



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

ESTUDO DA TOXICIDADE DE *Vitex gardneriana* SCHAUER (LAMIACEAE)
em *Artemia salina* E SUA EFICÁCIA SOBRE *Haemonchus contortus* DE
OVINOS.

AUTOR(A): MARIA DO CARMO DE MEDEIROS

ORIENTADOR(A): ANA CÉLIA RODRIGUES ATHAYDE

COORIENTADOR: WILSON WOUFLAN SILVA

PATOS-PB

02/2015

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

ESTUDO DA TOXICIDADE DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Vitex
gardneriana* SCHAUER(LAMIACEAE) em *Artemia salina* E SUA EFICÁCIA
SOBRE *Haemonchus contortus* DE OVINOS.

Maria do Carmo de Medeiros

Licenciatura em Ciências Biológicas

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, como requisito do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Ciências Animais para a aquisição do título de Mestre.

PATOS- PB- BRASIL

01/2015.

FICHA CATALÓGRAFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR DA UFCG

M488e

Medeiros, Maria do Carmo de

Estudo do extrato hidroalcoólico de *vitex gardneriana shauer* (lamiaceae) em *artemia salina* e sua eficácia sobre *haemonchus contortus* de ovinos / Maria do Carmo de Medeiros. – Patos, 2014.

32f.: il.

Dissertação (Mestrado Zootecnia) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural.

“Orientação: Prof.^a Dr.^a Ana Célia Rodrigues Athayde”

Referências.

1. Toxicidade. 2. Extrato Hidroalcoólico. 3. *Haemochus contatus*. I. Título.

CDU 633.88



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

PROVA DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

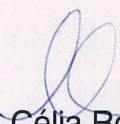
TÍTULO: “Estudo da toxicidade de *Vitex gardnerariana* Shauer (Lamiaceae) em *Artemia salina* e sua eficácia sobre *Haemonchus contortus* Cobb, 1898 de ovinos”

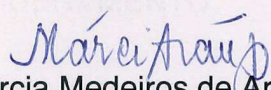
AUTORA: MARIA DO CARMO DE MEDEIROS

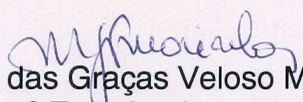
ORIENTADORA: Prof^a. Dra. ANA CÉLIA RODRIGUES ATHAYDE

JULGAMENTO

CONCEITO: APROVADO


Prof^a. Ana Célia Rodrigues Athayde
Presidente


Prof^a. Marcia Medeiros de Araújo
1^o Examinadora


Prof^a. Maria das Graças Veloso Marinho
2^o Examinadora

Patos - PB, 27 de fevereiro de 2015


Prof. Onaldo Guedes Rodrigues
Coordenador
Mat. SAPE 003371212

“Deus não escolhe os capacitados, capacita os escolhidos. Fazer ou não fazer algo só depende de nossa vontade e perseverança”.

(Albert Einstein)

Dedicatória:

**A minha família, a Danielle Leite e todos os meus amigos
pela ajuda e incentivo.**

AGRADECIMENTOS

Ao criador de tudo por mais essa conquista, Deus;

Aos meus familiares (Mãe, irmãs e irmãos, sobrinhos);

A Danielle Leite pelo apoio nos momentos de estresse;

A Professora Ana Célia pela orientação;

Ao Professor Wilson Wolflan pela dedicada co-orientação;

A Ana Raquel e Fábio Duarte pelo companheirismo na realização do experimento;

Aos companheiros de turma da pós pelos momentos de união e descontração;

Ao secretário da Pós Ari Cruz pelo apoio e incentivo;

A Técnica de Laboratório Aline - que hoje faz parte do meu ciclo de amigos - pelo apoio;

Ao professor Onaldo Guedes, Professor Vicente Queiroga e Professora Rosália que concederam materiais e equipamentos dos Laboratórios dos quais são responsáveis;

Ao Professor Adriano Fernandes e toda a sua equipe do Laboratório de Patologia Clínica Veterinária pela participação na realização de parte de nosso trabalho;

Aos professores da Pós-Graduação em Zootecnia, especialmente Professor Wolflan, Professor Aderbal e Professor Onaldo pela disponibilidade;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa;

E a todos que contribuíram direta ou indiretamente para realização do trabalho.

