

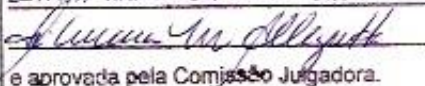


UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA

LETÍCIA APARECIDA DUART BASTOS

**“EFEITO ANTI-HELMÍNTICO DOS EXTRATOS ETANÓLICOS
DAS FOLHAS DE DIFERENTES ESPÉCIES DE ÁRVORES
FRUTÍFERAS SOBRE *Strongyloides venezuelensis* in vitro”**

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
LETÍCIA APARECIDA DUART BASTOS

e aprovada pela Comissão Julgadora.

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biologia como requisito para obtenção
do Título de Mestre em Parasitologia.

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Silmara Marques Allegretti

Campinas, 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
SÍLVIA CELESTE SÁLVIO – CRB8/7039
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP

B297e

Bastos, Leticia Aparecida Duarte, 1980-
Efeito anti-helmintico dos extratos etanólicos das
folhas de diferentes espécies de árvores frutíferas sobre
Strongyloides venezuelensis in vitro / Leticia Aparecida
Duart Bastos. – Campinas, SP: [s.n.], 2011.

Orientador: Silmara Marques Allegretti.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas, Instituto de Biologia.

1. *Strongyloides venezuelensis*. 2. *In vitro*. 3.
Extratos vegetais. 4. Árvores frutíferas. I. Allegretti,
Silmara Marques, 1963. II. Universidade Estadual de
Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em Inglês: Anthelmintic of etanolic extracts from the leaves of different fruit
trees species against *Strongyloides venezuelensis in vitro*

Palavras-chave em Inglês:

Strongyloides venezuelensis

In vitro

Plant extracts

Fruit tree

Área de concentração: Parasitologia

Titulação: Mestre em Parasitologia

Banca examinadora:

Silmara Marques Allegretti [Orientador]

Mara Cristina Pinto

Marili Villa Nova Rodrigues

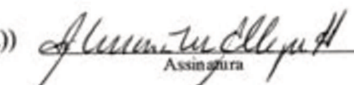
Data da defesa: 22-08-2011

Programa de Pós Graduação: Parasitologia

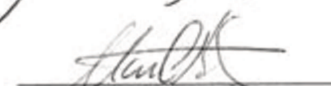
Campinas, 22 de agosto de 2011.

BANCA EXAMINADORA

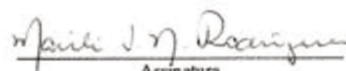
Prof(a). Dr(a) . Silmara Marques Allegretti (Orientador(a))


Assinatura

Profa. Dra. Mara Cristina Pinto.


Assinatura

Prof(a). Dr(a) . Marili Villa Nova Rodrigues


Assinatura

Prof(a). Dr(a) . Vera Lúcia Garcia Rehder

Assinatura

Prof(a). Dr(a) . Marlene Tiduko Ueta

Assinatura

Dedico,

À Deus que sempre esteve presente, tornando superáveis os momentos difíceis e transformando os momentos de felicidade em inesquecíveis e por todas as oportunidades concedidas durante este percurso na minha vida.

À minha querida mãe, Maria Aparecida Duart por todo amor, dedicação, confiança, conselhos, paciência e fé. A senhora sabe o quanto é grande o meu amor e o quanto é importante na minha vida!

Aos meus padrinhos, Luiz Carlos Matthes In memoriam e Neuza Matthes, vocês foram sem dúvida, as pessoas mais importantes na minha formação pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Silmara Marques Allegretti, pela amizade, oportunidade, confiança, orientação, dedicação, incentivo e apoio durante todo este período de mestrado. E sem dúvida, por ter despertado desde a graduação o interesse e paixão pela parasitologia. Muito obrigada!

Aos professores que fizeram parte do exame prévio deste trabalho: Marlene Tiduko Ueta, Luiz Augusto Magalhães, Mara Cristina Pinto, que com suas sugestões e análises críticas contribuíram valorosamente para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Arício Xavier Linhares, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Aos professores do departamento: Eliana Z. Magalhães, Urara Kawazoe, Patrícia Thyssen, Ângelo Pires, Selma Giorgio, Ana Maria Guaraldo.

A todos do CPQBA em especial a Prof^a Vera Lúcia Garcia Rehder, por toda a atenção e disponibilidade. À Cibele, pela ajuda na preparação dos extratos e à Adriana.

Aos amigos que entraram juntos nesta jornada: Tiago, Juliane, Thais, Laila, David, Maicon, Luiz Paulo, Danilo.

Aos amigos e companheiros de trabalho: Cirene, Dona Tacilda, Nilson Branco, Rubens, Diego, Dorvalino e principalmente ao João, por toda ajuda, ensinamento e auxílio com os ratos.

À Coordenação da Pós Graduação em Parasitologia, Prof^a. Regina Maura Bueno Franco, pela assistência prestada.

Aos queridos amigos no L3: Rosy Nunes (obrigada por tudo, amiga), Claudineide (Cláudia), Tarsila (Tarta), Maria Francisca (Kika), Michelle, Maria Isabel (Bel, “thanks” pela ajuda no abstract), Luciana, Anna Karolina (Karol).

Aos meus irmãos queridos, Leandro Duarte Bastos e Leonardo Duarte Bastos, pela paciência com a irmãzinha aqui!

Ao meu pai, Carlos Tadeu Bastos, por sempre acreditar e pedir a Deus e Nossa Senhora para que tudo dê certo. Pai, tenho certeza que o senhor está orgulhoso de mim!

Ao amor da minha vida, Luiz Felipe Nora Rosa Vilella, que fez com que tudo valesse a pena. Não sei o que seria de mim sem você por perto. Amore, agradeço pelo carinho, cuidado e companheirismo em todas as horas, inclusive nas longas madrugadas de estudo... fazendo aquele cafezinho gostoso e ouvindo todas as minhas apresentações! Por estar comigo nas noites e finais

de semana de experimentos, pela força nos momentos em que eu já acreditava não tê-la. Não tenho palavras para agradecer por tudo! Te amo!

Aos meus amores queridos da Tia Lê: Ana Eliza (Nininha), Maria Gabriela (Mariínha), Heloíse (Lolô), Igor (Corinthiano), Anabelle (Belle), Sophia (Sophi).

À Karla, minha amigona de Poços, por todos esses anos (são muitos) de amizade e cumplicidade e também à Ângela Ribeiro e à Karen (Zebra). Adoro vocês! Obrigada por estarem sempre do meu lado!

Aos amigos da Puc Minas, por todos os anos juntos que com certeza valeram muito a pena. Cada um contribuiu um pouquinho e juntos fizeram uma grande transformação na minha vida!

Agradecimento especial ao querido Professor Luiz Carlos Uchôa Junqueira *in memoriam* por todo conhecimento transmitido, pelo amor a ciência, pela lição de vida que pude desfrutar nos inesquecíveis momentos em que convivemos, tenho certeza de que está orgulhoso por eu ter chegado aqui... o senhor está presente em todos os momentos... o meu muito e sincero obrigada!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	03
2.1. Parasito	03
2.2. Modelo experimental	03
2.3. Ciclo evolutivo	04
2.4. Patologia	05
2.5. Diagnóstico	07
2.6. Tratamento	07
2.7. Plantas medicinais	10
3. OBJETIVO	12
4. JUSTIFICATIVA	13
5. MATERIAL E MÉTODOS	14
5.1 Material vegetal	14
5.1.1. Extratos etanólicos e frações	15
5.1.2. Obtenção dos extratos etanólicos	15
5.1.3. Fracionamento dos extratos etanólicos ativos	16
5.2. Modelo biológico	19
5.2.1. <i>Strongyloides venezuelensis</i>	19
5.2.2. Obtenção de fêmeas partenogenéticas	19
5.3. Controle farmacológico	19
5.4. Teste <i>in vitro</i>	20
5.4.1. Preparo das concentrações	20
5.4.2. Procedimento <i>in vitro</i>	20
5.5. Determinação da DL ₅₀	21
5.6. Análise estatística	21
6. RESULTADOS	22
6.1. Rendimento das plantas	22

6.2. Testes <i>in vitro</i>	23
6.3. Comparação da motilidade dos vermes	23
6.4. Comparação da mortalidade dos vermes	25
6.5. Extrato etanólico de <i>Spondias lutea</i> (Cajá)	29
6.6. Fração aquosa do extrato de <i>Spondias lutea</i> (Cajá)	30
6.7. Fração orgânica do extrato de <i>Spondias lutea</i> (Cajá)	32
6.8. Extrato etanólico de <i>Pouteria caimito</i> (Caimito)	33
6.9. Fração aquosa de <i>Pouteria caimito</i> (Caimito)	35
6.10. Fração orgânica de <i>Pouteria caimito</i> (Caimito).....	36
6.11. Extrato etanólico de <i>Psidium cattleianum</i> (Araçá-do-mague)	38
6.12. Extrato etanólico de <i>Inga cylindrica</i> (Inga-mirim)	39
6.13. Extrato etanólico de <i>Minikara zapota</i> (Sapoti).....	41
6.14. Extrato etanólico de <i>Eugenia pyriformis</i> (Uvaia).....	42
6.15. Extrato etanólico de <i>Lambramia bojeri</i> (Abriçó-da-praia)	44
6.16. Extrato etanólico de <i>Myciastes pungens</i> (Guabijú).....	45
6.17. Extrato etanólico de <i>Byrsonima crassifolia</i> (Murici).....	47
6.18. Extrato etanólico de <i>Eugenia brasiliensis</i> (Grumixama)	48
6.19. Extrato etanólico de <i>Muntingia calabura</i> (Calabura).....	50
6.20. Extrato etanólico de <i>Carya illinoensis</i> (Noz pecan)	51
6.21. Extrato etanólico de <i>Hexachlamys edulis</i> (Uvaia-do-campo)	53
6.22. Extrato etanólico de <i>Eugenia uniflora</i> (Pitanga).....	54
6.23. Extrato etanólico de <i>Lucuma caimito</i> (Abiu).....	56
6.24. Extrato etanólico de <i>Pourouma cecropiifolia</i> (Mapati)	57
6.25. Extrato etanólico de <i>Pouteria campachiana</i> (Canistel).....	59
6.26. Extrato etanólico de <i>Salacia elliptica</i> (Siputá).....	60
6.27. Extrato etanólico de <i>Macadamia integrifolia</i> (Noz macadamia)	62
6.28. Extrato etanólico de <i>Spondias dulcis</i> (Cajá-manga)	63
6.29. Extrato etanólico de <i>Dimocarpus longan</i> (Longana).....	65
6.30. Extrato etanólico de <i>Litchi chinesis</i> (Lichia)	67
6.31. Extrato etanólico de <i>Aceima smeithii</i> (Mini-jambo)	68

6.32. Extrato etanólico de <i>Eugenia involucrata</i> (Cereja-do-Rio-Grande)	69
6.33. Extrato etanólico de <i>Butia capitata</i> (Butiá)	70
6.34. Cambendazol	71
6.35. Albendazol.....	72
6.36. Ivermectina.....	73
6.37. Controle com meio RPMI.....	74
7. DISCUSSÃO.....	75
8. CONCLUSÕES	80
9 . REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
10. ANEXOS	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Listagem das plantas utilizadas na obtenção dos extratos testados	15
Tabela 2. Rendimento dos extratos etanólicos das plantas	22
Tabela 3. Média da motilidade dos vermes nos diferentes tempos de observação	24
Tabela 4. Mortalidade total dos vermes e DL ₅₀	26
Tabela 5. Mortalidade de 100% dos vermes em todas as concentrações testadas	27
Tabela 6. Mortalidade dos vermes em comparação às Famílias das plantas	28
Tabela 7. Extrato etanólico de <i>Spondias lutea</i> (Cajá). Motilidade	29
Tabela 8. Extrato etanólico de <i>Spondias lutea</i> (Cajá) - Fração aquosa. Motilidade	31
Tabela 9. Extrato etanólico de <i>Spondias lutea</i> (Cajá) - Fração orgânica. Motilidade	32
Tabela 10. Extrato etanólico de <i>Pouteria caimito</i> (Caimito). Motilidade	34
Tabela 11. Fração aquosa do extrato de <i>Pouteria caimito</i> (Caimito). Motilidade ..	35
Tabela 12. Fração orgânica do extrato de <i>Pouteria caimito</i> (Caimito). Motilidade	37
Tabela 13. Extrato etanólico de <i>Psidium cattleianum</i> (Araçá-do-mangue). Motilidade	38
Tabela 14. Extrato etanólico de <i>Inga cylindrica</i> (Ingá-mirim). Motilidade	39
Tabela 15. Extrato etanólico de <i>Minikara zapota</i> (Sapoti). Motilidade	41
Tabela 16. Extrato etanólico de <i>Eugenia pyriformis</i> (Uvaia). Motilidade	43
Tabela 17. Extrato etanólico de <i>Lambramia bojeri</i> (Abricó-da-praia). Motilidade	44
Tabela 18. Extrato etanólico de <i>Myrciantes pungens</i> (Guabijú). Motilidade	46
Tabela 19. Extrato etanólico de <i>Byrsonima crassifolia</i> (Murici). Motilidade	47
Tabela 20. Extrato etanólico de <i>Eugenia brasiliensis</i> (Grumixama). Motilidade ...	49
Tabela 21. Extrato etanólico de <i>Muntingia calabura</i> (Calabura). Motilidade	50
Tabela 22. Extrato etanólico de <i>Carya illinoensis</i> (Noz pecan). Motilidade	52
Tabela 23. Extrato etanólico de <i>Hexachlamys edulis</i> (Uvaia-do-campo). Motilidade	53

Tabela 24. Extrato etanólico de <i>Eugenia uniflora</i> (Pitanga). Motilidade	55
Tabela 25. Extrato etanólico de <i>Lucuma caimito</i> (Abiú). Motilidade	56
Tabela 26. Extrato etanólico de <i>Pourouma cecropiifolia</i> (Mapati). Motilidade	58
Tabela 27. Extrato etanólico de <i>Pouteria campachiana</i> (Canistel). Motilidade	59
Tabela 28. Extrato etanólico de <i>Salacia elliptica</i> (Siputá). Motilidade	61
Tabela 29. Extrato etanólico de <i>Macadamia integrifolia</i> (Noz macadamia). Motilidade	62
Tabela 30. Extrato etanólico de <i>Spondias dulcis</i> (Cajá-manga). Motilidade	64
Tabela 31. Extrato etanólico de <i>Dimocarpus longan</i> (Longana). Motilidade	65
Tabela 32. Extrato etanólico de <i>Litchi chinensis</i> (Lichia). Motilidade	67
Tabela 33. Extrato etanólico de <i>Aceima smeithii</i> (Mini-jambo). Motilidade	68
Tabela 34. Extrato etanólico de <i>Eugenia involucrata</i> (Cereja-do-Rio-Grande). Motilidade	69
Tabela 35. Extrato etanólico de <i>Butia capitata</i> (Butiá). Motilidade referente	70
Tabela 36. <i>Cambendazol</i> . Motilidade	71
Tabela 37. <i>Albendazol</i> . Motilidade	72
Tabela 38. <i>Ivermectina</i> . Motilidade	73
Tabela 39. <i>Controle negativo</i> . Motilidade	74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma do extrato de Cajá	17
Figura 2. Fluxograma do extrato de Caimito	18
Figura 3. Extrato etanólico de <i>Spondias lutea</i> (Cajá). Mortalidade	30
Figura 4. Extrato etanólico de <i>Spondias lutea</i> (Cajá) - Fração aquosa. Mortalidade	31
Figura 5. Extrato etanólico de <i>Spondias lutea</i> (Cajá) - Fração orgânica. Mortalidade	33
Figura 6. Extrato etanólico de <i>Pouteria caimito</i> (Caimito). Mortalidade.....	34
Figura 7. Fração aquosa do extrato de <i>Pouteria caimito</i> (Caimito) – Mortalidade	36
Figura 8. Fração orgânica do extrato de <i>Pouteria caimito</i> (Caimito). Mortalidade	37
Figura 9. Extrato etanólico de <i>Psidium cattleianum</i> (Araçá-do-mangue). Mortalidade	39
Figura 10. Extrato etanólico de <i>Inga cylindrica</i> (Ingá-mirim). Mortalidade	40
Figura 11. Extrato etanólico de <i>Minikara zapota</i> (Sapoti). Mortalidade	42
Figura 12. Extrato etanólico de <i>Eugenia pyriformis</i> (Uvaia). Mortalidade	43
Figura 13. Extrato etanólico de <i>Lambramia bojeri</i> (Abricó-da-praia). Mortalidade	45
Figura 14. Extrato etanólico de <i>Myrciantes pungens</i> (Guabijú). Mortalidade	46
Figura 15. Extrato etanólico de <i>Byrsonima crassifolia</i> (Murici). Mortalidade	48
Figura 16: Extrato etanólico de <i>Eugenia brasiliensis</i> (Grumixama). Mortalidade .	49
Figura 17. Extrato etanólico de <i>Muntingia calabura</i> (Calabura). Mortalidade	51
Figura 18. Extrato etanólico de <i>Carya illinoensis</i> (Noz pecan). Mortalidade	52
Figura 19. Extrato etanólico de <i>Hexachlamys edulis</i> (Uvaia-do-campo). Mortalidade	54
Figura 20. Extrato etanólico de <i>Eugenia uniflora</i> (Pitanga). Mortalidade	55
Figura 21. Extrato etanólico de <i>Lucuma caimito</i> (Abiú). Mortalidade	57
Figura 22. Extrato etanólico de <i>Pourouma cecropiifolia</i> (Mapati). Mortalidade ...	58

Figura 23. Extrato etanólico de <i>Pouteria campachiana</i> (Canistel). Mortalidade ...	60
Figura 24. Extrato etanólico de <i>Salacia elliptica</i> (Siputá). Mortalidade	61
Figura 25. Extrato etanólico de <i>Macadamia integrifolia</i> (Noz macadamia). Mortalidade	63
Figura 26. Extrato etanólico de <i>Spondias dulcis</i> (Cajá-manga). Mortalidade	64
Figura 27. Extrato etanólico de <i>Dimocarpus longan</i> (Longana). Mortalidade	66

RESUMO

O *Strongyloides stercoralis* é uma das principais espécies de nematódeos com alta prevalência entre os humanos, com uma estimativa de 100 milhões de pessoas infectadas em todo mundo. Atualmente os fármacos de escolha para o tratamento desta doença são o tiabendazol, albendazol e ivermectina, porém comumente associados a casos de recidivas, baixa eficácia e a ocorrência de resistência e tolerância a fármacos. Diante da necessidade de medicamentos mais eficazes, menos tóxicos, as plantas medicinais são uma alternativa. Neste trabalho foi avaliado o efeito anti-helmíntico dos extratos etanólicos das folhas de 25 espécies de árvores frutíferas sobre fêmeas adultas parasitas de *Strongyloides venezuelensis in vitro*. As observações foram feitas em 3 concentrações diferentes por um período de 72 horas. A atividade anti-helmíntica foi observada em 68% dos extratos testados em pelo menos uma das concentrações testadas durante o período de observação, com exceção dos extratos etanólicos de *Litchi chinensis*, *Aceima smeithii*, *Eugenia involucrata* e *Butia capitata*, a fração orgânica de *Pouteria caimito* que não apresentaram atividade contra o parasita. Os extratos etanólicos que apresentaram maior eficácia foram *Spondias lutea* (Cajá) e *Pouteria caimito* (Caimito), com 100% de mortalidade em todas as concentrações testadas apresentando $DL_{50} < 0,05$ mg/mL. Estes extratos sofreram um processo de partição com 2 frações, aquosa e orgânica. O *Spondias lutea* mostrou eficiência anti-helmíntica nas 2 frações testadas enquanto que o *Pouteria caimito* apresentou atividade apenas com a fração aquosa. Para todos os extratos testados, foi considerado significativo ($p < 0,0001$) o efeito do tempo em relação à motilidade dos vermes, e o efeito do extrato e da concentração em relação ao tempo, assim como o efeito do extrato e da concentração na motilidade dos vermes.

Palavras-chaves: *Strongyloides venezuelensis*; ensaios *in vitro*; extratos de árvores frutíferas

ABSTRACT

Strongyloides stercoralis is one of the main nematode specie with high prevalence among humans, with a rating of 100 million infected people in the role world. Nowadays the chosen drugs for the treatment of this disease are the thiabendazole, albendazole and ivermectin, but generally associated with recurrence cases, low efficiency, resistance occurrence and drugs tolerance. Given the need for more efficient drugs, with less toxicity, the medicinal plants are the alternative. The present work were evaluated the antihelminthic effect from the ethanolic extracts from the leaves of 25 fruit trees species over adult parasite females of *Strogyloides venezuelensis* *in vitro*. Observations were made in 3 different concentrations during 72 hours. 68% from the tested extracts presented antihelminthic activity in at least one tested concentration during the observation period, with an exception of the ethanolic extracts of *Litchi chinensis*, *Aceima smeithii*, *Eugenia involucrata*, *Butia capitata* and an organic fraction of *Pouteria caimito* that did not showed any activity against the parasite. The ethanolic extracts which presented major efficiency were *Spondias lutea* (Cajá) and *Pouteria caimito* (Caimito), with a mortality of 100% in all tested doses and with $DL_{50} < 0,05$ mg/mL. These extracts suffered a partition process, obtaining 2 fractions, aqueous and organic. The *Spondias lutea* showed antihelminthic efficiency in two tested fractions while *Pouteria caimito* showed activity only with the aqueous fraction. For all the tested extracts, were considered significative ($p < 0,0001$) the effect from the time in relation to the worms motility, and the extract effect and dose in relation to the time, as well as the extract effect and the dose related to the worms motility.

Key-words: *Strongyloides venezuelensis*; assays *in vitro*; extracts from fruit trees

1. INTRODUÇÃO

O *Strongyloides stercoralis*, responsável pela estrongiloidíase em humanos apresenta ampla distribuição mundial, porém com maior prevalência nas regiões tropicais e subtropicais, África, Ásia, América Latina e o sudeste dos Estados Unidos assim como em alguns países europeus (Ribeiro *et al.*, 2005; Fardet *et al.* 2007; Keiser *et al.*, 2008; Agrawal *et al.*, 2009). Sendo comum nas áreas onde as condições higiênicas e sanitárias são precárias, de clima quente e úmido, favorecendo a transmissão através da penetração das larvas infectantes presentes nos solos contaminados, na pele dos indivíduos (Olsen *et al.*, 2009; Iriemenam, *et al.*, 2010; Muro *et al.*, 2010).

