. Biol.* S. Paulo 18:363-379.
- Pessoa L.M. 2001. *Atividade ovicida in vitro de plantas medicinais contra Haemonchus contortus*. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE.
- Roberts F.H.S. & O'Sullivan J.P. 1950. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. *Aust. J. Agricul. Res.* 1:99-102.
- Sangster N.C. 1999. Anthelmintic resistance: past, present and future. *Int. J. Parasitol.* 29:115-124.
- Tavares M.N.B., Benigno R.N.M., Bittencourt R.H.F.P.M., Falesi I.C., Rodrigues, L.F.S. & Moreira V.M.T.S. 2008. O uso do nim (*Azadirachta indica* A. de Jussieu) no controle dos nematóides gastrintestinais de ovino. Universidade Federal Rural da Amazônia. XXXV Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária - Conbravet, 19 a 22 de outubro de 2008, Gramado. In: *Anais...* <http://www.soverg.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0185-1.pdf>. Acessado em: 03 de março de 2012.
- Ueno W. & Gonçalves P.C. 1998. *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes*, 4th edn. Japan International Cooperation Agency, Tokyo, 143p.
- Waller P.J. & Faedo M. 1996. The prospects of the free-living stages of nematode parasites of livestock. *Int. J. Parasitol.* 26(8/9):915-925.