Obrigada.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	viii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS.....	3
CAPITULO 1	6
INTRODUÇÃO	8
MATERIAL E MÉTODOS	8
RESULTADOS E DISCUSSÃO	9
REFERÊNCIAS	10
CAPITULO 2	13
INTRODUÇÃO	16
MATERIAL E MÉTODOS	18
RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
CONCLUSÃO	24
REFERÊNCIAS	24
ANEXOS	i
ANEXOS I	ii
ANEXOS II	vi
ANEXOS III	vii
ANEXOS IV	xi

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

TABELA 1. Mortalidade de *A. salina* e valores de CL50 calculados para o extrato hidroalcoólico das folhas de *Vitex gardneriana* e respectivos intervalos de confiança..... 11

TABELA 2. Percentual e eficiência da concentração do extrato hidroalcoólico das folhas de *V. gardneriana* sobre ovos e larvas *Haemonchus contortus* de ovinos. 11

CAPÍTULO 2

TABELA 1. Distribuição dos grupos e seus respectivos tratamentos com EHF de *Vitex gardneriana* e fármaco em ovinos 19

TABELA 2. Média aritmética, re-transformada $[(\log (x+1))]$, e desvio padrão do OPG de ovinos artificialmente infectados com *H. contortus*, submetidos aos tratamentos com EHF de *Vitex gardneriana*. 22

TABELA 03. Valores percentuais médios do volume globular (VG) de ovinos artificialmente infectados com larvas *Haemonchus contortus* nos diversos tratamentos com EHF de *Vitex gardneriana*. 23

MEDEIROS, Maria do Carmo de. **Estudo da toxicidade do extrato hidroalcoólico de *Vitex gardneriana* Shauer (Lamiaceae) em *Artemia salina* e sua eficácia sobre ovos, larvas e adultos de *Haemonchus contortus* de ovinos.** Patos, PB: UFCG. 2015. 00 p. (Dissertação - Mestrado em Zootecnia).

RESUMO

O objetivo da pesquisa foi avaliar o potencial tóxico de *Vitex gardneriana* *in vitro* sobre o microcrustáceo *Artemia salina* utilizando extrato hidroalcoólico das folhas (EHF) com ensaios de toxicidade aguda (CL₅₀) nas concentrações: 100, 500, 1.000, 10.000, 20.000, e 50.000 µg/mL. Como controle positivo utilizou-se Hipoclorito de Sódio (NaClO) a 1%. Como controle negativo foi utilizado solução salina (pH 8-9) e DMSO a 1%. Os resultados demonstraram que houve letalidade em 50% da população de metanaúplios do microcrustáceo sobre a concentração 34.600 µg/mL, demonstrando seu baixo potencial tóxico. Para a determinação da ação tóxica do extrato hidroalcoólico de *V. gardneriana* sobre ovos e larvas de *Haemonchus contortus*, foi adicionado 2,5mL do EHF da referida planta na concentração de 34.600 µg/mL adicionados em culturas fecais monoespecíficas do nematódeo, contendo aproximadamente 12.000 ovos. Os resultados demonstraram que o EHF permitiu apenas 26,6% de eclosão do total de 12.000 ovos, correspondendo a uma eficiência terapêutica de 73,3%. Para avaliação do EHF de *V. gardneriana* sobre o parasita em ovinos, teste *in vivo*, foram oferecidas duas doses nas concentrações de 34,600 µg/ml e 69,200 µg/ml, onde a menor dosagem revelou uma eficiência (49,6%) inferior ao grupo tratado com o fármaco (63,3%), porém para a maior dose o EHF apresentou uma eficácia de 63,33%, sendo igual ao do grupo tratado com o medicamento sintético (Ivermectina a 1%), revelando sua possível utilização como alternativa adicional ao controle do parasita. Durante o trabalho os animais mantiveram-se clinicamente saudáveis.

Palavras chaves: Toxicidade, extrato hidroalcoólico, *Haemonchus contortus*.

MEDEIROS, Maria do Carmo de. **Study of the toxicity of the alcoholic extract of *Vitex gardneriana* Shauer (Lamiaceae) in *Artemia salina* and its effectiveness on eggs, larvae and adults of *Haemonchus contortus* in sheep.** Patos, PB: UFCG. 2015. 31 p. (Dissertation - Master of Animal Science).

ABSTRACT

The objective of the research was to evaluate the toxic potential of *Vitex gardneriana* vitro on *Artemia salina* microcrustacean using hydroalcoholic extract of the leaves (EHF) with acute toxicity tests (LC50) at concentrations of 100, 500, 1,000, 10,000, 20,000, and 50,000 / mL. As positive control we used sodium hypochlorite (NaClO) to 1%. Was used as a negative control saline solution (pH 8-9) and 1% DMSO. The results showed lethality in 50% of the population metanaúplios microcrustacean concentration of 34,600 mg / mL, demonstrating their low toxic potential. To determine the toxic action of the hydroalcoholic extract of *V. gardneriana* on eggs and larvae of *Haemonchus contortus* was added 2.5mL of said EHF plant at a concentration of 34,600 mg / ml added at the monospecific fecal nematode cultures containing approximately 12,000 eggs. The results demonstrated that EHF allowed only 26.6% of the total 12,000 hatching eggs, corresponding to a therapeutic efficiency of 73.3%. For EHF assessment *V. gardneriana* on the parasite in sheep in vivo test, two doses were offered at concentrations of 34,600 / ml and 69.200 g / ml, where the lower dose showed an efficiency (49.6%) lower than the drug-treated group (63.3%), however for the higher dose showed an efficacy of EHF 63.33%, being equal to the group treated with the synthetic drug (ivermectin 1%), showing their possible use in additional alternative to control the parasite. During the study, the animals remained clinically healthy.