A maioria dos indivíduos acometidos é assintomático ou apresentam manifestações brandas, não patognomônicas (Rossi *et al.*, 1993a; Rossi *et al.*, 1993b). Mas a principal diferença entre o *S. stercoralis* e os outros helmintos que parasitam o homem é a sua capacidade de auto-infecção, acarretando em sérios problemas por conta de uma hiper-infecção (Pires e Dreyer, 1993; Rossi *et al.*, 1993a), e podendo evoluir para estrongiloidíase disseminada, que se estabelece quando ocorre uma evolução mais rápida do curso normal do ciclo biológico do parasita (Ribeiro *et al.*, 2005). A mortalidade em pacientes hospitalizados com estrongiloidíase ocorre em torno de 16,7% (Iriemenam, *et al.*, 2010).

Duas espécies, *Strongyloides venezuelensis* (Brumpt, 1934) e *Strongyloides ratti* (Sandground, 1925), ambos parasitas de roedores são importantes do ponto de vista biológico e imunológico, para estudos sobre diagnóstico e teste de aplicação de novos fármacos contra esta infecção (Grove e Blair, 1981; Sato *et al.*, 1995; Costa Cruz *et al.*, 1997; Rigo *et al.*, 2008).

Atualmente o tratamento da estrongiloidíase pode ser feito com uso de fármacos disponíveis no mercado como o tiabendazol, mebendazol, albendazol, cambendazol e a ivermectina, amplamente utilizada na medicina veterinária. Contudo estes medicamentos ainda causam efeitos colaterais aos pacientes tratados, sendo também comuns os casos de recidivas e resistência dos parasitos através de seleção genética, por conta do uso prolongado dos fármacos (Grove, 1989; Zaha *et al.*, 2000; Molento, 2009).

As plantas e seus extratos vêm sendo utilizados no tratamento de centenas de doenças, desde dores de cabeça a infecções parasitárias. Grande parte do conhecimento da terapêutica com

plantas foi adquirido através do uso empírico. Isso faz com que as plantas apresentem fatores importantes na descoberta por novos fármacos, principalmente os antiparasitários, devido à longa associação da coexistência entre parasitas, humanos e medicamentos de origem vegetal. Sabe-se que menos de 10% de aproximadamente 250.000 espécies da flora natural no mundo são estudadas cientificamente por suas propriedades farmacológicas. Mais de 25% dos compostos medicinais ativos são isolados da parte alta das plantas (Anthony, *et al.*, 2005).

Dessa forma, a avaliação do efeito anti-helmíntico *in vitro* de diversas plantas frutíferas pode contribuir para o desenvolvimento de novos medicamentos mais eficazes, evitando o aparecimento de formas resistentes, menos tóxicos e com menor impacto ambiental no tratamento da estrogiloidíase.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Parasito

Nematoda da ordem Rhabditoidea, o gênero *Strongyloides* compreende mais de 50 espécies que parasitam vertebrados (Pires e Dreyer, 1993; Dorris *et al.*, 2002). Dentre essas espécies, um pequeno número pode ser encontrado em hospedeiros como anfíbios, répteis e aves. Sendo que a maioria parasita mamíferos, incluindo os animais domésticos e o ser humano (Grove, 1996; Dorris *et al.*, 2002).

Existem três espécies que podem acometer os humanos: *Strongyloides stercoralis*, *Strongyloides fulleborni* e o *Strongyloides fulleborni-like* (Pires e Dreyer, 1993; Grove, 1996).

O *S. stercoralis* é a espécie de maior prevalência entre os humanos, com uma estimativa acima de 100 milhões de infectados no mundo (Dorris *et al.*, 2002; Keiser *et al.*, 2008). Esta espécie também pode infectar cães, gatos e macacos (Pires e Dreyer, 1993; Iriemenam, *et al.*, 2010), e o ser humano é considerado seu principal reservatório e fonte de infecção (Ribeiro *et al.*, 2005).

Essa espécie foi observada pela primeira vez em 1876, pelo médico francês Louis Normand ao examinar fezes de soldados que haviam voltado do serviço militar na Cochinchina (Vietnã). Inicialmente este parasito foi nomeado *Anguillula stercoralis*. A caracterização completa das formas parasitárias e de vida livre do *S. stercoralis* veio após 35 anos da sua descoberta (Pires e Dreyer, 1993; Grove, 1996).

2.2. Modelo experimental

Para o melhor entendimento da estrogiloidíase humana e animal os modelos experimentais em roedores infectados com *S. venezuelensis* têm contribuído de maneira bastante satisfatória, por possuírem semelhanças no desenvolvimento da patogenia (Amato Neto *et al.*, 1997; Yoshida *et al.*, 2011). Esse modelo também permite a quantificação de ovos por grama de

fezes e de fêmeas parasitas no intestino (Dawkins e Grove, 1981). Assim, é possível que se avalie a eficácia de um medicamento em diferentes mecanismos de ação sobre o verme.

O *S. venezuelensis* também vem sendo utilizado em pesquisas envolvendo a caracterização do complexo proteolítico proteassoma, pela possibilidade do proteassoma servir como alvo terapêutico através do uso de inibidores, para diversas doenças inclusive as parasitoses humanas (Paula, 2004; Paula *et al.*, 2009).

Yoshida *et al.* (2011) também relatam a importância de novas estratégias de controle de larvas infectantes do *S. venezuelensis* com uso da biologia molecular, com objetivo de conhecer os mecanismos de sobrevivência do parasito e combatê-lo.

2.3. Ciclo evolutivo

Uma particularidade deste pequeno nematóide é a capacidade de realizar um duplo ciclo evolutivo. As fêmeas parasitas são partenogenéticas e produzem larvas que no meio externo podem dar origem a machos e fêmeas de vida livre ou evoluir para larvas filarióides infectantes. Para completarem sua evolução, penetram na pele do indivíduo, seguem através da corrente sanguínea até os pulmões, realizam o ciclo pulmonar, ultrapassam os capilares pulmonares e entrando nos alvéolos ascende a árvore respiratória até a faringe e se deglutidas atingem a maturação final no intestino delgado (Pires e Dreyer, 1993; Grove, 1996; Olsen, *et al.*, 2009; Muro *et al.*, 2010).

No intestino encontram-se apenas fêmeas que são alojadas no epitélio intestinal, onde se movem, alimentam e realizam a oviposição. Os ovos eclodem e as larvas rabditóides são liberadas na luz intestinal e eliminadas no ambiente juntamente com as fezes. Adultos de vida livre produzem ovos, e as larvas rabditóides originadas podem evoluir para larva filarióide e infectar o hospedeiro (Pires e Dreyer, 1993; Grove, 1996; Olsen, *et al.*, 2009; Muro *et al.*, 2010).

2.4. Patologia

As manifestações clínicas podem ser caracterizadas pela sua forma crônica não complicada. Neste caso, o indivíduo pode ou não apresentar sintomas relacionados à pele e ao trato gastrointestinal, sendo frequentes as queixas de dor abdominal, anorexia, náusea, vômito, diarreia, constipação, perda de peso e urticária; e no quadro respiratório é comum encontrar pacientes com tosse, crises asmáticas de predomínio noturno, eosinofilia, o que pode dificultar o diagnóstico da parasitose com outras doenças pulmonares atópicas. A strongiloidíase de forma disseminada é caracterizada pela presença de larvas rabditóides ou vermes adultos de forma maciça em outros tecidos além do trato gastrointestinal e estão geralmente associados com outras doenças severas tais como leucemia, linfoma, transplante, lúpus eritematoso sistêmico, desnutrição e a AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida), (Pires e Dreyer, 1993; Grove, 1996).

Pacientes imuno-comprometidos como consequência da infecção pelo vírus HIV e de tratamentos mais agressivos contra neoplasias, transplantes ou uso de corticosteróides são alvos fáceis para o desenvolvimento da strongiloidíase disseminada (Ribeiro *et al.*, 2005; Luna *et al.*, 2007; Olsen *et al.*, 2009). Um exemplo, o caso descrito por Ribeiro *et al.* (2005) que registrou strongiloidíase disseminada, de acometimento cutâneo em forma de púrpura em um paciente timectomizado e usuário crônico de corticosteróide devido à *miastenia grave*, neste caso, o paciente foi tratado com prognóstico evoluindo favoravelmente. Diferente do caso relatado por Cimerman *et al.* (2006), onde foi diagnosticado hiper-infecção por *S. stercoralis* em um paciente com AIDS e que evoluiu a óbito por septicemia. A prevalência desta patologia em pacientes com AIDS no Brasil varia entre 2,5% a 21,9% dependendo da localidade.

Ainda, pouco se conhece a respeito dos mecanismos do qual os corticosteróides estão envolvidos no desenvolvimento para a infecção severa da strongiloidíase. Acredita-se que o corticosteróide predispõe o paciente à infecção parasitária aliado ao efeito imunossupressor (particularmente o efeito nos eosinófilos, importantes mediadores da resposta imune à larva do *S. stercoralis*), ou que a ação do corticosteróide tem um efeito direto sobre os parasitos, precipitando a disseminação do *S. stercoralis* (Fardet *et al.*, 2007).

A estrongiloidíase disseminada acarreta o envolvimento de vários órgãos, com mortalidade podendo ocorrer em até 87% dos casos (Olsen *et al.*, 2009). Os sinais clínicos são inespecíficos com envolvimento gastrointestinal e pulmonar. Sepsé pode ocorrer pois o *Strongyloides* sp. facilita a translocação de enterobactérias através da mucosa intestinal (Ribeiro *et al.*, 2005; Fardet, *et al.*, 2007; Luna *et al.*, 2007). Lesões cutâneas são raras, e geralmente estão localizadas na região peri-umbilical, podendo se estender rapidamente de forma centrífuga para outras partes do corpo. Essa lesão é causada pela migração da larva filarióide através da derme. A melhor estratégia de prevenção das formas graves é identificar e tratar pacientes infectados e os de alto risco. O diagnóstico definitivo de estrongiloidíase disseminada é baseado nos achados de larvas nas fezes, na secreção traqueal, no lavado brônquico, no aspirado gástrico ou em biopsias. (Luna *et al.*, 2007).

A eosinofilia comumente encontrada em algumas parasitoses intestinais, inclusive na estrongiloidíase, é menos frequente na forma disseminada da doença à medida que a infecção se agrava (Ribeiro *et al.*, 2005; Agrawal *et al.*, 2009), o que também dificulta o diagnóstico e explica o não tratamento dos pacientes com infecção por *S. stercoralis* antes da morte (Fardet *et al.*, 2007). Eosinófilos e anticorpos são importantes no desenvolvimento dos mecanismos inato e adaptativo do sistema imunológico contra as larvas do *S. stercoralis*. Em indivíduos com estrongiloidíase severa os níveis de eosinófilos, assim como os níveis de IgG e IgM, são menores que em indivíduos assintomáticos ou oligossintomáticos (Iriemenam *et al.*, 2010).

São raros os casos de mortes ocorridas por helmintoses intestinais, porém o resultado pelo impacto destes agentes patológicos aumenta em relação à saúde dos seres humanos, com o aparecimento de diversos problemas secundários de saúde (Harris, 2011).

2.5. Diagnóstico

O diagnóstico da estrogiloidíase depende da identificação das larvas e não ovos em amostras fecais (Iriemenam, *et al.*, 2010) através do teste de Rugai, Mattos & Brisola (1954), baseada no termo-hidrotropismo das larvas filarióides. O problema é a dificuldade de se detectar as larvas nas fezes sendo que a maioria dos casos envolve uma infecção crônica com poucas larvas sendo eliminadas nas fezes e de forma irregular. Outra alternativa de diagnóstico direto é a detecção de larvas em fluído duodenal, lavado brocoalveolar e líquido pleural em pacientes com hiperinfecção (Muro *et al.*, 2010).

O imunodiagnóstico é um método que se baseia na detecção de anticorpos específicos contra o *Strongyloides*. A limitação deste teste está na dificuldade de se obter quantidades suficientes de larvas do *S. stercoralis* (Sudré *et al.*, 2007; Muro *et al.*, 2010). Desta forma, os autores demonstraram em trabalho publicado recentemente que o *S. venezuelensis*, facilmente mantido em laboratório é uma potencial alternativa no imunodiagnóstico da estrogiloidíase em humanos. O que facilitaria a obtenção de larvas para o teste de diagnóstico (Rigo *et al.*, 2008; Feliciano *et al.*, 2010).

Existem pesquisas envolvendo o uso de técnicas moleculares para o diagnóstico de parasitas, incluindo os nematódeos (Hunt, 2011).

2.6. Tratamento

Vários fármacos já foram utilizados para tratar a estrogiloidíase e muitos foram abandonados por não serem eficazes ou por serem tóxicos.

O tiabendazol surgiu em 1961, foi o primeiro benzimidazólico a ser introduzido no mercado desde o relato da doença por Normand, e com amplo espectro de ação contra helmintos intestinais, mostrando eficácia no tratamento da estrogiloidíase (Grove, 1989) sendo o fármaco de escolha para humanos (Pires e Dreyer, 1993), seguido do albendazol (Adell e Márquez, 2007; Carranza-Rodríguez *et al.*, 2010), e atualmente a ivermectina (Develoux, 2004), fármaco

comumente utilizado contra parasitoses na medicina veterinária desde 1985 (Amato Neto *et al.*, 1997; Pérez-Molina *et al.*, 2009; Muro *et al.*, 2010).

De forma geral, os antiparasitários atuam no metabolismo biossintético enquanto que os anti-helmínticos afetam o metabolismo energético das proteínas estruturais (microtúbulos) ou da função neuromuscular. Os benzimidazólicos (albendazol, tiabendazol) são inibidores de enzimas provocando danos irreversíveis nas células gastrointestinais dos nematódeos, resultando na inativação, morte e expulsão do verme pelo hospedeiro. A ivermectina atua na alteração do sistema neuromuscular aumentando, a permeabilidade de membrana criando canais neuromusculares de cloro, produzindo uma hiperpolarização e paralisia muscular (Carranza-Rodríguez *et al.*, 2010).

O cambendazol, utilizado pela primeira vez em gado e ovelhas por diferentes pesquisadores em 1970, mostrou-se com amplo espectro anti-helmíntico. Apesar das reações severas observadas em estudo com gado, o primeiro relato do uso deste fármaco em humanos foi em 1976 e tem sido utilizado por centenas de pacientes com strongiloidíase, principalmente após falha no tratamento com tiabendazol (Grove, 1989).

Adell e Márquez (2007) em uma área endêmica na comarca de La Safor (Valencia) realizaram um estudo comparativo entre três tipos de protocolos para o tratamento da strongiloidíase não disseminada: tiabendazol 25 mg/kg/12 h durante 2 dias, ivermectina em dose única de 200 µg/kg/dia e a mesma dose da ivermectina em 2 dias consecutivos. O tratamento com a ivermectina durante 2 dias resultou na terapia mais eficaz para a eliminação do parasita, com melhores parâmetros biológicos. Nesse trabalho os autores também enfatizaram a eficiência da ivermectina, com cerca de 100% de cura, exceto nas formas disseminadas da parasitose. Por ser um medicamento que deva ser utilizado com ressalvas em humanos o albendazol ainda é o mais indicado.

Em uma série de pacientes que apresentavam associação entre strongiloidíase e AIDS, o uso do tiabendazol foi ineficaz em quase sua totalidade, porém notou-se que com a administração de ivermectina na dose de 200µg/kg, estes pacientes foram considerados curados (Cimerman *et al.*, 2006).

Em um estudo na medicina veterinária, o febendazol pertencente à segunda geração benzimidazólica, tem-se demonstrado bastante eficaz contra uma grande variedade de parasitas

incluindo o *Strongyloides* spp., em diversas espécies de animais domésticos e também de algumas silvestres (Brittany Henggem, 2008).

Amato Neto *et al.* (1997) trataram experimentalmente ratos infectados pelo *S. venezuelensis*, por meio da ivermectina. A administração foi feita por via oral, e constatou-se ação significativa nas formas larvárias e adultas, o que certamente contribui para o tratamento da estrongiloidíase disseminada.

Em outro estudo foram utilizados a ivermectina e o levamisol na forma injetável também em ratos experimentalmente infectados pelo *S. venezuelensis*, e demonstrou a eficácia tanto para a forma larvária quanto para a forma adulta do parasita. Sendo que a ivermectina demonstrou uma discreta superioridade para a fase larvária enquanto o segundo para os parasitas adultos (Campos *et al.*, 1989).

Em humanos, a ivermectina é atualmente mais utilizada para o tratamento da infecção oncocercótica e comumente utilizada contra ectoparasitas. E de acordo com os autores, pode-se cogitar a possibilidade da prescrição deste fármaco e também do levamisol na terapêutica destinada a enfermos parasitados pelo *S. stercoralis*, sobretudo na sua forma grave (Campos *et al.* 1989; Amato Neto *et al.* 1997; Carranza-Rodríguez *et al.*, 2010).

Contudo, a ivermectina tem sido relatada como um anti-helmíntico resistente no uso na medicina veterinária (Keiser *et al.*, 2008).

De acordo com Carranza-Rodríguez *et al.* (2010), dentre todos os antiparasitários, as reações adversas dos fármacos utilizados para controle da estrongiloidíase são consideradas relativamente pequenas, com acometimento principalmente gastrointestinal como náuseas, vômitos, dor abdominal e diarreia. Podem ocorrer alterações nas provas de avaliação da função hepática. Tais reações ocorrem principalmente quando se administra as doses por períodos prolongados de tratamento.

Os efeitos tóxicos do tiabendazol por não serem bem descritos na literatura como relatam Jamieson *et al.* (2011), foram avaliados em testes *in vitro* com culturas de células onde constataram nefrotoxicidade, hepatotoxicidade, teratogenicidade e cancerogenicidade associadas ao uso deste fármaco, enfatizando a importância da descoberta de novos fármacos (Harris, 2011; Hunt, 2011).

A identificação de dois tipos de resposta imune necessárias para proteção imunológica contra helmintos intestinais, e a identificação do mediador exato da expulsão ou morte dos helmintos são importantes para o desenvolvimento de vacinas no controle destas doenças parasitárias (Harris, 2011).

Knopp *et al.* (2011), demonstraram a redução do número de indivíduos infectados por helmintos incluindo o *S. stercoralis*, em Unguja, Tanzânia devido ao programa de controle da morbidade, da Organização Mundial de Saúde. Neste programa o enfoque estava no estabelecimento de investigação epidemiológica adequada, tratamento quimioterápico de forma preventiva e em larga escala na população em risco, crianças com idade escolar; melhoria das condições sanitárias e programas de educação.

2.7. Plantas medicinais

Muitos estudos estão sendo realizados com uso de plantas medicinais contra parasitas nematódeos, tanto em testes *in vitro* como *in vivo*. Ademola *et al.* (2005) trataram por via oral, em diferentes concentrações de extrato etanólico de *Spondias mombin*, conhecida popularmente como Cajá; ovinos infectados naturalmente por diferentes nematódeos gastrointestinais, *Haemonchus* spp., *Trichostrongylus* spp., *Oesophagostomum* spp., *Strongyloides* spp. e *Trichuris* spp. apresentando redução na média de porcentagem de ovos na dose de 500 mg/kg em 15%, 27,5%, 65%, 65% e 100% respectivamente. E a presença de extrato aquoso de *S. mombin* em cultivos de larvas *in vitro* diminuiu a sobrevivência das larvas L3 na dose de 0,907 mg/mL e com extrato etanólico em 0,456 mg/mL no período de 7 dias de incubação a 27° C.

Nascimento *et al.* (2009), testaram o efeito anti-helmíntico do hidrolato de *Mentha villosa* em nematóides gastrointestinais de bovinos, tanto *in vitro*, pelo método de coprocultura quantitativa, quanto *in vivo*, por meio do teste de redução no número de ovos de nematóides nas fezes do hospedeiro. Os resultados do teste *in vitro* apresentaram atividade ovicida significativa sobre os nematóides gastrointestinais de bezerras quando comparados ao teste *in vivo*.

Paul *et al.* (2011) em trabalho de revisão, relatam o efeito anti-helmíntico *in vitro* realizado na Jamaica, sobre larvas infectantes de *S. stercoralis* utilizando o extrato da planta *Eryngium foetidum*.

Hördegen *et al.* (2006) e Nascimento *et al.* (2009) também enfatizam o aumento no interesse das plantas medicinais contra as parasitoses na medicina veterinária em relação aos anti-helmínticos sintéticos por estes apresentarem problemas, como altos custos, perigo de contaminação ambiental decorrente da excreção de fármacos não metabolizados nas fezes, em se tratando do uso em bovinos (Molento, 2009) e preocupação do consumidor com relação aos resíduos de fármacos nos produtos de origem animal, como carne e leite, além da resistência de nematóides aos fármacos.

Apesar das pesquisas promissoras, faz-se necessário o estudo de novos medicamentos mais eficazes, menos tóxicos e com menor impacto ambiental para o tratamento da strongiloidíase.

3. OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho incluíram:

- Obter extratos etanólicos das folhas de 25 espécies de árvores frutíferas.
- Avaliar o efeito anti-helmíntico, por meio de testes *in vitro*, dos extratos etanólicos sobre fêmeas parasitas de *S. venezuelensis*.
- Realizar o fracionamento químico dos extratos etanólicos que apresentarem melhores atividades anti-helmínticas e testar a atividade *in vitro* das frações.
- Determinar a DL_{50} das amostras em relação às concentrações testadas.
- Comparar o efeito dos extratos e frações com o de outros fármacos utilizados no tratamento da estrogiloidíase.

4. JUSTIFICATIVA

De acordo com a literatura, a estrogiloidíase possui uma alta prevalência tanto em humanos quanto nos animais.

A maioria dos pacientes infectados com o *S. stercoralis* é assintomática, porém a infecção pode acarretar em sérios problemas pulmonares e gastrointestinais, principalmente em indivíduos imunossuprimidos.

Em vista da grande resistência do *S. stercoralis* aos fármacos sintéticos atualmente disponíveis no mercado, há necessidade de se buscar novas alternativas terapêutica como exemplo o uso de fitoterápicos visando obtenção de medicamentos mais eficazes e seguros para o tratamento da estrogiloidíase, uma vez que grande parte dos fármacos utilizados na medicina é proveniente de plantas.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Material vegetal

Todas as plantas utilizadas nos testes foram coletadas no pomar do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas da UNICAMP (CPQBA), localizado em Paulínia, SP, sob responsabilidade da Dra. Glyn Mara Figueira e MSc. Benício Pereira.

5.1.1. Extratos etanólicos e frações

Os extratos etanólicos e as frações foram obtidos na Divisão de Química Orgânica e Farmacêutica do CPQBA, sob responsabilidade da Prof^a. Dr^a. Vera Lúcia Garcia Rehder.

Foram utilizados para o teste *in vitro* 25 extratos etanólicos, obtidos através das folhas secas e moídas de árvores frutíferas. Dentre os extratos testados os que mostraram maior efeito anti-helmíntico foram fracionados com o objetivo de obter uma fração mais ativa que o extrato bruto. A fração orgânica, obtida através de diclorometano e a fração aquosa utilizando acetona e água.

A tabela 1 apresenta a listagem das plantas utilizadas para a obtenção dos extratos testados.

Tabela 1. Listagem das plantas utilizadas na obtenção dos extratos testados

Família	Nome científico	Nome popular	Código da planta no CPQBA
Anacardiaceae	<i>Spondias dulcis</i>	Cajá-manga	50
	<i>Spondias lutea</i>	Cajá	01
Arecaceae	<i>Butia capitata</i>	Butiá	132
Celastraceae	<i>Salacia elliptica</i>	Siputá	104
Fabaceae	<i>Inga cylindrica</i>	Ingá-mirim	80
Jungladaceae	<i>Carya illinoensis</i>	Noz pecan	31
Malpighiaceae	<i>Byrsonima crassifolia</i>	Murici	15
Myrtaceae	<i>Aceima smeithii</i>	Mini-jambo	08
	<i>Eugenia brasiliensis</i>	Grumixama	38
	<i>Eugenia involucrata</i>	Cereja-do-Rio-Grande	28
	<i>Eugenia uniflora</i>	Pitanga	60
	<i>Eugenia pyriformis</i>	Uvaia	04
	<i>Hexachlamys edulis</i>	Uvaia-do-campo	51
	<i>Myrciantes pungens</i>	Guabijú	124
	<i>Psidium cattleianum</i>	Araçá-do-mangue	53
Proteaceae	<i>Macadamia integrifolia</i>	Noz macadamia	103
Sapindaceae	<i>Dimocarpus longan</i>	Longana	17
	<i>Litchi chinensis</i>	Lichia	44
Sapotaceae	<i>Lambramia bojeri</i>	Abricó-da-praia	115
	<i>Lucuma caimito</i>	Abiu	66
	<i>Minikara zapota</i>	Sapoti	16
	<i>Pouteria caimito</i>	Caimito	48
	<i>Pouteria campachiana</i>	Canistel	81
Tiliaceae	<i>Muntingia calabura</i>	Calabura	36
Urticaceae	<i>Pourouma cecropiifolia</i>	Mapati	69

5.1.2. Obtenção dos extratos etanólicos

Os extratos etanólicos foram obtidos utilizando Polytron, a partir de 10,00 g de folhas secas e moídas de cada planta estudada, com 150 mL de etanol 96% durante 5 minutos a 10.000 rpm. Os extratos foram filtrados em funil de placa porosa.

Recolheu-se em um béquer, o resíduo da planta que permaneceu no funil de placa porosa.

Para melhor aproveitamento da planta os resíduos da filtração foram re-extraídos com mais 150 mL de etanol seguindo o mesmo procedimento.

Os extratos obtidos das duas extrações foram agrupados em balão de fundo redondo de 500 mL e submetido à secagem no rotaevaporador.

5.1.3. Fracionamento dos extratos etanólicos ativos

Em erlenmeyer de 250 mL foi adicionado 1,33 g do extrato seco de Cajá acrescidos de 50 mL de água destilada e levado ao ultrassom para solubilização, em seguida transferido para o funil de separação. No mesmo erlenmeyer foram adicionados 50 mL de acetona, levado ao ultrassom novamente e adicionada ao funil. Esse processo se repetiu por mais uma vez, onde foram adicionados 50 mL de diclorometano. O processo de agitação foi de 60 segundos repetido por duas vezes com 50 mL de diclorometano. O recolhimento foi feito em um erlenmeyer de 500 mL para a fase orgânica e outro de 250 mL para a fase aquosa. Ambas as amostras foram levadas ao rotaevaporador para secagem. O mesmo procedimento foi adotado para obtenção das frações aquosa e orgânica a partir de 1g do extrato etanólico de Caimito.

O processo utilizado na preparação dos extratos etanólicos e das partições estão exemplificados nos fluxogramas cedidos pelo CPQBA (Figuras 01 e 02).

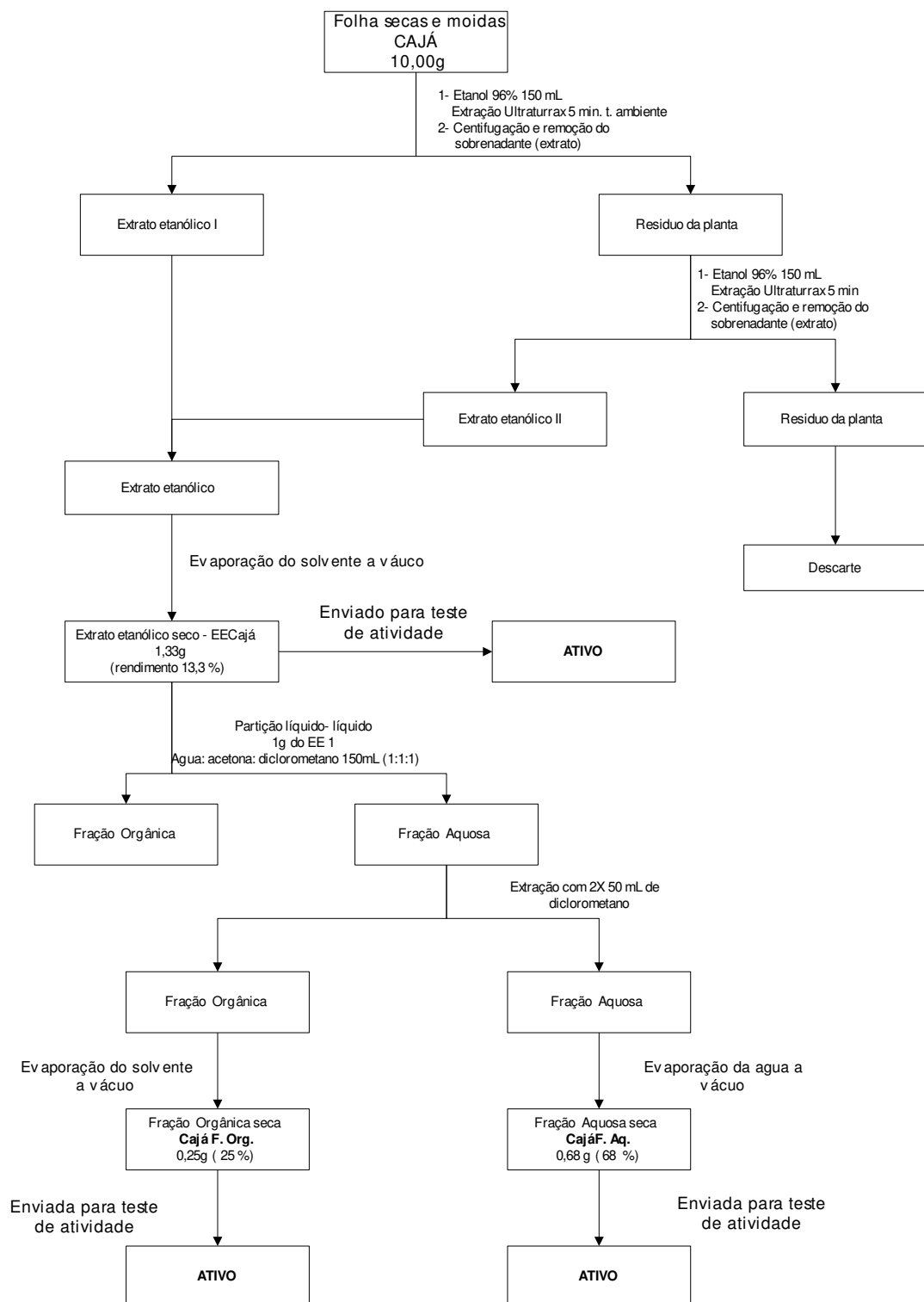


Figura 1. Fluxograma do extrato de Cajá.

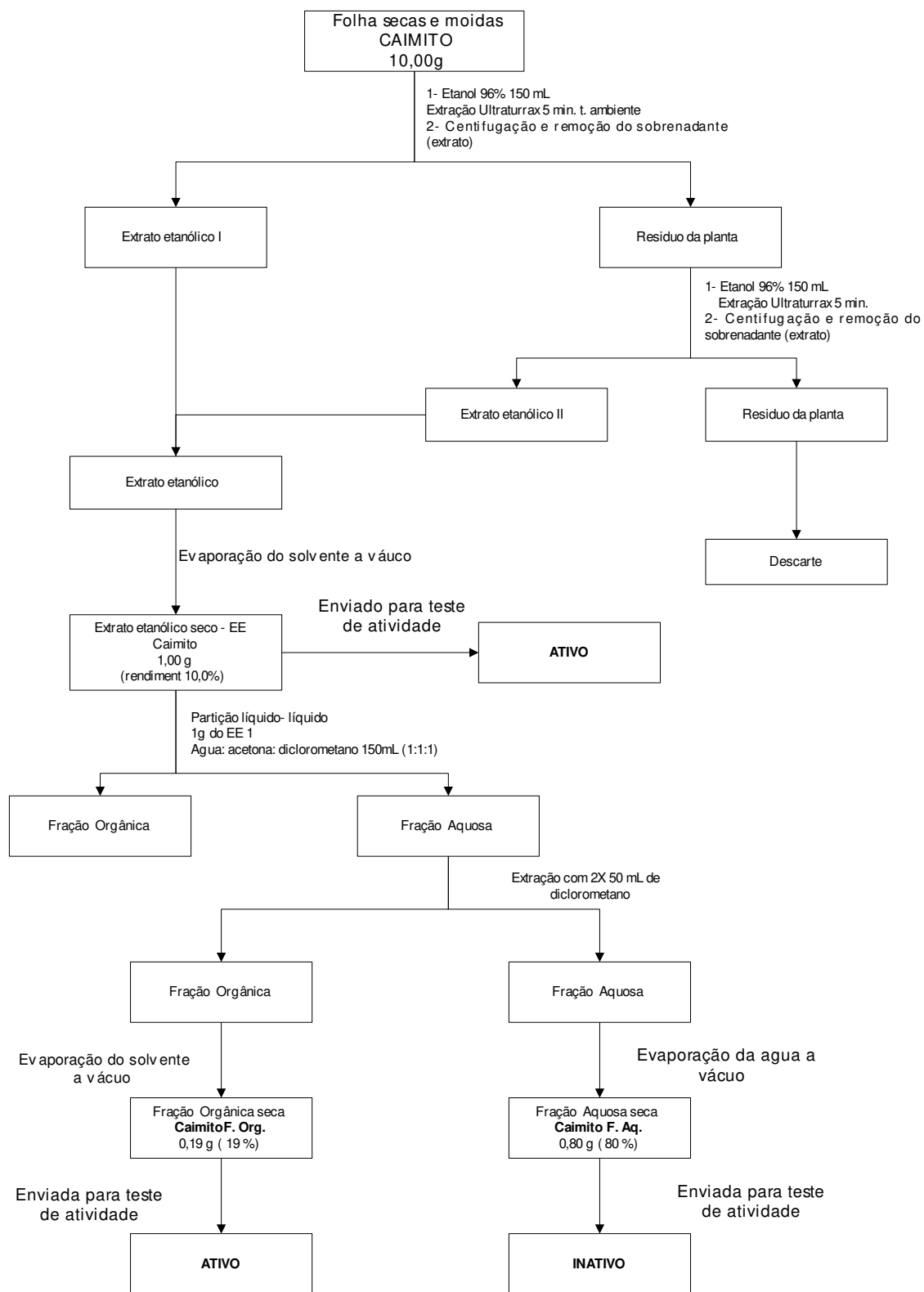


Figura 2. Fluxograma do extrato de Caimito.

5.2. Modelo biológico

5.2.1. *Strongyloides venezuelensis*

S. venezuelensis, linhagem isolada de roedor silvestre, *Bolomys lasiurus* desde 1986 e mantida em passagens sucessivas em *Rattus norvegicus*, linhagem Wistar, machos com 30 dias de idade, livres de pressão de fármacos, provenientes do Cemib-Unicamp e mantidos no biotério do Departamento de Biologia Animal - Parasitologia do Instituto de Biologia da UNICAMP.

5.2.2. Obtenção de fêmeas parasitas

As larvas filarióides (L3) foram obtidas através de coprocultura dos ratos infectados rotineiramente para a manutenção das cepas de *S. venezuelensis*. As fezes de ratos infectados coletadas foram maceradas utilizando água deionizada, homogeneizadas com carvão animal granulado e mantidas em estufa por 48 horas a 27° C. As larvas foram concentradas pelo método de Rugai, Mattos & Brisola (1954), e utilizadas para infectar ratos Wistar por injeção via subcutânea na região abdominal.

No décimo quinto dia de infecção, os ratos foram eutanasiados e excisado de cada animal, 15 cm de seu intestino delgado, seccionado longitudinalmente, lavado em solução salina estéril a 0,15 mol/L e colocado individualmente em placa de Petri contendo meio de cultura RPMI 1640 e mantido em estufa com temperatura de 37°C por uma hora. Em seguida, as fêmeas partenogênicas parasitas foram coletadas.

5.3. Controle farmacológico

Para o controle farmacológico (controle positivo) foram utilizados três fármacos sintéticos, o albendazol (medicamento genérico da marca EMS, 400 mg), cambendazol

(Cambem®, UCI-farma, 180 mg) e ivermectina (Ivermec®, UCI-farma, 6 mg) todos comercialmente encontrados no mercado para o tratamento da estrogiloidíase.

5.4. Teste *in vitro*

5.4.1. Preparo das concentrações

Tanto os extratos das plantas quanto os fármacos (albendazol, cambendazol e ivermectina) foram pesados em balança analítica, diluídos em solução de tampão PBS 2% (Phosphate Buffered Saline) com auxílio de ultrassom e dispostos em uma placa de cultura de 24 poços contendo meio de cultura RPMI 1640 penicilina/estreptomicina, onde foram testadas em triplicata em 3 concentrações diferentes, 0,2 mg/mL (C1); 0,1 mg/mL (C2) e 0,05 mg/mL (C3).

5.4.2. Procedimento *in vitro*

Todo o material utilizado para o teste *in vitro* foi cuidadosamente lavado e esterilizado em autoclave. E o procedimento realizado em bancada de fluxo laminar.

Foram feitos testes *in vitro* utilizando como meio de cultura o RPMI 1640 acrescido de antibiótico (penicilina 10.000.000 UI/L; estreptomicina 10 g/L).

Em uma placa de cultura foram dispostos aleatoriamente em poços, 4 grupos de estudo, sendo 3 grupos para diferentes concentrações (C1 = 0,2 mg/mL, C2 = 0,1 mg/mL, C3 = 0,05 mg/mL) do composto a ser testado (extratos etanólicos, fármacos, frações aquosa ou orgânica, e um grupo controle (C). Todos em triplicatas. Cada poço dispunha de 1,8 mL de meio RPMI/antibiótico mais 0,2 mL do composto a ser testado solubilizados em PBS 2% totalizando 2 mL. Para o grupo controle foi utilizado apenas RPMI/antibiótico e PBS 2%.

Foram colocados 2 vermes adultos (fêmeas parasitas) em cada um destes poços. Portanto, para cada grupo de concentração testada havia um total de seis vermes.

A placa foi incubada a 37°C com CO₂ a 5% (Thermo electron corporation - Revco) e as observações foram feitas em microscópio óptico invertido (Leica DMIL). As observações foram realizadas de hora em hora nas primeiras 6 horas, depois de 12 horas e a cada 24 horas nas 72 horas seguintes, avaliando ovoposição, motilidade dos vermes (baixa, moderada, alta, ausente) e mortalidade.

5.5. Determinação da DL₅₀

O cálculo da dose letal mediana (DL₅₀) das amostras testadas foi feito utilizando o programa Origin 7.

5.6. Análise estatística

Para a análise estatística dos dados obtidos foi aplicado o teste de análise de variância entre medidas repetidas MANOVA com o auxílio do programa SAS, com índice de significância de $p < 0,0001$.

Para correlação entre os dados de tempo, motilidade, efeito e concentração do extrato foi utilizado o Duncan's Multiple Range Test.

6. RESULTADOS

6.1. Rendimento das plantas

Os rendimentos para obtenção dos extratos etanólicos das plantas estudadas em relação à massa inicial de 10,00 g cada uma, variou de 1,3 a 29% (*P. campachiana* e *E. brasiliensis* respectivamente), sendo que estes foram os valores correspondentes às quantidades encaminhadas para os testes *in vitro*, como mostra a tabela 2.

Tabela 2: Rendimento dos extratos etanólicos das plantas

Nome científico	Nome popular	Massa inicial (g)	Rendimento	
			EE (g)	EE (%)
<i>Spondias lutea</i>	Cajá	10,00	1,73	17,3
<i>Pouteria caimito</i>	Caimito	10,00	1,99	19,9
<i>Psidium cattleianum</i>	Araçá-do-mangue	10,00	1,78	17,8
<i>Inga fagifolia</i>	Ingá-mirim	10,00	0,99	9,9
<i>Minikara zapota</i>	Sapoti	10,00	1,53	15,3
<i>Eugenia pyriformis</i>	Uvaia	10,00	1,87	18,7
<i>Lambramia bojeri</i>	Abriçó-da-praia	10,00	2,15	21,5
<i>Myrcianthes pungens</i>	Guabijú	10,00	1,04	10,4
<i>Byrsonima crassifolia</i>	Murici	10,00	0,76	7,6
<i>Eugenia brasiliensis</i>	Grumixama	10,00	2,90	29
<i>Muntingia calabura</i>	Calabura	10,00	1,03	10,3
<i>Carya illinoensis</i>	Noz pecan	10,00	1,21	12,1
<i>Hexachlamys edulis</i>	Uvaia-do-campo	10,00	1,96	19,6
<i>Eugenia uniflora</i>	Pitanga	10,00	1,08	10,8
<i>Lucuma caimito</i>	Abiu	10,00	2,28	22,8
<i>Pourouma cecropiifolia</i>	Mapati	10,00	0,78	7,8
<i>Pouteria campachiana</i>	Canistel	10,00	1,30	1,3
<i>Salacia elliptica</i>	Siputá	10,00	2,24	22,4
<i>Macadamia integrifolia</i>	Noz macadamia	10,00	0,70	7
<i>Spondias dulcis</i>	Cajá-manga	10,00	2,10	21
<i>Dimocarpus longan</i>	Longana	10,00	1,25	12,5
<i>Litchi chinensis</i>	Lichia	10,00	1,47	14,7
<i>Aceima smeithii</i>	Mini-jambo	10,00	1,27	12,7
<i>Eugenia involucrata</i>	Cereja-do-Rio-Grande	10,00	0,83	8,3
<i>Butia capitata</i>	Butiá	10,00	1,24	12,4

EE: extrato etanólico

6.2. Testes *in vitro*

As fêmeas parasitas eliminaram números similares de ovos, independente da substância ou concentração testada em comparação ao grupo controle com adição apenas de PBS 2% em meio de cultura RPMI/antibiótico.

Para todos os testes, o grupo controle se manteve vivo durante as 72 horas de observação e com motilidade de alta.

6.3. Comparação da motilidade dos vermes

A motilidade dos vermes pode ser avaliada pela comparação entre médias das amostras testadas em relação ao tempo de observação. Na tabela 3, é possível notar nas médias destacadas, as amostras que demonstraram melhores atividades contra fêmeas parasitas *S. venezuelensis*, são elas: *S. lutea*, *P. caimito*, *P. cattleyanum*, *I. cylindrica*, *M. zapota*, *E. pyriformis*, *L. bojeri*, *M. pungens*, *B. crassifolia*, *E. brasiliensis*, *M. calabura*, *C. illinoensis*, *H. edulis*, *E. uniflora* e *P. cecropiifolia*.

Alguns extratos provocaram alterações na motilidade logo nas primeiras horas, porém não foram eficientes ao ponto de matá-la como *P. cecropiifolia*, *C. illinoensis*, *E. brasiliensis*, *L. bojeri*, *E. pyriformis*, *M. zapota*, *I. cylindrica*.

De acordo com a análise estatística, o teste de MANOVA considerou significativo ($p < 0,0001$) o efeito do tempo em relação a motilidade dos vermes, e o efeito do extrato e da concentração em relação ao tempo. Também foi considerado significativo ($p < 0,0001$) o efeito do extrato e da concentração na motilidade dos vermes.

Tabela 3: Média da motilidade dos vermes nos diferentes tempos de observação: 1-6 horas (T1), 12 horas (T2), 24 horas (T3), 48 horas (T4) e 72 horas (T5). Considerando a escala: 0 (ausência); 1 (pouco); 2 (moderado); 3 (bastante). Médias com a mesma letra (Duncan Grouping) não são significativamente diferentes.

Motilidade dos vermes X Tempo de observação						
Identificação das amostras		Média				
		Grupos				
	Nome científico	T1	T2	T3	T4	T5
EE	<i>Spondias lutea</i>	3.00 (a)	2.38 (d,c)	0.83 (l, k)	0.00 (l)	0.00 (m)
FA	<i>Spondias lutea</i>	3.00 (a)	3.00 (a)	2.11 (f, h, e, g)	1.00 (i, g, h)	0.61 (k, j, i, h)
FO	<i>Spondias lutea</i>	3.00 (a)	2.77 (a, b)	1.83 (h, g)	0.00 (l)	0.00 (m)
EE	<i>Pouteria caimito</i>	3.00 (a)	1.61 (h, i)	1.33 (j)	0.27 (l, k)	0.00 (m)
FA	<i>Pouteria caimito</i>	3.00 (a)	1.72 (h, g)	0.55 (l)	0.27 (l, k)	0.00(m)
FO	<i>Pouteria caimito</i>	3.00 (a)	3.00 (a)	3.00 (a)	3.00 (a)	2.83 (a)
EE	<i>Psidium cattleyanum</i>	3.00 (a)	1.55 (h, i)	0.83 (l, k)	0.55 (j, k)	0.44 (k, j, l)
EE	<i>Inga cylindrica</i>	1.83 (d)	1.27 (i)	1.00 (j, k)	0.72 (i, j)	0.16 (m, l)
EE	<i>Minikara zapota</i>	2.16 (c)	2.22 (e, d, f)	1.22 (j, k)	0.66 (i, j, k)	0.61 (k, j, i, h)
EE	<i>Eugenia pyriformis</i>	2.50 (b)	2.44 (b, d, c)	1.77 (h)	0.77 (i, j)	0.55 (k, j, i, l)
EE	<i>Lambramia bojeri</i>	2.50 (b)	1.88 (h, g, f)	1.72 (h, i)	0.61 (i, j, k)	0.44 (k, j, l)
EE	<i>Myrciantes pungens</i>	3.00 (a)	2.72 (b, a, c)	2.22 (f, d, e, g)	0.83 (i, j, h)	0.33 (k, m, l)
EE	<i>Byrsonima crassifolia</i>	3.00 (a)	2.00 (e, g, f)	1.22 (j, k)	0.55 (j, k)	0.27 (k, m, l)
EE	<i>Eugenia brasiliensis</i>	2.50 (b)	2.00 (e, g, f)	1.38 (j, i)	0.61 (i, j, k)	0.50 (k, j, l)
EE	<i>Muntingia calabura</i>	3.00 (a)	2.88 (a)	2.27 (f, d, e)	1.27 (f, g)	0.55 (k, j, i, l)
EE	<i>Carya illinoensis</i>	2.50 (b)	2.27 (e, d)	2.00 (f, h, g)	1.22 (f, g)	0.77 (g, j, i, h)
EE	<i>Hexachlamys edulis</i>	3.00 (a)	2.00 (e, g, f)	1.83 (h, g)	1.16 (f, g, h)	0.77 (g, j, i, h)
EE	<i>Eugenia uniflora</i>	3.00 (a)	2.33 (e, d)	2.11 (f, h, e, g)	1.27 (f, g)	0.44 (k, j, l)
EE	<i>Lucuma caimito</i>	3.00 (a)	3.00 (a)	2.61 (b, d, a, c)	1.94 (c, b, d)	1.00 (g, f, h)
EE	<i>Pourouma cecropiifolia</i>	2.55 (b)	2.38 (d, c)	2.38 (f, d, e, c)	2.27 (b)	0.94 (g, i, h)
EE	<i>Pouteria campachiana</i>	3.00 (a)	3.00 (a)	3.00 (a)	2.00 (c, b, d)	1.50 (c, e, b, d)
EE	<i>Salacia elliptica</i>	3.00 (a)	2.77 (b, a)	2.50 (d, e, c)	2.00 (c, b, d)	1.16 (g, e, f)
EE	<i>Macadamia integrifolia</i>	3.00 (a)	3.00 (a)	2.94 (b, a)	2.22 (c, b)	1.77 (c, b)
EE	<i>Spondias dulcis</i>	2.94 (a)	2.94 (a)	2.94 (b, a)	2.94 (a)	1.83 (b)
EE	<i>Dimocarpus longan</i>	3.00 (a)	3.00 (a)	3.00 (a)	1.77 (e, d)	1.38 (c, e, d)
EE	<i>Litchi chinensis</i>	3.00 (a)	3.00 (a)	2.77 (b, a, c)	1.83 (c, d)	1.55 (c, e, b, d)
EE	<i>Aceima smeithii</i>	3.00 (a)	3.00 (a)	2.50 (d, e, c)	2.00 (c, b, d)	1.61 (c, b, d)
EE	<i>Eugenia involucrata</i>	3.00 (a)	3.00 (a)	3.00 (a)	3.00 (a)	3.00 (a)
EE	<i>Butia capitata</i>	3.00 (a)	3.00 (a)	3.00 (a)	3.00 (a)	3.00 (a)
CF	<i>Cambendazol</i>	3.00 (a)	3.00 (a)	2.55 (b, d, c)	1.44 (f, e)	1.33 (e, f, d)
CF	<i>Albendazol</i>	3.00 (a)	3.00 (a)	3.00 (a)	3.00 (a)	3.00 (a)
CF	<i>Ivermectina</i>	3.00 (a)	3.00 (a)	3.00 (a)	1.94 (c, b, d)	1.77 (c, b)
CONT	<i>Controle (RPMI)</i>	3.00 (a)	3.00 (a)	3.00 (a)	3.00 (a)	3.00 (a)

6.4. Comparação da mortalidade dos vermes

É possível observar na tabela 4, a mortalidade total dos vermes e a determinação da DL₅₀ nos diferentes extratos, frações e fármacos. O extrato etanólico de *S. lutea* apresentou atividade anti-helmíntica nas 3 concentrações, com 100% de mortalidade dos vermes ao final de 72 horas de observação, assim como a fração orgânica de *S. lutea*, o extrato etanólico de *P. caimito* e a fração aquosa de *P. caimito* (tabela 5). O extrato etanólico de *I. cylindrica* apresentou mortalidade total de 83,33% dos vermes. Os extratos que apresentaram mortalidade de 100% nas concentrações de 0,2 e 0,1 mg/mL foram: *P. cattleianum*, *M. zapota*, *L. bojeri*, *M. pungens*, *B. crassifolia*, *E. brasiliensis* e a fração aquosa de *S. lutea*.

De um modo geral, os extratos apresentaram atividade anti-helmíntica em pelo menos uma das concentrações testadas, com exceção dos extratos etanólicos de *L. chinensis*, *A. smeithii*, *E. involucrata*, *B. capitata*, a fração orgânica de *P. caimito*, o cambendazol, o albendazol e a ivermectina, onde não foram constatadas mortes durante o período de observação.

Tabela 4: Mortalidade total dos vermes em relação às amostras testadas e suas correspondentes DL₅₀. Onde: EE (extrato etanólico), FA (fração aquosa), FO (fração orgânica), CF (controle farmacológico).

Identificação				
	Nome científico	Nome popular	DL ₅₀ (mg/mL)	Mortalidade total (%)
EE	<i>Spondias lutea</i>	Cajá	<0,05	100
FO	<i>Spondias lutea</i>	Cajá	<0,05	100
EE	<i>Pouteria caimito</i>	Caimito	<0,05	100
FA	<i>Pouteria caimito</i>	Caimito	<0,05	100
EE	<i>Inga cylindrica</i>	Ingá-mirim	<0,05	83,33
FA	<i>Spondias lutea</i>	Cajá	0,07	66,66
EE	<i>Psidium cattleianum</i>	Araçá-do-mangue	0,07	66,66
EE	<i>Lambramia bojeri</i>	Abricó-da-praia	0,07	66,66
EE	<i>Myrciastes pungens</i>	Guabijú	0,07	66,66
EE	<i>Eugenia brasiliensis</i>	Grumixama	0,07	66,66
EE	<i>Minikara zapota</i>	Sapoti	0,07	66,66
EE	<i>Byrsonima crassifolia</i>	Murici	0,07	72,22
EE	<i>Muntingia calabura</i>	Calabura	0,08	61,11
EE	<i>Eugenia uniflora</i>	Pitanga	0,08	61,11
EE	<i>Eugenia pyriformis</i>	Uvaia	0,09	55,55
EE	<i>Carya illinoensis</i>	Noz pecan	0,12	55,55
EE	<i>Pourouma cecropiifolia</i>	Mapati	0,12	50
EE	<i>Hexachlamys edulis</i>	Uvaia-do-campo	0,13	38,88
EE	<i>Lucuma caimito</i>	Abiu	0,15	33,33
EE	<i>Pouteria campachiana</i>	Canistel	0,15	33,33
EE	<i>Salacia elliptica</i>	Siputá	0,15	33,33
EE	<i>Dimocarpus longan</i>	Longana	0,2	22,22
EE	<i>Macadamia integrifolia</i>	Noz macadamia	>0,2	11,11
EE	<i>Spondias dulcis</i>	Cajá-manga	>0,2	5,55
FO	<i>Pouteria caimito</i>	Caimito	>0,2	0
EE	<i>Litchi chinensis</i>	Lichia	>0,2	0
EE	<i>Aceima smeithii</i>	Mini-jambo	>0,2	0
EE	<i>Eugenia involucrata</i>	Cereja-do-Rio-Grande	>0,2	0
EE	<i>Butia capitata</i>	Butiá	>0,2	0
CF	<i>Cambendazol</i>		>0,2	0
CF	<i>Albendazol</i>		>0,2	0
CF	<i>Ivermectina</i>		>0,2	0

Tabela 5: Mortalidade de 100% dos vermes para todas as concentrações testadas C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) em relação ao tempo de observação em horas. Onde: EE (extrato etanólico), FA (fração aquosa), FO (fração orgânica).

Mortalidade de 100% dos vermes					
Identificação			Concentração X Tempo		
	Nome científico	Nome popular	C1	C2	C3
EE	<i>Spondias lutea</i>	Cajá	24h	48h	48h
FO	<i>Spondias lutea</i>	Cajá	48h	48h	48h
EE	<i>Pouteria caimito</i>	Caimito	24h	48h	72h
FA	<i>Pouteria caimito</i>	Caimito	24h	48h	72h

A comparação entre as Famílias das plantas testadas em relação a mortalidade dos vermes nas diferentes concentrações durante o período total de observação de 72 horas pode ser observada na tabela 6. Porém, não houve uma repetição das famílias em relação aos extratos das plantas que apresentaram melhores atividades anti-helmíntica. Não havendo portanto um destacamento de apenas uma ou duas famílias.

Tabela 6: Mortalidade total dos vermes em comparação às Famílias das plantas nas concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL).

Identificação			Mortalidade			
			Concentração (%)			Total (%)
Família	Nome científico	Nome popular	C1	C2	C3	
Anacardiaceae	<i>Spondias dulcis</i>	Cajá-manga	0	16,66	0	5,55
	<i>Spondias lutea</i>	Cajá	100	100	100	100
Arecaceae	<i>Butia capitata</i>	Butiá	0	0	0	0
Celastraceae	<i>Salacia elliptica</i>	Siputá	100	0	0	33,33
Fabaceae	<i>Inga cylindrica</i>	Ingá-mirim	100	83,33	66,66	83,33
Jungladaceae	<i>Carya illinoensis</i>	Noz pecan	100	33,33	33,33	55,55
Malpighiaceae	<i>Byrsonima crassifolia</i>	Murici	100	100	16,66	72,22
Myrtaceae	<i>Aceima smeithii</i>	Mini-jambo	0	0	0	0
	<i>Eugenia brasiliensis</i>	Grumixama	100	100	0	66,66
	<i>Eugenia involucrata</i>	Cereja-do-Rio-Grande	0	0	0	0
	<i>Eugenia uniflora</i>	Pitanga	100	83,33	0	61,11
	<i>Eugenia pyriformis</i>	Uvaia	100	66,66	0	55,55
	<i>Hexachlamys edulis</i>	Uvaia-do-campo	100	16,66	0	38,88
	<i>Myrciantes pungens</i>	Guabijú	100	100	0	66,66
	<i>Psidium cattleianum</i>	Araçá-do-mangue	100	100	0	66,66
Proteaceae	<i>Macadamia integrifolia</i>	Noz macadamia	33,33	0	0	11,11
Sapindaceae	<i>Dimocarpus longan</i>	Longana	50	16,66	0	22,22
	<i>Litchi chinensis</i>	Lichia	0	0	0	0
Sapotaceae	<i>Lambramia bojeri</i>	Abricó-da-praia	100	100	0	66,66
	<i>Lucuma caimito</i>	Abiu	66,66	33,33	0	33,33
	<i>Minikara zapota</i>	Sapoti	100	100	0	66,66
	<i>Pouteria caimito</i>	Caimito	100	100	100	100
	<i>Pouteria campachiana</i>	Canistel	100	0	0	33,33
Tiliaceae	<i>Muntingia calabura</i>	Calabura	100	83,33	0	61,11
Urticaceae	<i>Pourouma cecropiifolia</i>	Mapati	100	50	0	50

6.5. Extrato etanólico de *Spondias lutea* (Cajá)

A concentração de 0,2 mg/mL apresentou as primeiras alterações quanto a motilidade (tabela 7) em 12 horas de observação com motilidade variando entre moderada e alta; e em 24 horas 100% dos vermes estavam mortos. Na concentração de 0,1 mg/mL as primeiras alterações de motilidade também ocorreram em 12 horas e as primeiras 2 mortes foram observadas em 24 horas. A concentração de 0,05 mg/mL teve uma pequena alteração de motilidade, observada em apenas 1 dos vermes com motilidade moderada após 12 horas. Em 24 horas, 1 verme estava morto e outro com motilidade alta, o restante com motilidade moderada. Tanto na concentração de 0,1 e 0,05 mg/mL, 100% dos vermes estavam mortos em 48 horas de observação (figura 3).

Tabela 7: Extrato etanólico de *Spondias lutea* (Cajá). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6		12		24		48		72	
C1 poço 1	+++	+++	++	++	-	-	-	-	-	-
C1 poço 2	+++	+++	++	++	-	-	-	-	-	-
C1 poço 3	+++	+++	+++	++	-	-	-	-	-	-
C2 poço 1	+++	+++	++	++	+	+	-	-	-	-
C2 poço 2	+++	+++	++	+++	+	-	-	-	-	-
C2 poço 3	+++	+++	++	++	+	-	-	-	-	-
C3 poço 1	+++	+++	+++	++	++	-	-	-	-	-
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	-	-	-
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	++	++	-	-	-	-
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

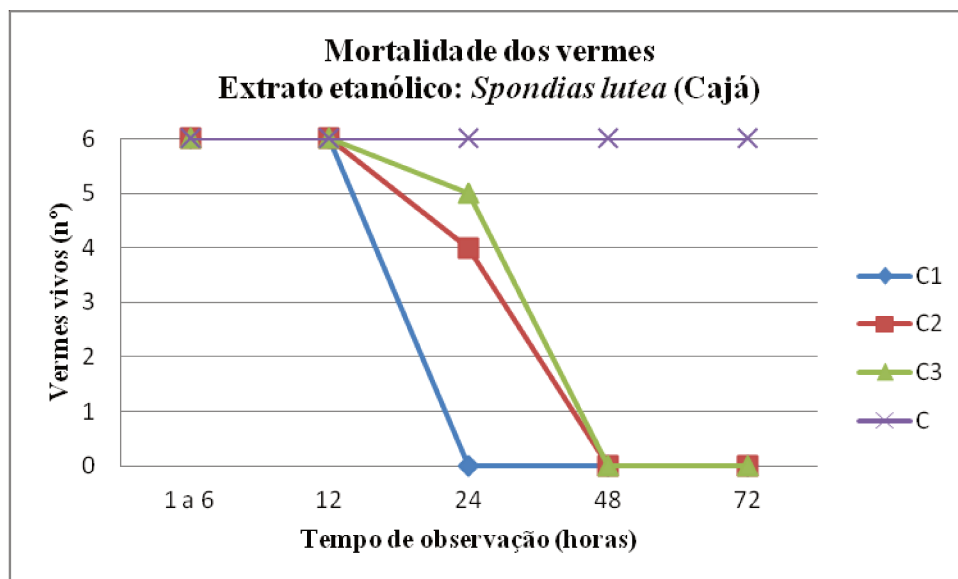


Figura 3: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.6. Fração aquosa do extrato de *Spondias lutea* (Cajá)

A fração aquosa do extrato de *S. lutea* apresentou atividade anti-helmíntica nas concentrações de 0,2 mg/mL, com 100% de vermes mortos em 48 horas e na concentração de 0,1 mg/mL, com 100% de vermes mortos em 72 horas. Na concentração de 0,05 mg/mL apenas foi observada uma alteração em relação à motilidade dos vermes (tabela 8).

Tabela 8: Fração aquosa do extrato etanólico de *Spondias lutea* (Cajá). A motilidade está indicada como +: pouca; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6	12	24	48	72					
C1 poço 1	+++	+++	+++	+++	++	++	-	-	-	-
C1 poço 2	+++	+++	+++	+++	+	+	-	-	-	-
C1 poço 3	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-
C2 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	-	-
C2 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	-	-
C2 poço 3	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	-	-
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	+
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

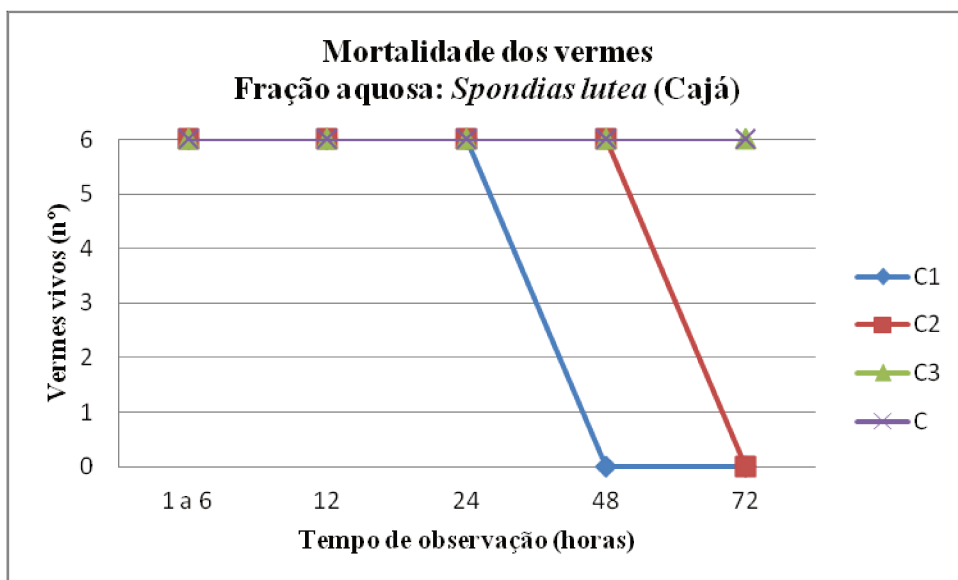


Figura 4: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.7. Fração orgânica do extrato de *Spondias lutea* (Cajá)

A fração orgânica do extrato de *S. lutea* apresentou atividade anti-helmíntica semelhante ao observado com o extrato etanólico bruto do *S. lutea*, como mostram as tabelas 7 e 9. A mortalidade de 100% dos vermes para todas as concentrações foi constatada em 48 horas.

Tabela 9: Fração orgânica do extrato etanólico de *Spondias lutea* (Cajá). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6		12		24		48		72	
C1 poço 1	+++	+++	+++	++	++	++	-	-	-	-
C1 poço 2	+++	+++	+++	+++	+	+	-	-	-	-
C1 poço 3	+++	+++	+++	+++	+	+	-	-	-	-
C2 poço 1	+++	+++	+++	+++	++	++	-	-	-	-
C2 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	-	-	-
C2 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	-	-	-
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	-	-	-
C3 poço 2	+++	+++	+++	+	+++	-	-	-	-	-
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

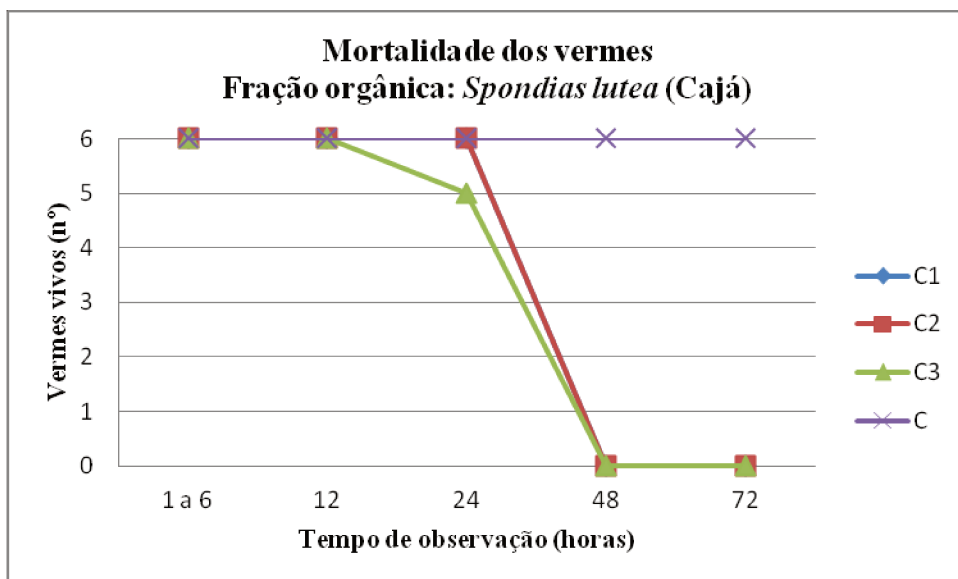


Figura 5: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.8. Extrato etanólico de *Pouteria caimito* (Caimito)

Em 12 horas de observação, a concentração de 0,2 mg/mL do extrato matou 5 dos 6 vermes e o que restou apresentou motilidade baixa, com morte em 24 horas. A concentração de 0,1 mg/mL apresentou 5 vermes com motilidade moderada e 1 com motilidade baixa, em 12 e 24 horas de observação. A morte de 100% dos vermes da concentração de 0,1 mg/mL foi observada em 48 horas (figura 6). A concentração de 0,05 mg/mmL apresentou uma pequena variação de motilidade até 24 horas (tabela 10), e com 2 mortes em 48 horas. Todos os vermes estavam mortos em 72 horas.

Tabela 10: Extrato etanólico de *Pouteria caimito* (Caimito). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)		1-6		12		24		48	
C1 poço 1	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
C1 poço 2	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
C1 poço 3	+++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-
C2 poço 1	+++	+++	++	++	++	++	-	-	-	-
C2 poço 2	+++	+++	++	+	++	+	-	-	-	-
C2 poço 3	+++	+++	++	++	++	++	-	-	-	-
C3 poço 1	+++	+++	+++	++	+++	++	+	+	-	-
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	++	++	-	-	-	-
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	-	-
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

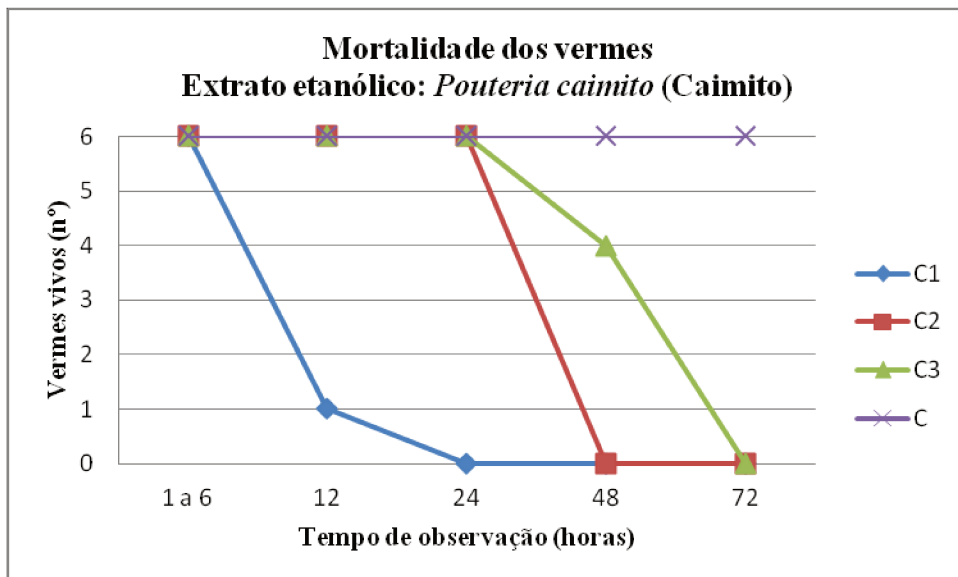


Figura 6: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.9. Fração aquosa do extrato de *Pouteria caimito* (Caimito)

A fração aquosa do extrato *P. caimito* também apresentou atividade anti-helmíntica semelhante ao observado no teste com o extrato etanólico bruto, como mostram as tabelas 10 e 11. A mortalidade ocorreu de forma gradativa (figura 7), com vermes morrendo em 12 horas na concentração de 0,2 mg/mL, e em 24 horas na concentração de 0,1 e 0,05 mg/mL. Em 72 horas todos os vermes haviam morrido.

Tabela 11: Fração aquosa do extrato de *Pouteria caimito* (Caimito). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	1-6		Tempo de observação (Horas)							
			12	24	48	72				
C1 poço 1	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-
C1 poço 2	+++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-
C1 poço 3	+++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-
C2 poço 1	+++	+++	+	+	+	-	-	-	-	-
C2 poço 2	+++	+++	++	++	++	+	-	-	-	-
C2 poço 3	+++	+++	++	++	-	-	-	-	-	-
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	+	-	+	-	-	-
C3 poço 2	+++	+++	+++	+	++	+	+	+	-	-
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	-	-
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

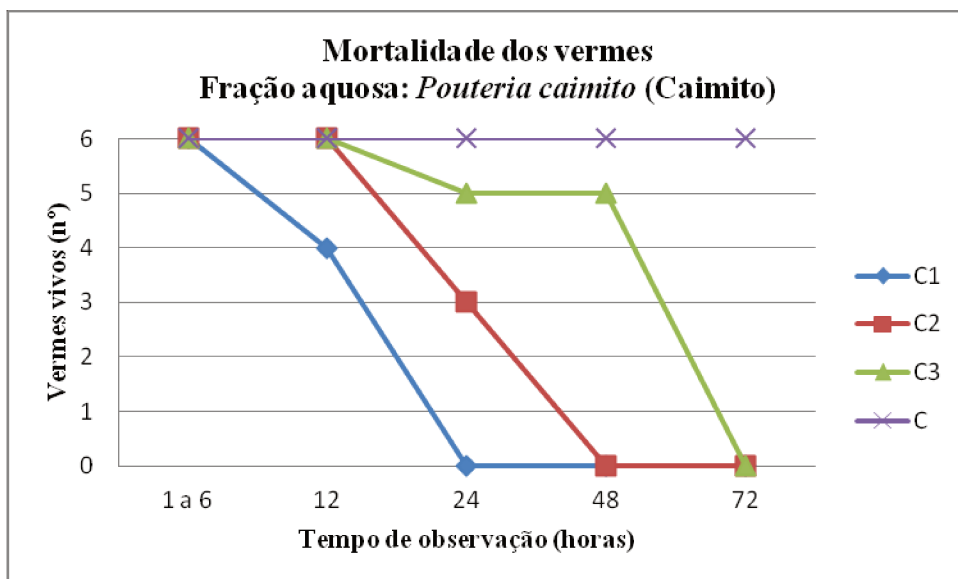


Figura 7: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.10. Fração orgânica do extrato de *Pouteria caimito* (Caimito)

A fração orgânica do extrato de *P. caimito*, não apresentou atividade anti-helmíntica considerável. Matou somente 1 verme na concentração de 0,2 mg/mL em 72 horas. A motilidade foi mantida na grande maioria dos vermes em alta (tabela 12).

Tabela 12: Fração orgânica do extrato de *Pouteria caimito* (Caimito). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6	12	24	48	72					
C1 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C1 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C1 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	-
C2 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C2 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C2 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

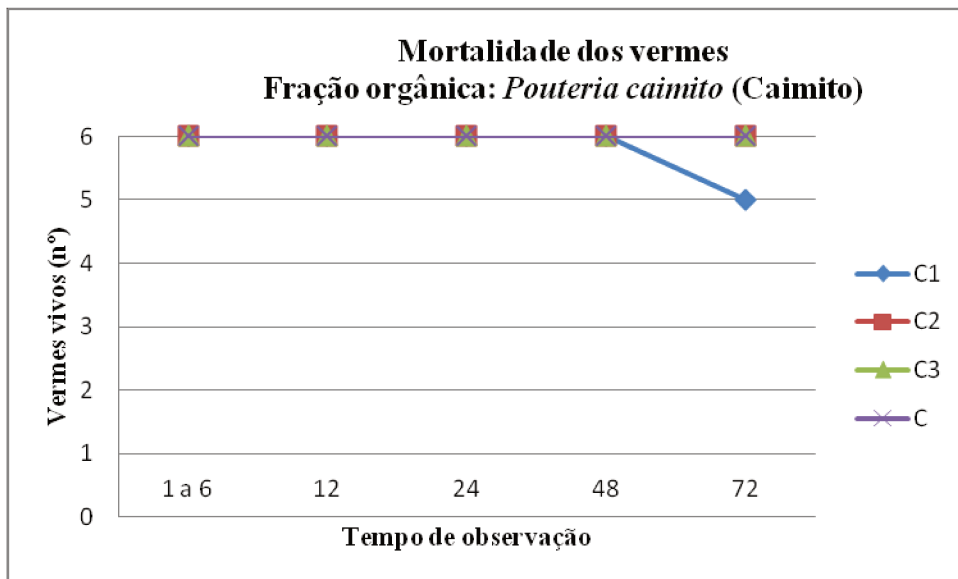


Figura 8: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.11. Extrato etanólico de *Psidium cattleianum* (Araçá-do-mangue)

Em 12 horas na concentração de 0,2 mg/mL, foi observada a morte de 50% dos vermes, 2 vermes com motilidade moderada e 1 com baixa. Na concentração de 0,1 mg/mL a motilidade se manteve baixa entre 12 e 24 horas sendo constatada a morte de 2 vermes em 24 horas e na observação de 48 horas, todos os vermes desta concentração haviam morrido (figura 9). A concentração de 0,05mg/mL apresentou um declínio na motilidade (tabela 13) durante as 72 horas de observação, todos os vermes se mantiveram vivos.

Na concentração de 0,1 mg/mL (poço 1 e 2) em 12 horas e concentração de 0,05 mg/mL (poço 1) em 48 horas, os vermes estavam entrelaçados, comportamento ausente quando comparado ao observado no grupo controle.

Tabela 13: Extrato etanólico de *Psidium cattleianum* (Araçá-do-mangue). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	1-6		Tempo de observação (Horas)							
			12	24	48	72				
C1 poço 1	+++	+++	++	++	-	-	-	-	-	-
C1 poço 2	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
C1 poço 3	+++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-
C2 poço 1	+++	+++	+	+	+	+	-	-	-	-
C2 poço 2	+++	+++	+	+	+	+	-	-	-	-
C2 poço 3	+++	+++	++	++	-	-	-	-	-	-
C3 poço 1	+++	+++	+++	++	+++	++	++	++	+	+
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+	+
C3 poço 3	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

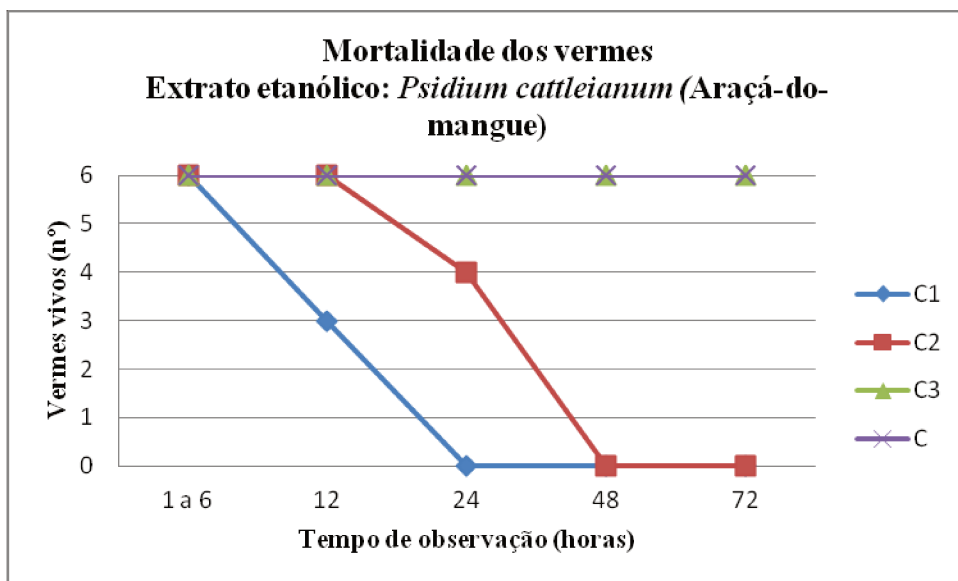


Figura 9: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.12. Extrato etanólico de *Inga cylindrica* (Ingá-mirim)

O extrato etanólico de *I. cylindrica* apresentou alteração na motilidade dos vermes de forma gradativa em relação às concentrações, sendo observado logo nas primeiras 6 horas, como mostra a tabela 14. Em relação a mortalidade (figura 10), 2 vermes morreram em 12 horas na concentração de 0,2 mg/mL e 100% com 24 horas. Na concentração de 0,1 mg/mL, 5 vermes haviam morrido em 48 horas e apenas 1 permaneceu com motilidade moderada durante o período de observação de 72 horas. E em 72 horas, 4 vermes da concentração de 0,05 mg/mL estavam mortos e 2 ainda apresentavam motilidade baixa.

Tabela 14: Extrato etanólico de *Inga cylindrica* (Ingá-mirim). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle).

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	1-6		Tempo de observação (Horas)							
			12	24	48	72				
C1 poço 1	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
C1 poço 2	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
C1 poço 3	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
C2 poço 1	++	++	+	+	+	+	-	-	-	-
C2 poço 2	++	++	+	+	+	+	-	-	-	-
C2 poço 3	++	++	+	+	+	+	+	-	+	-
C3 poço 1	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+
C3 poço 2	+++	+++	++	++	++	++	++	++	-	-
C3 poço 3	++	+++	++	+++	++	++	++	++	-	-
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

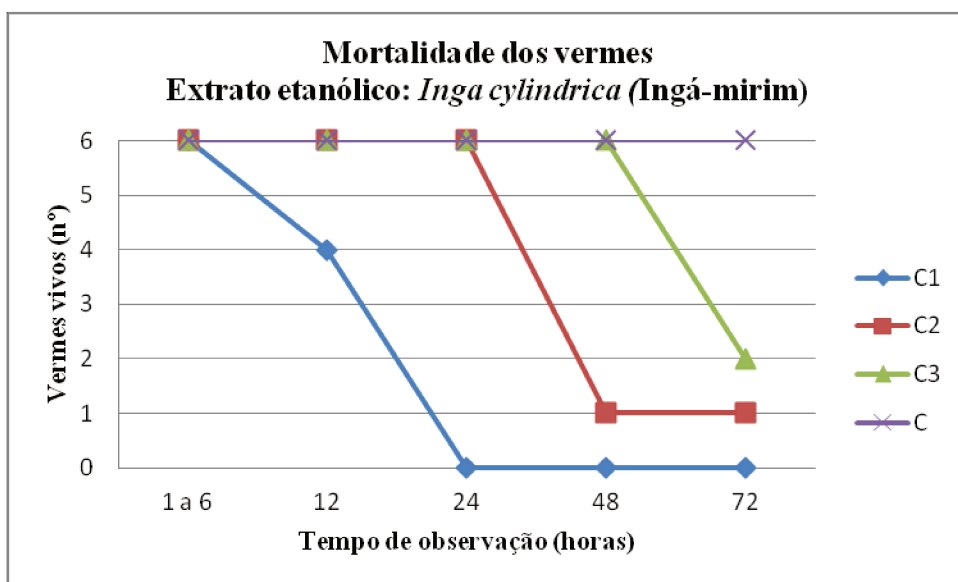


Figura 10: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.13. Extrato etanólico de *Minikara zapota* (Sapoti)

A motilidade dos vermes em relação ao extrato etanólico de *M. zapota*, apresentada na tabela 15, mostram uma variação logo nas primeiras 6 horas nas concentrações de 0,2 e 0,1 mg/mL. Na concentração de 0,2 mg/mL os vermes observados apresentaram motilidade baixa (4 vermes) e moderada (2 vermes), até o período de 12 horas. Mortalidade na concentração de 0,2 mg/mL foi observada em 4 vermes em 24 horas e em todos os vermes em 48 horas (figura 11). Na concentração de 0,1 mg/mL a mortalidade foi observada no período de 48 horas, em 5 vermes e apenas 1 com motilidade baixa. A concentração de 0,05 mg/mL permaneceu com a motilidade dos vermes variando em baixa e moderada entre 24 e 72 horas, não houve morte de vermes nesta concentração.

Tabela 15: Extrato etanólico de *Minikara zapota* (Sapoti). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6		12		24		48		72	
C1 poço 1	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-
C1 poço 2	+	+	+	+	+	++	-	-	-	-
C1 poço 3	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
C2 poço 1	+++	++	+++	++	++	++	+	-	-	-
C2 poço 2	++	++	++	++	+	+	-	-	-	-
C2 poço 3	++	++	++	+++	+	+	-	-	-	-
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	+	++	+	++	+	++
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

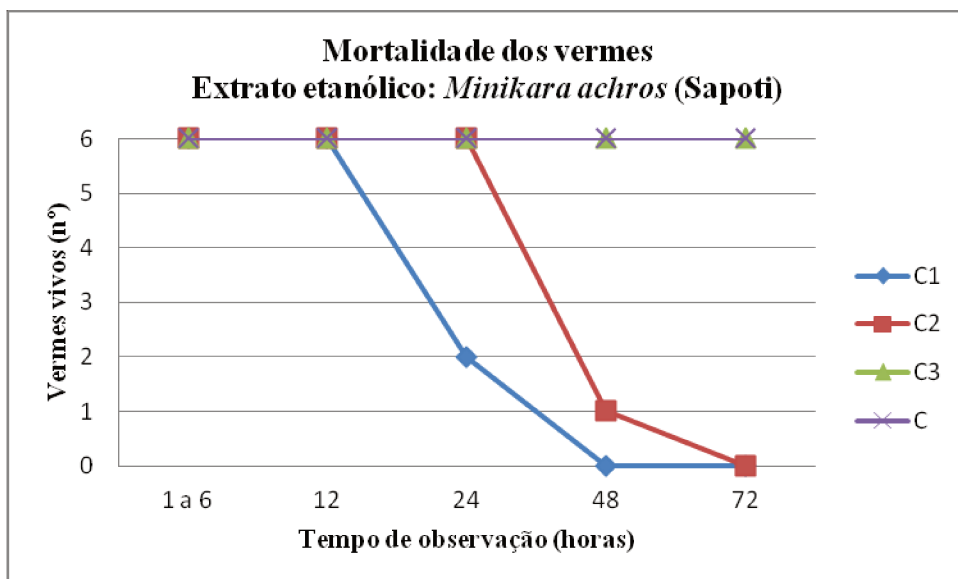


Figura 11: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.14. Extrato etanólico de *Eugenia pyriformis* (Uvaia)

O extrato etanólico de *E. pyriformis* provocou alteração da motilidade (tabela 16), nas primeiras 6 horas. Na concentração de 0,2 mg/mL a motilidade se manteve moderada até 12 horas, em 24 horas haviam 3 vermes com motilidade moderada, 2 vermes com baixa e 1 verme estava morto. A mortalidade de todos os vermes para esta concentração ocorreu em 48 horas (figura 12). Em relação a concentração de 0,1 mg/mL a primeira morte ocorreu em 48 horas e o restante dos vermes apresentaram motilidade baixa, em 72 horas foi observada a mortalidade de 4 vermes, os 2 restantes permaneceram com baixa motilidade. Na concentração de 0,05 mg/mL houve apenas variação em relação a motilidade dos vermes no período total de 72 horas.

Tabela 16: Extrato etanólico de *Eugenia pyriformis* (Uvaia). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6	12	24	48	72					
C1 poço 1	++	++	++	++	++	-	-	-	-	-
C1 poço 2	++	++	++	++	++	+	-	-	-	-
C1 poço 3	++	++	++	++	++	+	-	-	-	-
C2 poço 1	++	++	+++	++	+++	++	+	-	+	-
C2 poço 2	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	-	-
C2 poço 3	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	-
C3 poço 1	++	+++	+++	++	+++	++	++	++	++	++
C3 poço 2	+++	+++	++	++	++	++	++	+	+	+
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	+
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

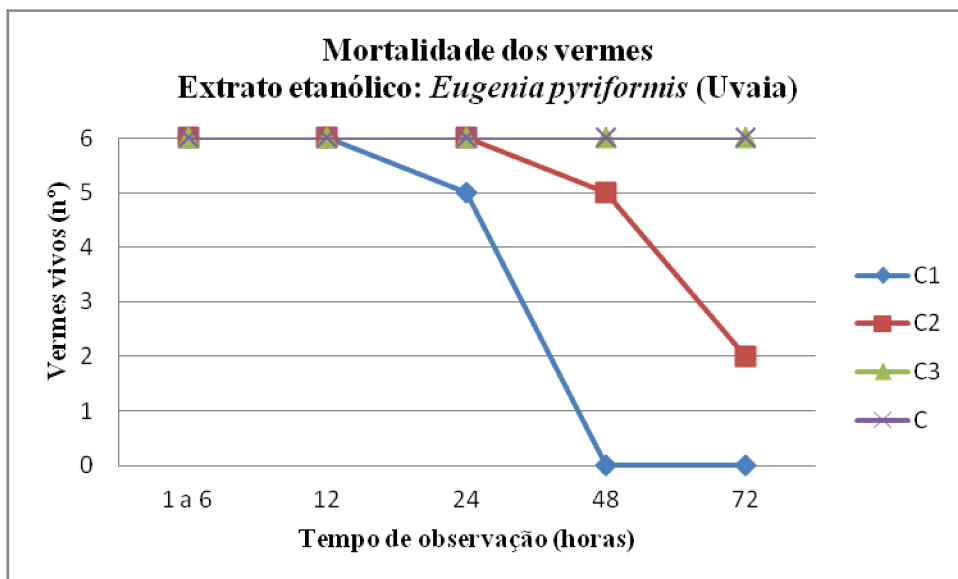


Figura 12: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.15. Extrato etanólico de *Lambramia bojeri* (Abricó-da-praia)

A motilidade dos vermes (tabela 17), em relação a concentração de 0,2 mg/mL foi observada moderada nas primeiras 6 horas, em 12 horas 50% dos vermes estavam com motilidade moderada e 50% com motilidade baixa. Em 24 horas a motilidade diminuiu e em 48 horas 100% dos vermes haviam morrido (figura 13). A concentração de 0,1 mg/mL apresentou uma pequena alteração da motilidade nas primeiras 6 horas. Em 24 horas 5 vermes estavam com motilidade moderada e 1 com baixa, em 48 horas 5 vermes estavam mortos, apenas 1 com motilidade baixa, e em 72 horas 100% de mortalidade foi observada para esta concentração. A concentração de 0,05 mg/mL apesar de apresentar uma variação gradativa na motilidade dos vermes em relação ao tempo de observação, não causou a morte de nenhum deles.

Tabela 17: Extrato etanólico de *Lambramia bojeri* (Abricó-da-praia). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6		12		24		48		72	
C1 poço 1	++	++	+	+	+	+	-	-	-	-
C1 poço 2	++	++	++	++	+	++	-	-	-	-
C1 poço 3	++	++	+	++	+	+	-	-	-	-
C2 poço 1	++	++	+	++	+	++	-	-	-	-
C2 poço 2	+++	+++	++	++	++	++	-	-	-	-
C2 poço 3	++	+++	+	++	++	++	-	+	-	-
C3 poço 1	+++	+++	++	++	++	++	++	++	+	+
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	++	++	+	++	+	++
C3 poço 3	+++	+++	+++	++	+++	++	++	+	++	+
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

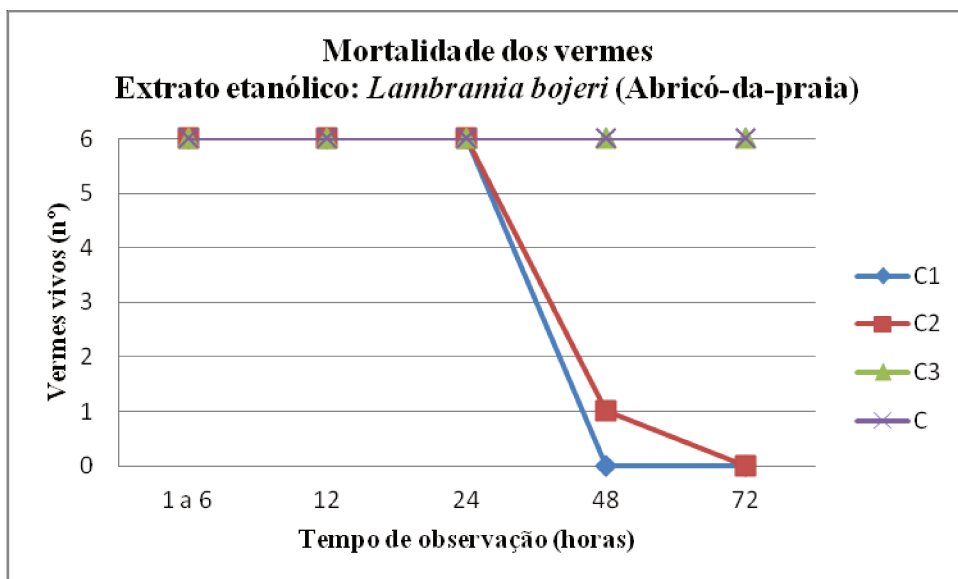


Figura 13: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.16. Extrato etanólico de *Myrciastes pungens* (Guabijú)

O extrato etanólico de *M. pungens* apresentou alteração na motilidade dos vermes (tabela 18) em 12 horas de observação na concentração de 0,2 mg/mL. Em 24 horas, 2 vermes estavam mortos, 2 com motilidade moderada e 2 com baixa. A mortalidade da concentração de 0,2 mg/mL (figura 14), foi constatada em 100% dos vermes em 48 horas. Também em 48 horas foi observada a morte de 2 vermes da concentração de 0,1 mg/mL, sendo o restante com motilidade baixa. A concentração de 0,05 mg/mL do extrato, alterou a motilidade apenas em 48 horas, entre moderada de 5 vermes e baixa de 1 verme. Ao final de 72 horas, os vermes da concentração de 0,05 mg/mL estavam vivos, com motilidade baixa.

Tabela 18: Extrato etanólico de *Myrciastes pungens* (Guabijú). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6	12	24	48	72					
C1 poço 1	+++	+++	++	++	+	-	-	-	-	-
C1 poço 2	+++	+++	+++	++	++	+	-	-	-	-
C1 poço 3	+++	+++	+++	++	++	-	-	-	-	-
C2 poço 1	+++	+++	+++	++	+++	++	+	+	-	-
C2 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
C2 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	-
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

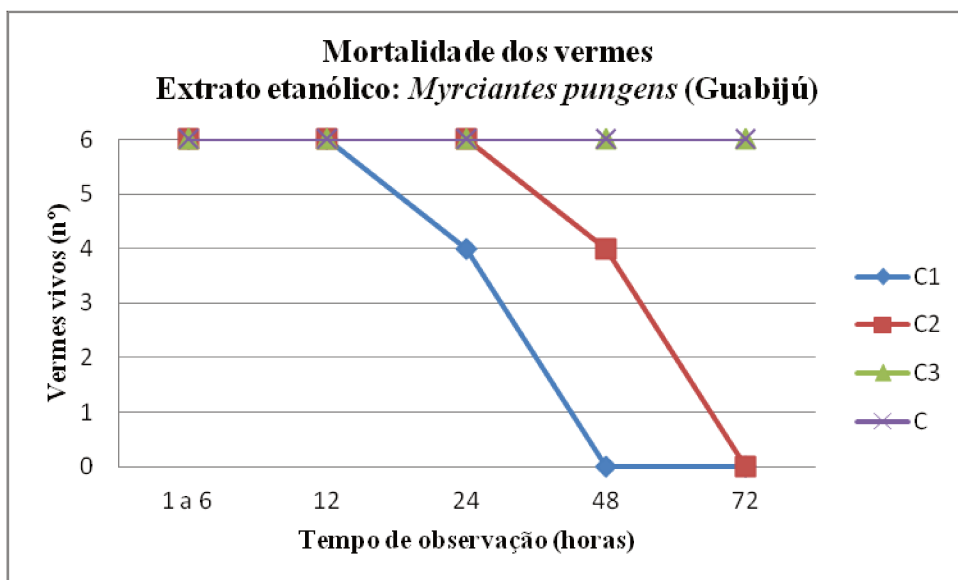


Figura 14: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.17. Extrato etanólico de *Byrsonima crassifolia* (Murici)

Na motilidade (tabela 19), o extrato etanólico de Murici provocou as primeiras alterações em 12 horas de observação com 100% dos vermes em baixa motilidade na concentração de 0,2 mg/mL, 100% com motilidade moderada na concentração de 0,1 mg/mL. Na concentração de 0,05 mg/mL, no mesmo período os vermes permaneceram com alta motilidade. Em 24 horas, 5 vermes da concentração de 0,2 mg/mL haviam morrido, como mostra a figura 15, restando apenas 1 verme com baixa motilidade, sendo observado morto no período de 48 horas. A concentração de 0,1 mg/mL do extrato, em 24 horas havia matado 1 verme e em 48 horas 100% dos vermes estavam mortos. A concentração de 0,05 mg/mL apesar de causar alterações na motilidade dos vermes, matou apenas 1 verme no período de 72 horas e o restante apresentava baixa motilidade.

Tabela 19: Extrato etanólico de *Byrsonima crassifolia* (Murici). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6		12		24		48		72	
C1 poço 1	+++	+++	+	+	+	-	-	-	-	-
C1 poço 2	+++	+++	+	+	-	-	-	-	-	-
C1 poço 3	+++	+++	+	+	-	-	-	-	-	-
C2 poço 1	+++	+++	++	++	+	-	-	-	-	-
C2 poço 2	+++	+++	++	++	+	+	-	-	-	-
C2 poço 3	+++	+++	++	++	++	+	-	-	-	-
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	+	-
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	+
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

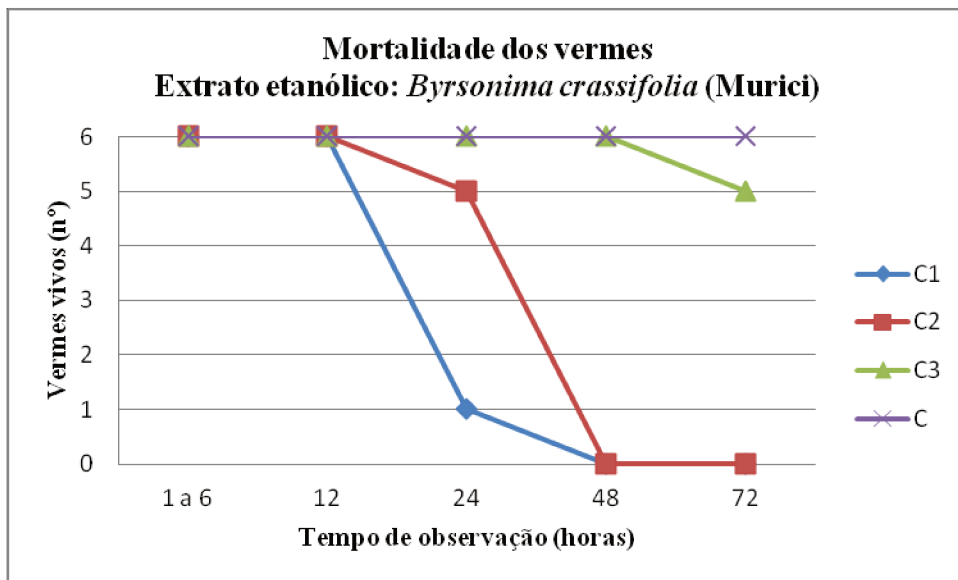


Figura 15: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.18. Extrato etanólico bruto de *Eugenia brasiliensis* (Grumixama)

As primeiras alterações de motilidade dos vermes (tabela 20), em relação às concentrações do extrato, foram observadas nas primeiras 6 horas. Na concentração de 0,2 mg/mL, em 24 horas 4 vermes estavam mortos e 2 vermes com motilidade moderada em 48 horas, nesta concentração o extrato havia matado 100% dos vermes. Em 48 horas, na concentração de 0,1 mg/mL, 5 vermes haviam morrido e apenas 1 com motilidade baixa. A mortalidade (figura 16), não foi observada na concentração de 0,05 mg/mL no período de 72 horas, apenas houve alteração em relação à motilidade.

Na concentração de 0,1 mg/mL (poço 2), em 6 horas foi observado uma larva rabditóide, em 12 horas a larva havia morrido.

Tabela 20: Extrato etanólico de *Eugenia brasiliensis* (Grumixama). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6		12		24		48		72	
C1 poço 1	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-
C1 poço 2	+++	++	++	++	-	-	-	-	-	-
C1 poço 3	++	++	++	++	+	+	-	-	-	-
C2 poço 1	++	++	++	+	++	+	-	-	-	-
C2 poço 2	+++	+++	++	++	++	++	-	-	-	-
C2 poço 3	+++	++	++	++	++	++	+	-	-	-
C3 poço 1	+++	++	++	++	++	++	++	++	+	++
C3 poço 2	+++	+++	++	++	++	++	+	++	+	++
C3 poço 3	+++	+++	++	+++	++	++	+	++	+	++
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

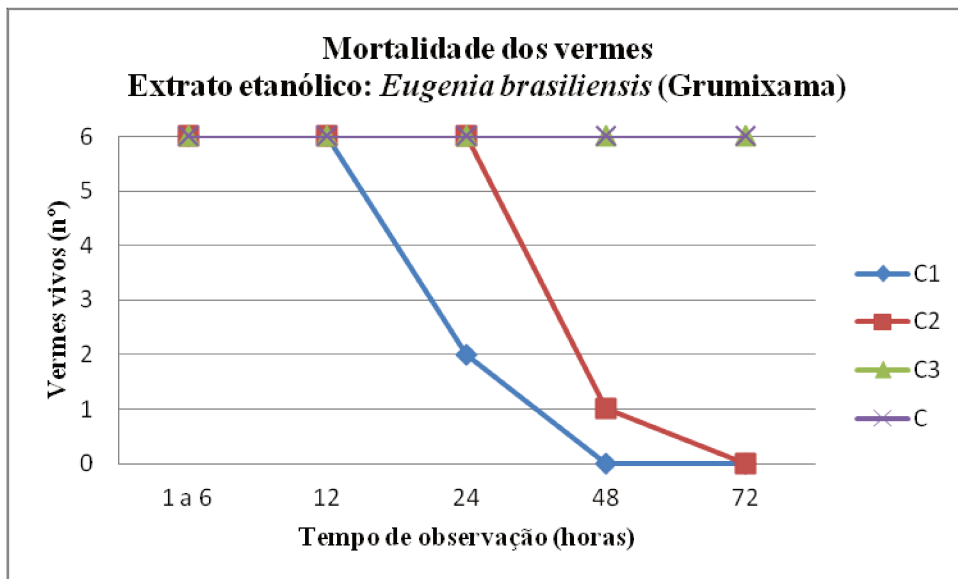


Figura 16: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.19. Extrato etanólico de *Muntingia calabura* (Calabura)

Os vermes apresentaram pouca variação da motilidade (tabela 21) até o período de observação de 24 horas. A mortalidade de 50% dos vermes foi constatada na concentração de 0,2 mg/mL, estando o restante dos vermes com motilidade baixa. Em 72 horas, a concentração de 0,2 mg/mL havia matado 100% dos vermes. A concentração de 0,1 mg/mL matou 1 verme em 48 horas e 5 em 72 horas (figura 17), o verme restante apresentava motilidade baixa. Não houve vermes mortos na concentração de 0,05 mg/mL, apenas uma diminuição em relação à motilidade.

Na concentração de 0,1 mg/mL (poços 1, 2 e 3), a partir de 24 horas os vermes estavam entrelaçados, comportamento ausente quando comparado ao observado no grupo controle.

Tabela 21: Extrato etanólico de *Muntingia calabura* (Calabura). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6		12		24		48		72	
C1 poço 1	+++	+++	++	++	++	++	+	+	-	-
C1 poço 2	+++	+++	+++	+++	++	++	-	-	-	-
C1 poço 3	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-	-	-
C2 poço 1	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	-
C2 poço 2	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-	-	-
C2 poço 3	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	-	-
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	+
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

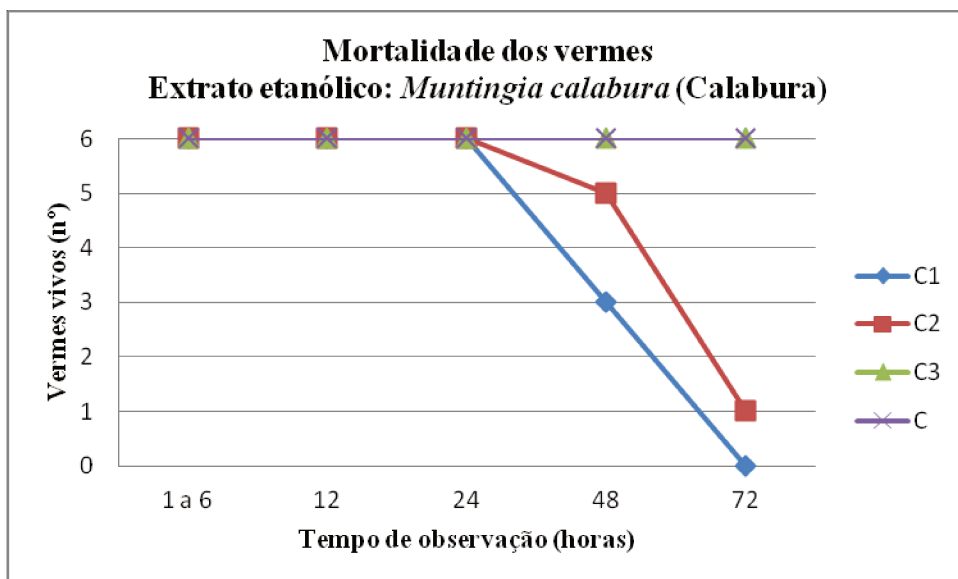


Figura 17: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.20. Extrato etanólico de *Carya illinoensis* (Noz pecan)

Na concentração de 0,2 mg/mL, o extrato etanólico de *C. illinoensis* apesar de apresentar alteração na motilidade dos vermes (tabela 22) logo nas primeiras 6 horas, causou a morte de 100% dos vermes apenas em 48 horas. A concentração de 0,1 mg/mL apresentou uma pequena alteração da motilidade e a mortalidade somente foi observada em 2 vermes no período de 72 horas. A concentração de 0,05 mg/mL pouco causou alteração da motilidade até o período de 72 horas porém, 2 vermes estavam mortos desde a observação de 24 horas, como mostra a figura 18.

Tabela 22: Extrato etanólico de *Carya illinoensis* (Noz pecan). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6		12		24		48		72	
C1 poço 1	++	++	+	+	+	+	-	-	-	-
C1 poço 2	++	++	+	+	+	+	-	-	-	-
C1 poço 3	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-
C2 poço 1	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+
C2 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	-
C2 poço 3	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	-	++
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

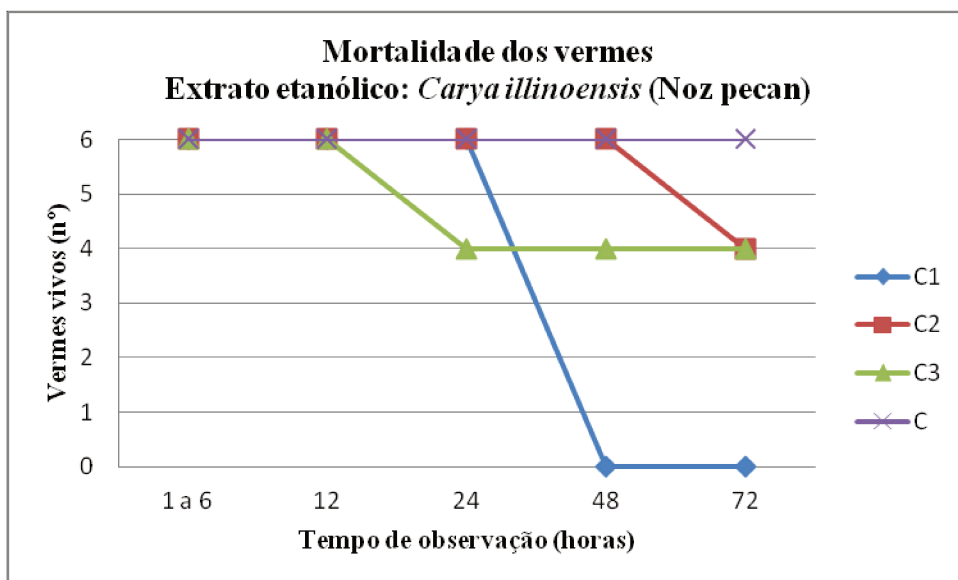


Figura 18: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.19. Extrato etanólico de *Hexachlamys edulis* (Uvaia-do-campo)

Na concentração de 0,2 mg/mL, em 12 horas a motilidade dos vermes (tabela 23) estavam entre moderada e baixa e foi observada a morte de 1 verme. Esta alteração se manteve em até 24 horas de observação. Em 48 horas, 4 vermes estavam mortos e os outros 2 com motilidade baixa. A concentração de 0,1 mg/mL apresentou, como mostra a figura 19, mortalidade de apenas 1 verme no período de 48 horas, e os outros 5 permaneceram com a motilidade baixa até o período de observação de 72 horas.

Tabela 23: Extrato etanólico de *Hexachlamys edulis* (Uvaia-do-campo). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6		12		24		48		72	
C1 poço 1	+++	+++	++	+	++	+	+	-	-	-
C1 poço 2	+++	+++	++	+	++	+	-	-	-	-
C1 poço 3	+++	+++	+	-	+	-	+	-	-	-
C2 poço 1	+++	+++	+++	++	+++	++	++	+	+	+
C2 poço 2	+++	+++	++	++	++	++	++	+	+	+
C2 poço 3	+++	+++	++	++	++	+	++	-	+	-
C3 poço 1	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	+
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	+
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	++	+
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

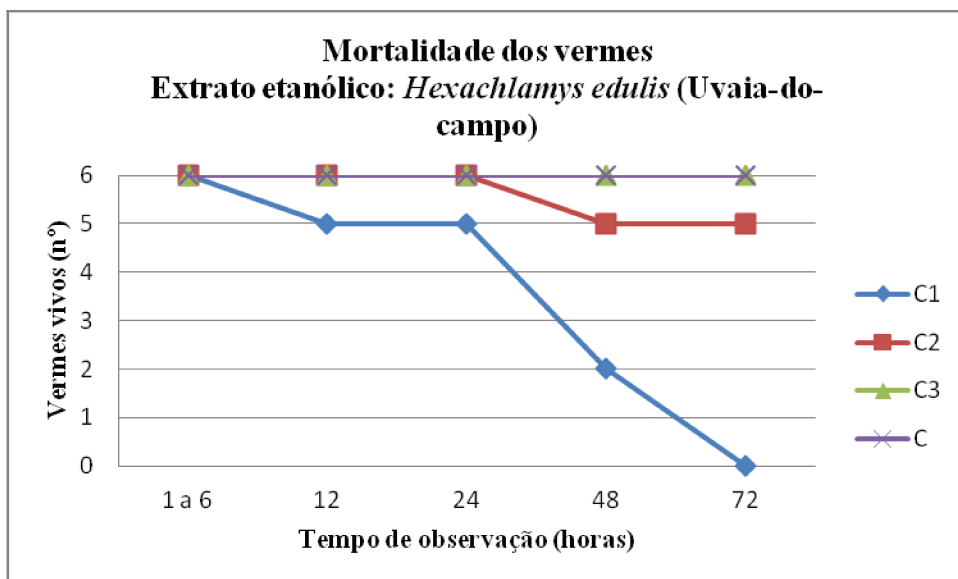


Figura 19: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.22. Extrato etanólico de *Eugenia uniflora* (Pitanga)

As primeiras mortes de vermes (figura 20), utilizando o extrato etanólico de Pitanga somente foram observadas no período de 48 horas, com a morte de 5 vermes na concentração de 0,2 mg/mL e em 72 horas 100% dos vermes haviam morrido. A maioria dos vermes referentes à concentração de 0,1 mg/mL apresentaram motilidade moderada (tabela 24), 5 vermes estavam mortos no período de 72 horas e o restante com motilidade baixa. Não houve mortalidade de vermes na concentração de 0,05 mg/mL durante todo o período de observação, apenas a motilidade sofreu alteração.

Tabela 24: Extrato etanólico de *Eugenia uniflora* (Pitanga). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6	12	24	48	72					
C1 poço 1	+++	+++	++	+	++	+	-	-	-	-
C1 poço 2	+++	+++	+++	++	++	++	+	-	-	-
C1 poço 3	+++	+++	+++	++	++	++	-	-	-	-
C2 poço 1	+++	+++	++	++	++	+	+	+	-	-
C2 poço 2	+++	+++	++	++	++	++	++	++	-	-
C2 poço 3	+++	+++	++	++	++	++	++	++	-	+
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	++	+
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+
C3 poço 3	+++	+++	+++	++	+++	++	++	+	+	+
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

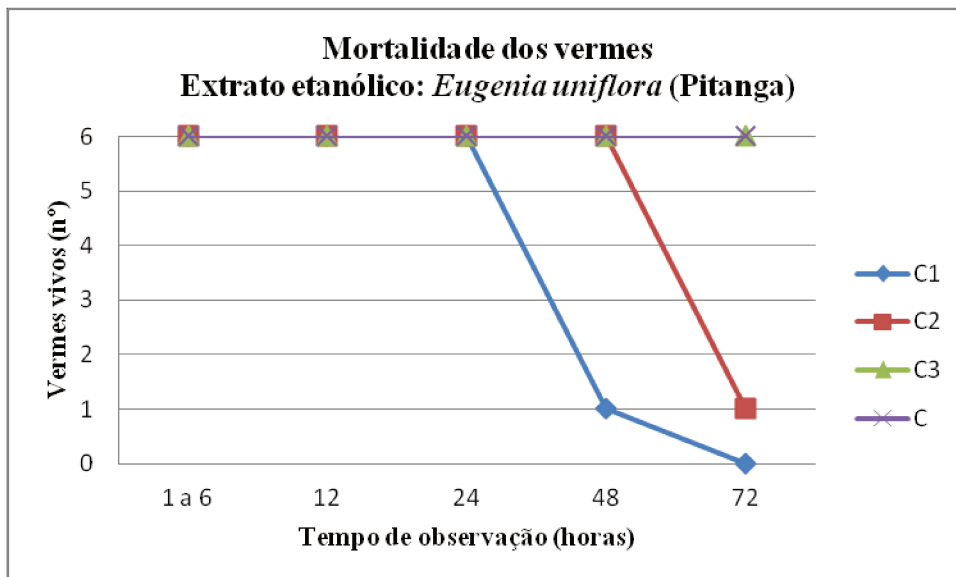


Figura 20: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.21. Extrato etanólico de *Lucuma caimito* (Abiú)

A motilidade dos vermes em relação ao extrato etanólico de *L. caimito* não alterou muito para todas as concentrações testadas, como mostra a tabela 25. Houve mortes de vermes somente na concentração de 0,2 mg/mL em 72 horas, com 4 vermes mortos e na concentração de 0,1 mg/mL também no período de 72 horas, com 2 vermes mortos. O restante dos vermes permaneceram vivos durante todo o período de observação (figura 21).

Tabela 25: Extrato etanólico de *Lucuma caimito* (Abiú). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6		12		24		48		72	
C1 poço 1	+++	+++	+++	+++	++	++	+	++	-	-
C1 poço 2	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	-	-
C1 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+
C2 poço 1	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	++	+	+
C2 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	++
C2 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	-	-
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	++	++
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	++	++
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	++
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

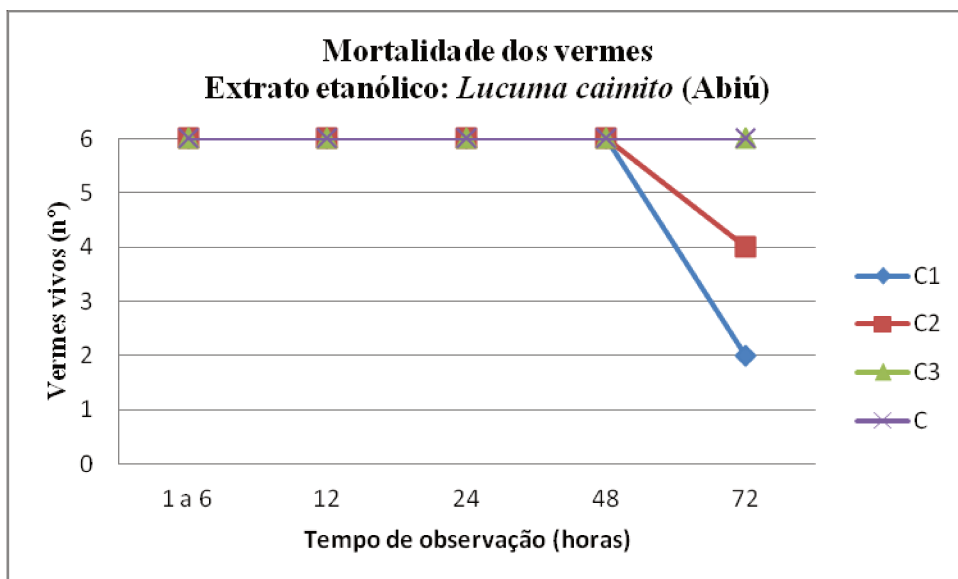


Figura 21: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.24. Extrato etanólico de *Pourouma cecropiifolia* (Mapati)

O extrato etanólico de *P. cecropiifolia* na concentração de 0,2 mg/mL causou alteração na motilidade logo nas primeiras 6 horas de observação (tabela 26). Mas as mortes dos vermes nesta concentração ocorreram apenas em 72 horas de observação (figura 22). Na concentração de 0,1 mg/mL, apenas 3 vermes estavam mortos em 72 horas e na concentração de 0,05 mg/mL houve uma pequena variação em relação à motilidade durante o período de observação.

Tabela 26: Extrato etanólico de *Pourouma cecropiifolia* (Mapati). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6	12	24	48	72					
C1 poço 1	++	+++	+	++	+	++	+	++	-	-
C1 poço 2	++	++	+	++	+	++	+	++	-	-
C1 poço 3	++	++	++	+++	++	+++	++	+++	-	-
C2 poço 1	++	++	++	++	++	++	++	++	-	-
C2 poço 2	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	+
C2 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+
C3 poço 1	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

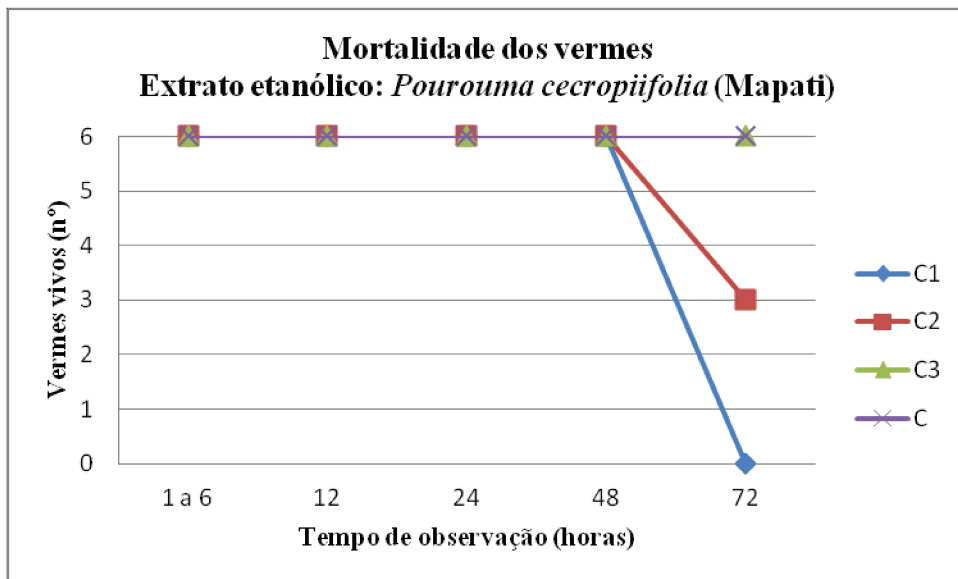


Figura 22: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.25. Extrato etanólico de *Pouteria campachiana* (Canistel)

A motilidade dos vermes (tabela 27), sofreu alteração após 48 horas com 4 vermes com baixa motilidade e 2 vermes mortos na concentração de 0,2 mg/mL. Em 72 horas a mortalidade de 100% dos vermes foi observada nesta concentração. As concentrações de 0,1 e 0,05 mg/mL causaram pouca ou nenhuma alteração da motilidade e todos os vermes se mativeram vivos durante o período de 72 horas de observação.

Tabela 27: Extrato etanólico de *Pouteria campachiana* (Canistel). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6		12		24		48		72	
C1 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	-
C1 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	-
C1 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	-	-
C2 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C2 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
C2 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

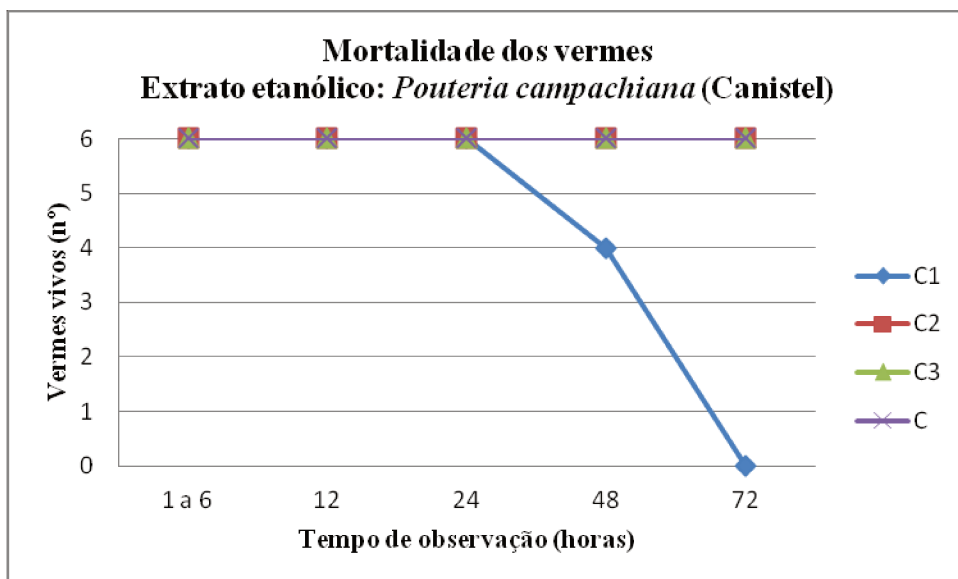


Figura 23: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.26. Extrato etanólico de *Salacia elliptica* (Siputá)

Na concentração de 0,2 mg/mL do extrato etanólico de *S. elliptica*, apesar de causar alteração na motilidade dos vermes no período de 12 horas como mostra a tabela 28, as mortes de 100% dos vermes somente ocorreram no período de 72 horas. Não houve mortes dos vermes nas concentrações de 0,1 e 0,05 mg/mL (figura 24), apenas uma pequena alteração de motilidade foi observada nestas concentrações.

Tabela 28: Extrato etanólico de *Salacia elliptica* (Siputá). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6	12	24	48	72					
C1 poço 1	+++	+++	++	++	+	++	+	++	-	-
C1 poço 2	+++	+++	++	+++	+	++	+	++	-	-
C1 poço 3	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	-	-
C2 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+
C2 poço 2	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	++	++	++
C2 poço 3	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	++	+	++
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

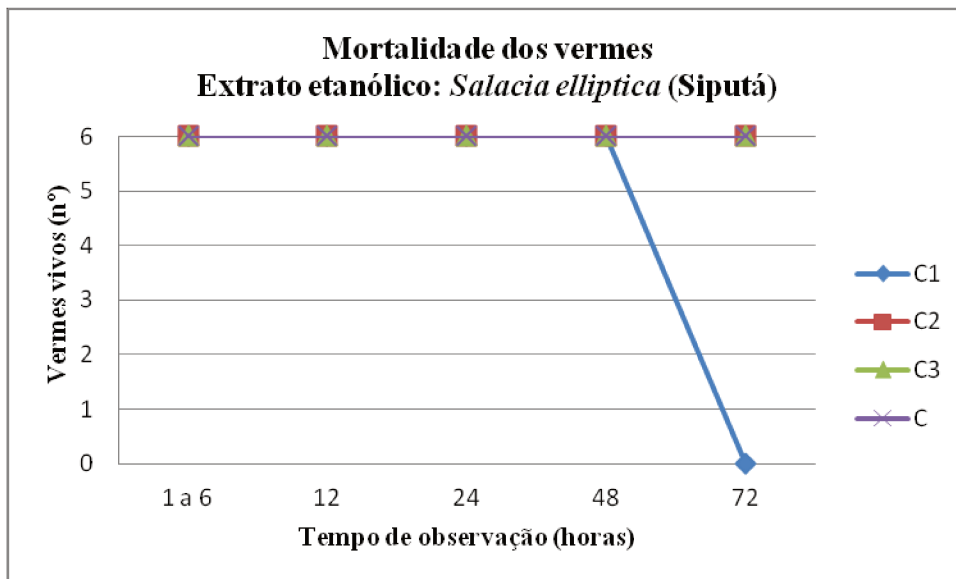


Figura 24: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.27. Extrato etanólico de *Macadamia integrifolia* (Noz macadamia)

O extrato etanólico de *M. integrifolia*, de acordo com a tabela 29, causou pouca ou nenhuma alteração da motilidade dos vermes nas diferentes concentrações testadas. A mortalidade (figura 25) só foi constatada na concentração de 0,2 mg/mL com a morte de 2 vermes no período de 48 horas. Todo o restante permaneceu vivo durante as 72 horas de observação.

Tabela 29: Extrato etanólico de *Macadamia integrifolia* (Noz macadamia). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6		12		24		48		72	
C1 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	+	-
C1 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	+	-
C1 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C2 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
C2 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
C2 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

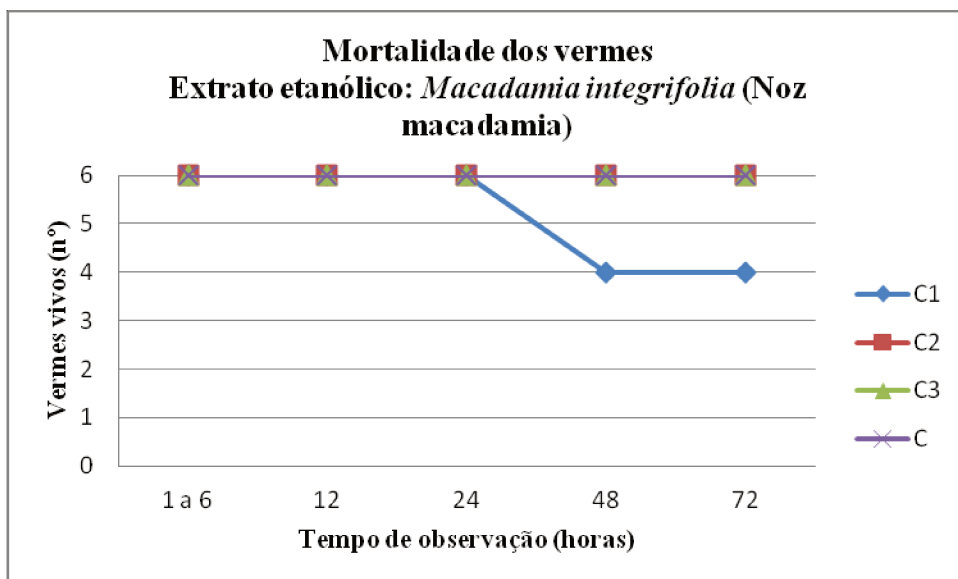


Figura 25: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.28. Extrato etanólico bruto de *Spondias dulcis* (Cajá-manga)

O extrato etanólico de *S. dulcis*, não causou grandes alterações na motilidade dos vermes referentes às concentrações testadas (tabela 30). Somente 1 verme foi observado morto no período de 72 horas (figura 26).

Tabela 30: Extrato etanólico de *Spondias dulcis* (Cajá-manga). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6	12	24	48	72					
C1 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
C1 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
C1 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
C2 poço 1	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	-	++
C2 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
C2 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

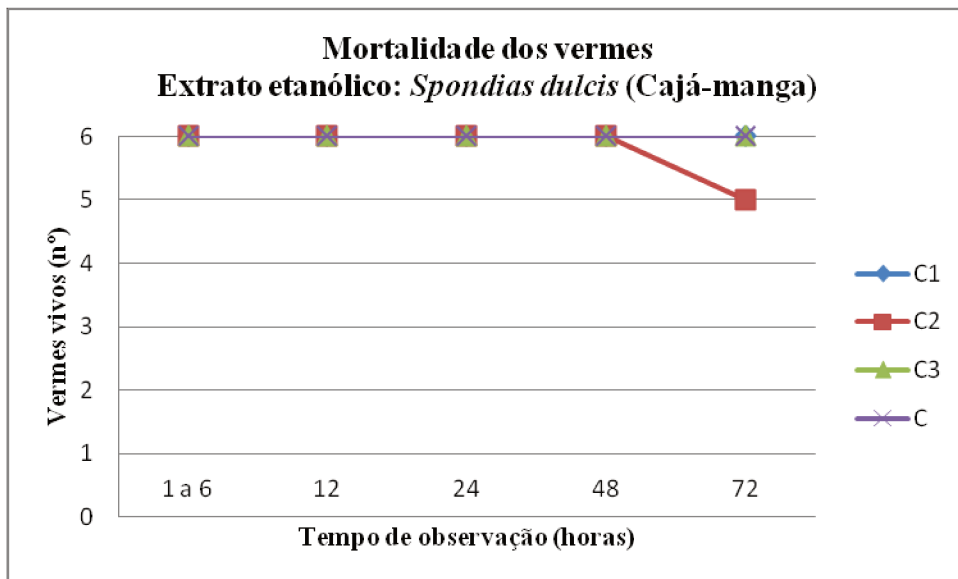


Figura 26: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.29. Extrato etanólico de *Dimocarpus longan* (Longana)

O extrato etanólico de *D. longan* somente alterou a motilidade dos vermes em 48 horas de observação para todas as concentrações testadas, como pode ser visto na tabela 31. A mortalidade somente foi observada em 72 horas com 3 vermes mortos na concentração de 0,2 mg/mL e 1 verme morto na concentração de 0,1 mg/mL (figura 27).

Nas concentrações de 0,2 mg/mL (poços 1 e 2) em 24 horas; 0,1 mg/mL (poço 1) em 24 e 48 horas e 0,05 mg/mL (poços 1 e 2) em 24 horas, os vermes estavam entrelaçados, comportamento ausente quando comparado ao observado no grupo controle.

Tabela 31: Extrato etanólico de *Dimocarpus longan* (Longana). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6		12		24		48		72	
C1 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
C1 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	-	-
C1 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	-
C2 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C2 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C2 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

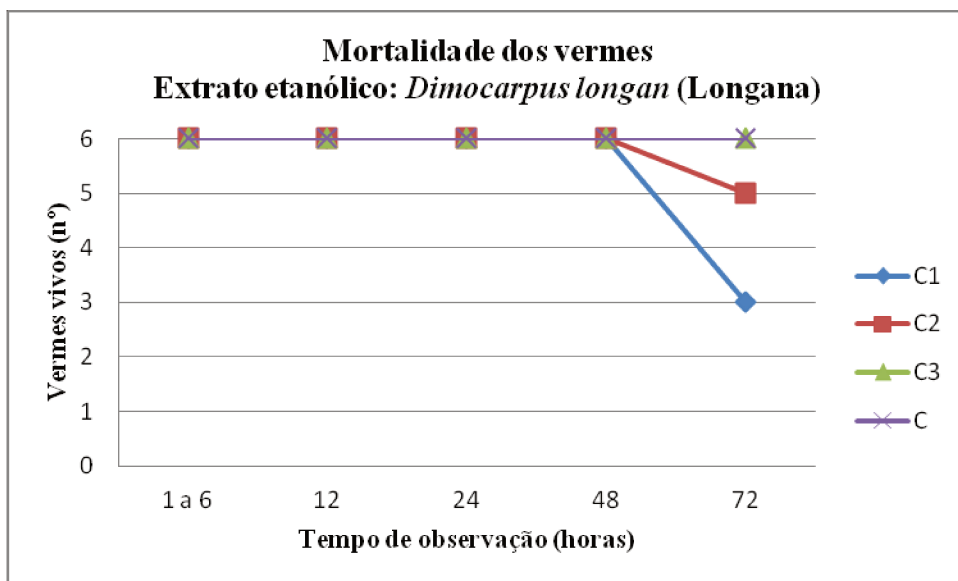


Figura 27: Números de vermes mortos em relação às concentrações testadas: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL). O grupo controle (C) não sofreu alterações.

6.30. Extrato etanólico de *Litchi chinensis* (Lichia)

O extrato etanólico de *L. chinensis* causou apenas uma diminuição da motilidade dos vermes nas concentrações testadas e 0% de vermes mortos (tabela 32).

Tabela 32: Extrato etanólico de *Litchi chinensis* (Lichia). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6		12		24		48		72	
C1 poço 1	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	+
C1 poço 2	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	+	+
C1 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+
C2 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+
C2 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C2 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	++	+
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

6.31. Extrato etanólico de *Aceima smeithii* (Mini-jambo)

De acordo com a tabela 33 o extrato etanólico de Mini-jambo alterou apenas a motilidade dos vermes em relação às concentrações testadas. Todos os vermes permaneceram vivos.

Tabela 33: Extrato etanólico de *Aceima smeithii* (Mini-jambo). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concenntações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6	12	24	48	72					
C1 poço 1	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	+	+
C1 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	+
C1 poço 3	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	+
C2 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C2 poço 2	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++
C2 poço 3	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

6.32. Extrato etanólico de *Eugenia involucrata* (Cereja-do-Rio-Grande)

Este extrato não causou mortalidade nem alterou a motilidade dos vermes em nenhuma das concentrações testadas. Todos permaneceram vivos e com motilidade alta (ver tabela 34).

Tabela 34: Extrato etanólico de *Eugenia involucrata* (Cereja-do-Rio-Grande). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6		12		24		48		72	
C1 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C1 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C1 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C2 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C2 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C2 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

6.33. Extrato etanólico de *Butia capitata* (Butiá)

O extrato etanólico de *B. capitata* não provocou morte nem causou alteração na motilidade dos vermes em nenhuma das concentrações testadas. Todos permaneceram vivos e com alta motilidade (ver tabela 35).

Tabela 35: Extrato etanólico de *Butia capitata* (Butiá). A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6		12		24		48		72	
C1 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C1 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C1 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C2 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C2 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C2 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

6.34. Cambendazol (fármaco sintético) - Cambem®, UCI-farma,180mg

O Cambendazol, utilizado como controle farmacológico, não apresentou atividade anti-helmíntica nas concentrações testadas. Somente a motilidade dos vermes foi afetada, como mostra a tabela 36.

Tabela 36: *Cambendazol*. A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; -:ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6		12		24		48		72	
C1 poço 1	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	+
C1 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	+
C1 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	+
C2 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
C2 poço 2	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	++	+
C2 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	++	+
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	++	+
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

6.35. Albendazol (fármaco sintético) – EMS, 400mg

O albendazol, utilizado como controle farmacológico, não apresentou atividade anti-helmíntica. Não havendo mortalidade e nem alteração da motilidade dos vermes (tabela 37) quando comparados ao grupo controle.

Tabela 37: *Albendazol*. A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6		12		24		48		72	
C1 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C1 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C1 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C2 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C2 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C2 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

6.36. Ivermectina (fármaco sintético) - Ivermec®, UCI-farma, 6mg

A ivermectina, utilizada como controle farmacológico, não apresentou atividade anti-helmíntica. Não havendo mortalidade, apenas alteração da motilidade (tabela 38) dos vermes quando comparados ao grupo controle.

Tabela 38: *Ivermectina*. A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente, nos horários de observação. Concentrações testadas em triplicata: C1 (0,2 mg/mL); C2 (0,1 mg/mL); C3 (0,05 mg/mL) e C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

Concentrações (Triplicata)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6		12		24		48		72	
C1 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C1 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+
C1 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
C2 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+
C2 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C2 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+
C3 poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C3 poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C3 poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
C poço 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C poço 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

6.37. Controle com meio RPMI

Foi realizada uma placa de cultura para controle negativo contendo em cada poço, 1,8mL do meio de cultura RPMI/antibiótico mais 0,2 mL de PBS 2%, sem adição de extrato.

Durante todo o período de observação, não houve morte e os vermes mantiveram a motilidade alta (tabela 39).

Tabela 39: *Controle negativo.* A motilidade está indicada como +: baixa; ++: moderada; +++: alta; - : ausente) nos horários de observação. C (controle). Em cada poço haviam 2 vermes.

(Poços)	Motilidade dos vermes									
	Tempo de observação (Horas)									
	1-6		12		24		48		72	
C _{poço 1}	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C _{poço 2}	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C _{poço 3}	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C _{poço 1}	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C _{poço 2}	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C _{poço 3}	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C _{poço 1}	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C _{poço 2}	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C _{poço 3}	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C _{poço 1}	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C _{poço 2}	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C _{poço 3}	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

7. DISCUSSÃO

A estrogiloidíase é uma parasitose com um amplo espectro de manifestações que variam desde doença assintomática, geralmente na forma crônica, até hiperinfecção e estrogiloidíase disseminada (Luna *et al.*, 2007). Em pessoas imunossuprimidas, a estrogiloidíase pode provocar a disseminação das larvas do *S. stercoralis* tanto para o aparelho respiratório e digestório como para outros órgãos, entre eles, o sistema nervoso central e a pele. Nesses casos a eosinofilia, comumente encontrada nas helmintoses (Iriemenam *et al.*, 2010) desaparece e aumenta o risco de infecção secundária por bactérias aumentando a possibilidade de sepse e uma posterior disfunção múltipla dos órgãos. Desse modo, é imprescindível a prevenção e tratamento adequado para se evitar complicações fatais (Muro *et al.*, 2010).

Atualmente a ivermectina é o fármaco de primeira escolha para o tratamento da estrogiloidíase, seguida do tiabendazol e albendazol (Muro *et al.*, 2010), sendo assim o primeiro e o último foram utilizados como controles farmacológicos no presente estudo juntamente com o cambendazol, em virtude de serem os fármacos disponíveis na rede farmacêutica de comércio.

Os fármacos comerciais não apresentaram atividade anti-helmíntica contra as fêmeas partenogénicas do *S. venezuelensis* nos testes *in vitro* realizados no presente estudo em nenhuma das doses avaliadas (0,05mg/mL, 0,1mg/mL e 0,2mg/mL) e no tempo observado, demonstrando desta forma que a DL₅₀ é superior a 0,2 mg/mL; ao contrário Kotze *et al.* (2004), que utilizaram, com a determinação da DL₅₀ as concentrações de 1,6µg/mL de ivermectina e 0,2mg/mL de albendazol contra larvas infectantes de *S. ratti in vitro* observando atividade anti-helmíntica para este estágio de desenvolvimento do parasita.

Esta divergência de resultados pode ser explicada pela diferença entre as espécies utilizadas. Outro ponto importante diz respeito ao fato de que Kotze *et al.* (2004) testaram em larvas e não em fêmeas partenogénicas.

Para os testes *in vitro*, as placas de cultura utilizadas no presente trabalho, acrescidas de meio de cultura RPMI/antibiótico com diferentes concentrações dos extratos, foram mantidas incubadas em estufa na temperatura de 37° C com uma atmosfera de 5% de CO₂, simulando as condições corpórea humana. Keiser *et al.* (2008), que também utilizaram placas de cultura incubadas em CO₂ a 5%, porém na temperatura de 25°C, pois foram utilizadas larvas e de outra

espécie de *Strongyloides* (*S. ratti*). Keiser *et al.* (2008) também utilizaram como critério de avaliação os parâmetros de motilidade e mortalidade.

Apesar da dificuldade de manutenção *in vitro* de helmintos relatada por Anthony *et al.* (2005), a metodologia desenvolvida no presente estudo se mostrou eficaz para a pesquisa *in vitro* com *S. venezuelensis*, mesmo com a inexistência de relatos na literatura para testes *in vitro* utilizando fêmeas adultas partenogenéticas de *S. venezuelensis*.

Por outro lado, as plantas medicinais são importantes na tentativa de descobrir novos princípios ativos, tendo em vista que muitos dos medicamentos existentes no comércio são derivados de plantas. Assim, muitos relatos na literatura sobre atividade anti-helmíntica estão relacionados ao uso de plantas (Muthee *et al.*, 2011). A identificação de compostos ativos de plantas tem aumentado junto com o número de avaliação de agentes quimioterápicos, trazendo uma maior variabilidade e disponibilidade de fármacos, reduzindo consequentemente a resistência dos parasitas aos fármacos e trazendo uma alternativa de terapia com grande aceitabilidade (Machado *et al.*, 2011).

Pesquisas também estão sendo realizadas em torno do efeito antiparasitário das plantas por meio da extração aquosa e etanólica, e o óleo essencial purificado tem se mostrado eficaz no tratamento e prevenção das doenças parasitárias (Anthony *et al.*, 2005).

Todos os testes de avaliação anti-helmíntica com extratos de plantas descritos na literatura corresponderam a testes *in vivo* ou utilizando larvas infectantes de *Strongyloides* (Kotze *et al.*, 2004; Keiser *et al.*, 2008) ou de outros nematódeos (Ademola *et al.*, 2005; Nascimento *et al.*, 2009) como o *Haemonchus contortus* (Hördegen *et al.*, 2006; Egualé *et al.*, 2011).

Dados encontrados na literatura utilizando a ação das plantas sobre outros parasitas também apresentaram resultados promissores quanto à atividade antiparasitária, como o trematódeo *Schistosoma mansoni* (Oliveira, 2008) e o protozoário *Giardia lamblia* (Machado *et al.*, 2011; Muthee *et al.*, 2011).

Outros testes para avaliação de atividades farmacológicas das plantas têm sido descritos contra fungos (Pinto *et al.*, 2010), vírus, como o rotavírus (Gonçalves *et al.*, 2005) e avaliação antitumoral (Atjanasuppat *et al.*, 2009), estes são apenas exemplos das linhas de pesquisas que vêm sendo abordadas de forma abrangente.

As plantas de árvores frutíferas foram selecionadas neste trabalho por se tratarem de alvos fáceis como alimento de animais e possível forma de controle natural das doenças parasitárias desde a antiguidade (Anthony *et al.*, 2005). As folhas foram selecionadas por apresentarem grande parte dos compostos ativos, como relatam os autores Anthony *et al.* (2005), Gonçalves *et al.* (2005) e Bicas *et al.* (2011).

Poucos dados foram encontrados na literatura a respeito da ação farmacológica das plantas utilizadas neste trabalho. Porém, duas das plantas utilizadas a *Eugenia uniflora* (Pitanga) e *Spondias lutea* (Cajá) também foram citadas em estudos envolvendo a descrição dos constituintes voláteis realizados por Bicas *et al.* (2011) tendo em vista o crescente interesse científico de diversas linhas de pesquisas sobre estas e outras plantas de origem no Brasil. Os autores também relatam o uso das folhas desta espécie para avaliação de efeitos farmacológicos.

A *E. uniflora* (Pitanga) apresentou eficácia contra o *S. venezuelensis* com 100% de mortalidade das fêmeas partenogenéticas na concentração de 0,2 mg/mL. Sendo que nesta concentração, os extratos que também demonstraram a mesma eficácia foram: *S. lutea* (Cajá), *P. caimito* (Caimito), *P. cattleianum* (Araçá-do-mangue), *I. fagifolia* (Ingá-mirim), *M. zapota* (Sapoti), *E. pyriformis* (Uvaia), *L. bojeri* (Abriçó-da-praia), *M. pungens* (Guabijú), *B. crassifolia* (Murici), *E. brasiliensis* (Grumixama), *M. calabura* (Calabura), *C. illinoensis* (Noz pecan) e *H. edulis* (Uavia-do-campo).

As concentrações dos extratos de plantas utilizadas neste trabalho são similares às concentrações utilizadas por Egualle *et al.* (2011), que demonstraram inibição do desenvolvimento das larvas do nematódeo *Haemonchus contortus in vitro* mesmo administrando concentrações baixas (0,125 e 0,25 mg/mL) dos extratos aquosos e hidro-alcoólico da planta *Albizia schimperiana*, comprovando a propriedade larvicida dos extratos. Deste modo, as concentrações utilizadas neste trabalho foram estabelecidas em 0,05 mg/mL; 0,1 mg/mL e 0,2 mg/mL; por estas apresentarem melhor solubilidade dos extratos levando em consideração a turbidez destas soluções de modo a não interferir nas observações propostas, visto a grande variedade de extratos testados e a escassez de protocolos existentes na literatura.

Neste trabalho os extratos etanólicos das plantas que apresentaram 100% de atividade anti-helmíntica contra as fêmeas parasitas do *S. venezuelensis* em todas as concentrações testadas foram *S. lutea* e *P. caimito*, correspondendo a DL₅₀ menor que 0,05 mg/mL. O *S. lutea* também

se mostrou eficiente em estudo *in vitro* realizado por Gonçalves *et al.* (2005) contra o rotavírus de humanos.

Com o objetivo de isolar e identificar compostos químicos que atuam na atividade anti-helmíntica destas plantas, estes dois extratos sofreram um processo de partição líquido-líquido, obtendo-se duas frações: aquosa e orgânica. O resultado mostrou que a fração aquosa do *S. lutea* apresentou eficácia apenas nas duas primeiras concentrações (0,2 mg/mL e 0,1 mg/mL) com DL₅₀ de 0,07 mg/mL enquanto que a fração orgânica apresentou atividade de 100% para todas as concentrações testadas, e com DL₅₀ menor que 0,05 mg/mL, assim como a atividade demonstrada pelo extrato etanólico desta planta.

A eficiência da atividade de *P. caimito* ocorreu apenas na fração aquosa, este resultado foi correspondente ao apresentado pelo extrato etanólico e com DL₅₀ menor que 0,05 mg/mL; a fração orgânica não apresentou atividade contra os vermes em nenhuma das concentrações testadas, isto demonstra que provavelmente o(s) composto(s) responsável(is) ficaram isolados na fração aquosa.

Apesar de não ter uma atividade anti-helmíntica de 100% para todas as concentrações a determinação da DL₅₀ permitiu avaliar a eficácia das concentrações nos extratos individualmente. Desta forma, a DL₅₀ menor que 0,05 mg/mL foram obtidas para o extrato e fração orgânica de *S. lutea*, o extrato e fração aquosa de *P. caimito* e *I. cylindrica*. A fração aquosa de *S. lutea*, *P. cattleyanum*, *L. bojeri*, *M. pungens*, *E. brasiliensis*, *M. zapota* e *B. crassifolia* apresentaram DL₅₀ de 0,07 mg/mL. Os extratos de *M. calabura* e *E. uniflora* apresentaram DL₅₀ de 0,08 mg/mL enquanto que o extrato de *E. pyriformis* a DL₅₀ foi de 0,09mg/mL. Para os extratos de *C. illinoensis* e *P. cecropiifolia* a concentração foi de 0,12 mg/mL, para o extrato de *H. edulis*, 0,13 mg/mL. E para os extratos de *L. caimito*, *P. campachiana* e *S. elliptica*, 0,15 mg/mL. Os outros extratos assim como os fármacos comerciais testados a DL₅₀ corresponde a uma concentração maior que 0,2 mg/mL.

Esses dados mostram que diante das concentrações testadas a maioria dos extratos apresentou atividade anti-helmíntica eficaz quando comparados aos fármacos de uso comercial para o tratamento da estrongiloidíase. Para que se comprove a resistência desses fármacos contra as fêmeas parasitas de *S. venezuelensis*, ainda é necessário que se estabeleça a DL₅₀, realizando

novos testes utilizando concentrações maiores que 0,2 mg/mL. Mesmo assim, as concentrações referentes aos extratos seriam menores, porém mais eficazes.

Os extratos que demonstraram ação anti-helmíntica mesmo após o fracionamento poderão ser foco de pesquisas para obtenção de novas frações, com intuito de isolar os compostos ativos destas plantas, responsáveis pela atividade anti-helmíntica e estabelecer uma correlação entre os testes *in vitro* e a sensibilidade *in vivo*.

8. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos com os testes *in vitro* dos 25 extratos de árvores frutíferas, pode-se notar alguma atividade anti-helmíntica contra fêmeas partenogénicas de *S. venezuelensis*, em relação às concentrações testadas na grande maioria dos extratos, conferindo uma melhor atividade nos extratos etanólicos de *S. lutea* e *P. caimito*. Também foi constatada atividade anti-helmíntica nas frações obtidas dos extratos citados acima.

Os extratos e suas frações demonstraram atividade anti-helmíntica superior quando comparado aos fármacos comerciais utilizados no tratamento da estrongiloidíase. Desta forma, ainda são necessários maiores estudos destas plantas, conhecer a composição química dos extratos ativos, testar atividade de novas frações, a fim de se isolar o(s) composto(s) químico(s) responsável (is) pela atividade anti-helmíntica contra o *S. venezuelensis*, assim como a realização de testes *in vivo*.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adell, R. I.; Márquez, V. D. 2007. Estrongiloidiasis: epidemiologia, manifestaciones clínicas y diagnóstico. Experiencia en una zona endémica: la comarca de La Safor (Valencia). *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, 25:3: 38-44.

Ademola, I. O.; Fagbemi, B. O.; Idowu, S. O. 2005. Anthelmintic activity of extracts of *Spondias mombin* against gastrointestinal nematodes of sheep: studies *in vitro* and *in vivo*. *Tropical Animal Health and Production*, 37: 223-235.

Agrawal, V.; Agarwal, T.; Ghoshal, U. C. 2009. Intestinal strongyloidiasis: a diagnosis frequently missed in the tropics. *The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 103:242-246.

Amato Neto, V.; Carignani, F. L.; Matsubara, L.; Braz, L. M. A. 1997. Tratamento de ratos, experimentalmente infectados pelo *Strongyloides venezuelensis*, através da ivermectina administrada por via oral. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 30:6: 481-484.

Anthony, J. P.; Fyfe, L.; Smith, H. 2005. Plant active components – a resource for antiparasitic agents? *Trends in Parasitology*, 21:10:462-468.

Atjanasuppat, K.; Wongkham, W.; Meepowapan, P.; Kittakooop, P.; Sobhon, P.; Bartlett, A.; Whitfield, P. J. 2009. *In vitro* screening for anthelmintic and antitumour activity of ethnomedicinal plants from Thailand. *Journal of ethnopharmacology*, 123: 475-482.

Bicas, J. L.; Molina, G.; Dionísio, A. P.; Barros, F. F. C.; Wagner, R.; Maróstica, M. R. Jr.; Pastore, G. M. 2011. Volatile constituents of exotic fruit from Brazil. *Food Research International*.

Brittany Heggem, R. S. 2008. Febendazole. *J. Exotic Pet Medicine*, 17:4:307-310.

Campos, R.; Pinto, P. L. S.; Amato Neto, V.; Matsubara, L.; Miyamoto, A.; Carvalho, S. A.; Takiguti, C. K.; Moreira, A. A. B. 1989. Tratamento da infecção experimental de ratos por *Strongyloides venezuelensis*, mediante uso da ivermectina e do levamisol injetáveis. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo, 31:1:48-52.

Carranza-Rodríguez, C.; Mateos-Rodríguez, F.; Muro, A.; Arellano, P. 2010. Tratamiento antiparasitário. Medicine, 10:54: 3664-72.

Cimerman, S.; Teixeira, M. C.; Girio, D.; Vieira, T. O.; Calore, E. E.; Barra, L. A. C. 2006. Hiperinfecção por *Strongyloides stercoralis* em pacientes com Aids. Ver. Panam. Infectol., 8:2:32-34.

Costa Cruz, J. M.; Bullamah, C. B.; Gonçalves-Pires, M. R. F.; Campos, D. M. B.; Vieira, M. A. 1997. Cryo-microtome sections of coproculture larvae of *Strongyloides stercoralis* and *Stroglyoides ratti* as antigen sources for the immunodiagnosis of human strongyloidiasis. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 39:313-317.

Dawkins, H. J. S.; Grove, D. I. 1981. Kinetics of primary and secondary infections with *Strongyloides ratti* in mice. Int. J. Parasitol., 11:89-96.

Develoux, M. 2004. Ivermectin. Ann. Dermatol. Venereol., 131:561-70.

Dorris, M.; Viney, M. E.; Blaxter, L. 2002. Molecular phylogenetic analysis of the genus *Strongyloides* and related nematodes. Int. J. Parasitol., 32:1507-1517.

Eguale, T.; Tadesse, D.; Giday, M. 2011. *In vitro* anthelmintic activity of crude extracts of five medicinal plants against egg-hatching and larval development of *Haemonchus contortus*. Journal of Ethnopharmacology, doi:10.1016/j.jep.2011.04.063.

Fardet, L.; Génèreau, T.; Poirot, G. B.; Kettaneh, A.; Cabane, J. 2007. Severe strongyloidiasis in corticosteroid-treated patients: case series and literature review. *Journal of Infection*, 54: 18-27.

Feliciano, N. D.; Gonzaga, H. T.; Gonçalves-Pires, M. R. F.; Gonçalves, M. R.; Ueta, M. T.; Costa-Cruz, J. M. 2010. Hydrophobic fractions from *Strongyloides venezuelensis* for use in the human immunodiagnosis of strongyloidiasis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 67: 153-161.

Gonçalves, J. L. S.; Lopes, R. C.; Oliveira, D. B.; Costa, S. S.; Miranda, M. M. F. S.; Romanos, M. T. V.; Santos, N. S. O.; Wigg, M. D. 2005. *In vitro* anti-rotavirus activity of some medicinal plants used in Brazil against diarrhea. *Journal of Ethnopharmacology*, 99: 405-407.

Grove, D. I. 1989. Strongyloidiasis: a major roundworm infection of man. USA: Editora Taylor & Francis. 214-216.

Grove, D. I. 1996. Human strongyloidiasis. *Adv. Parasitol.*, 38:251-309.

Grove, D. I.; Blair, A. J. 1981. Diagnosis of human strongyloidiasis by immunofluorescence using *Strongyloides ratti* and *Strongyloides stercoralis*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 30:344-349.

Harris, N. 2011. Advances in helminth immunology: optimism for future vaccine design? *Trends in Parasitology*, xx:1-6.

Hördegen, P.; Caberet, J.; Hertzberg, H.; Langhans, W.; Maurer, V. 2006. *In vitro* screening of the six anthelmintic plant products against larval *Haemonchus contortus* with a modified methyl-thiazolyl-tetrazolium reduction assay. *Journal of Ethnopharmacology*, 108: 85-89.

Hunt, P. W. 2011. Molecular diagnosis of infections and resistance in veterinary and human parasites. *Veterinary Parasitology*, doi:10.1016/j.vetpar.2011.05.027.

- Iriemenam, N.; Sanyaolu, A. O.; Oyibo, W. A.; Fagbenro-Beyioku, A. F. 2010. *Strongyloides stercoralis* and the immune response. *Parasitology International*, 59: 9-14.
- Jamieson, J. D.; Smith, E. B.; Dalvie, D. K.; Stevens, G. J.; Yanochko, G. M. 2011. Myeloperoxidase – mediated bioactivation of 5-hydroxythiabendazole: a possible mechanism of thiabendazole toxicity. *Toxicology in Vitro*, 25:1061-1066.
- Keiser, J.; Thiemann, K.; Endriss, Y.; Utzinger, J. 2008. *Strongyloides ratti*: *in vitro* and *in vivo* activity of tribendimidine, *PloS Negl. Trop. Dis.*, 2:1:e136.
- Knopp, S.; Stothar, D. D. R.; Mohammed, K. A.; Khamis, I. S.; Marti, H.; Utzinger, J. 2011. From morbidity control to transmission control: time to change tactics against helminthes on Unguja Island, Zanzibar. *Acta Tropica*, doi:10.1016/j.actatropica.2011.04.010.
- Kotze, A. C.; Clifford, S.; O'Grady, J.; Behnke, J. M.; McCarthy, J. S. 2004. An *in vitro* larval motility assay to determine anthelmintic sensitivity for human hookworm and *Strongyloides* species. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 71:5:608-616.
- Luna, O. B.; Grasselli, R.; Ananias, M.; Pinto, T. S. 2007. Estrongiloidíase disseminada: diagnóstico e tratamento. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*, 19:4:463-468.
- Machado, M.; Dinis, A. M.; Salgueiro, L.; Custódio, J. B. A.; Cavaleiro, C.; Sousa, M. C. 2011. Anti-giardia activity of *Syzygium aromaticum* essential oil and eugenol: effects on growth, viability, adherence and ultrastructure. *Experimental Parasitology*, 127:732-739.
- Molento, M. B. 2009. Parasite control in the age of drugs resistance and changing agricultural practices. *Veterinary Parasitology*, 163: 229-234.

Muthee, J. K.; Gakuja, D. W.; Mbaria, J. M.; Kareru, P. G.; Mulei, C. M.; Njonge, F. R. 2011. Ethnobotanical study of anthelmintic and other medicinal plants traditionally used in Loitokitok district of Kenya. *Journal of Ethnopharmacology*, 135: 15-21.

Muro, A.; Dib, J.; Yepes, E.; Pérez-Arellano, J. L. 2010. Geohelminthosis y nematodosis tisulares. *Medicine*, 10:55: 3739-46.

Nascimento, E. M.; Furlong, J.; Pimenta, D. S. 2009. Efeito anti-helmíntico do hidrolato de *Mentha villosa* Huds. (Lamiaceae) em nematóides gastrointestinais de bovinos. *Ciência Rural*, 39:3:817-824.

Oliveira, C. N. F. 2008. Estudo da atividade de *Phyllanthus amarus* L. contra o *Schistosoma mansoni* linhagem BH. Universidade Estadual de Campinas, São Paulo. Dissertação de mestrado.

Olsen, A.; Lieshout, L.; Marti, H.; Polderman, T.; Polman, K.; Steinmann, P.; Stothard, R.; Thybo, S.; Verweij, J. J.; Magnussen, P. 2009. Strongyloidiasis – the most neglected of the neglected tropical diseases? *Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*.

Paul, J. H. A.; Seaforth, C. E.; Tikasingh, T. 2011. *Eryngium foetidum* L.: a review. *Fitoterapia*, 82: 302-308.

Paula, F. M. 2004. *Caracterização do complexo proteolítico proteassoma em Strongyloides venezuelensis*. Universidade Estadual de Campinas, São Paulo. Dissertação de doutorado.

Paula, F. M.; Castro-Borges, W.; Pereira, O. S. J.; Gomes, M. S.; Ueta, M. T.; Rodrigues, V. 2009. The ubiquitin-proteasome system in *Strongyloididae*. Biochemical evidence for developmentally regulated proteolysis in *Strongyloides venezuelensis*. *Parasitol. Res.*, 105: 567-576.

Pérez-Molina, J. A.; Díaz-Menéndez, M.; Pérez-Ayala, A.; Ferrere, F.; Monje, B.; Norman, F.; López-Vélez, R. 2009. Tratamiento de las enfermedades causadas por parásitos. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, 28:1:44-59.

Pinto, J. M. A.; Souza, E. A.; Oliveira, D. F. 2010. Use of plants extracts in the control bean anthracnose. *Crop. Protection*, 29: 838-842.

Pires, M. L.; Dreyer, G. 1993. Revendo a importância do *Strongyloides stercoralis*. *Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. São Paulo*, 48:4:175-182.

Ribeiro, L. C.; Rodrigues, E. N. A. J.; Silva, M. D.; Takiuchi, A.; Fontes, C. J. F. 2005. Púrpura em paciente com estrongiloidíase disseminada. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 38:3:255-257.

Rigo, C. R.; Lescano, S. Z.; Marchi, C. R.; Amato Neto, V. 2008. Avaliação da resposta imune humoral frente a antígenos de *Strongyloides venezuelensis*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 41: 6: 648-653.

Rossi, C. L.; Takahashi, E. E. H.; Partel, C. D.; Teodoro, L. G. L.; Silva, L. J. 1993a. Total serum IgE and parasite – specific IgG and IgA antibodies in human strongyloidiasis. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 35:4:361-365.

Rossi, C. L.; Takahashi, E. E. H.; Teixeira, A. L. S.; Barros-Mazon, S.; Trevisan, R. C. G. 1993b. Avaliação de preparações antigênicas de *Strongyloides stercoralis* para o imunodiagnóstico da estrongiloidíase. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 26:2:83-87.

Rugai, E.; Mattos, T.; Brisola, A. P. 1954. Nova técnica para isolar larvas de nematóides das fezes: modificação do método de Baermann. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 14:1-8.

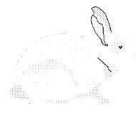
Sato, Y.; Kobayashi, J.; Shiroma, Y. 1995. Seridiagnosis of strongyloidiasis: the application and significance. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 37:35-41.

Sudré, A. P.; Siqueira, R. C.; Barreto, M. G.; Peralta, R. H. S.; Macedo, H. W.; Peralta, J. M. 2007. Identification of a 26-kDa protein fraction as an important antigen for application in the immunodiagnosis of strongyloidiasis. Parasitol. Res., 101: 1117-1123.

Zaha, O.; Hirata, T.; Kinjo, F.; Saito, A. 2000. Strongyloidiasis – process in diagnosis and treatment. Internal Medicine, 39:9:695-670.

Yoshida, A.; Nagayasu, E.; Nishimaki, A.; Sawaguohi, A.; Maruyama, H. 2011. Transcripts analysis of infective larvae of an intestinal nematode, *Strongyloides venezuelensis*. Parasitology International, 60: 75:83.

10. ANEXOS



CEUA/Unicamp

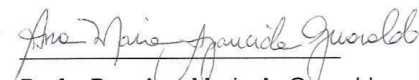
**Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA/Unicamp**

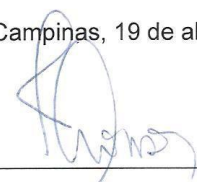
CERTIFICADO

Certificamos que o projeto "Efeito anti-helmíntico do extrato de árvores frutíferas sobre Strongyloides venezuelensis in vivo e in vitro" (protocolo nº 2174-1), sob a responsabilidade de Prof. Dr. Silmara Marques Allegretti / Letícia Aparecida Duarte Bastos, está de acordo com os **Princípios Éticos na Experimentação Animal** adotados pela **Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL)** e com a legislação vigente, **LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008**, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais, e o **DECRETO Nº 6.899, DE 15 DE JULHO DE 2009**.

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP - em 19 de abril de 2011.

Campinas, 19 de abril de 2011.


Profa. Dra. Ana Maria A. Guaraldo
Presidente


Fátima Alonso
Secretária Executiva