Key words: Toxicity, hydroalcoholic extract, *Haemonchus contortus*.

INTRODUÇÃO GERAL

As plantas medicinais possuem um histórico de utilização popular milenar (Machado & Oliveira, 2014). Com as inovações científicas e tecnológicas novos medicamentos sintéticos foram desenvolvidos minimizando a utilização dos vegetais, porém a partir da década de 70 com incentivo da Organização Mundial de Saúde (OMS) e a crescente utilização de remédios naturais unido a necessidade de inovações na indústria de fármacos, ocorre o resgate da utilização de plantas como fornecedoras de substâncias bioativas (Ribeiro, 2013).

Atualmente os vegetais consistem nos principais fornecedores de princípios ativos, apresentando um significativo crescimento mundial no uso de fitoterápicos e fitofármacos, despertando a atenção das grandes indústrias farmacêuticas (Resende & Ribeiro, 2014), tendo sua utilização variadas fórmulas que vão desde capsulas até soluções hidroalcoólicas e infusões (Machado, 2013).

Para uma utilização segura e comprovada de plantas medicinais faz-se necessário uma investigação toxicológica do vegetal através de testes biológicos (Silva *et al.*, 2014). A *Artemia salina* um micro crustáceo marinho vem sendo constantemente utilizado como crivo inicial para avaliação tóxica de extratos de plantas pela praticidade e viabilidade de sua execução metodológica, econômica e asséptica (Andrade *et al.*, 2014). Seus resultados podem ser direcionados a testes biológicos específicos, como antiparasitário (Silva *et al.*, 2014).

A ovinocultura juntamente com a caprinocultura são atividades com grande importância econômica desenvolvida principalmente por pequenos produtores contribuindo para o aumento da renda familiar nos países menos desenvolvidos (Guanziroliet *al.*, 2014). Sua exploração é observada em todo o mundo especialmente nos trópicos (Dos Santos *et al.*, 2013). No Brasil a região nordeste predomina contendo o maior número de rebanhos de caprinos e ovinos (Lima *et al.*, 2013). Apesar do crescimento da produção de pequenos ruminantes nos últimos anos, vários fatores vêm interferindo negativamente no desempenho dessa atividade especialmente as infecções parasitárias retardando a produção e elevando seus custos (Cunha *et al.*, 2014).

O *Haemonchus contortus* da família *Trychostrongylidae* é considerado o mais prevalente e patogênico dos parasitas gastrintestinais em pequenos ruminantes (Carvalho, 2013), sua infestação provoca atraso no desenvolvimento corporal, diminui a produção e enfraquece a qualidade de seus produtos e subprodutos, podendo levar os mais jovens a óbito dependendo da gravidade da infecção (Fontes & Molento, 2013). A eficiência do ciclo de vida e contaminação dos nematoides de ovinos é atribuída especialmente à resistência aos produtos sintéticos utilizados na tentativa de controle dos mesmos (Cunha *et al.*, 2014), o que faz surgir à necessidade de novas alternativas terapêuticas no combate as helmintoses como a utilização de substâncias extraídas de vegetais (Molento *et al.*, 2013).

A espécie *Vitex gardneriana*, popularmente conhecida como Jaramataia, pertencente à família Lamiaceae, presente na região nordeste, apresenta diversos relatos de utilização empírica como xarope ou infuso, porém cientificamente possui histórico extremamente restrito e para ação anti-

helmíntica ainda inédita. Em estudo fitoquímico foi observada a presença de esteróides, terpenóides, saponinas, açúcares redutores, fenilpropanoglicosídeos e iridóides presentes na planta (Sá Barreto *et al.*, 2007). Com essa gama de metabolitos secundários a espécie oferece inúmeras possibilidades de avaliação terapêutica incluindo a ação antiparasitária.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, Fabio D. et al. Ação anti-helmíntica do extrato hidroalcolico da raiz da *Tarenaya spinosa* (Jacq.) Raf. no controle de *Haemonchus contortus* em ovinos¹. **Pesq. Vet. Bras**, v. 34, n. 10, p. 942-946, 2014.

CARVALHO, Kátia Silene Sousa. **Diversidade genética de *Haemonchus contortus* em populações de pequenos ruminantes do Piauí**. 2013. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Piauí.

CUNHA, M. P. V. et al. Evaluation of the anti-helminthic activity of crude extracts from the Brazilian Amazon and Mata Atlântica plants against *Haemonchus contortus*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 2, p. 374-380, 2014.

DE SA BARRETO, Livia Cristina Lira et al. Atividade Moluscicida de Extratos e de Aucubina de *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae) em Embriões da *Biomphalaria glabrata*. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 3, p. 339, 2007.

FORTES, Fernanda S.; MOLENTO, Marcelo B. Resistência anti-helmíntica em nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes: avanços e limitações para seu diagnóstico¹. **Pesq. Vet. Bras**, v. 33, n. 12, p. 1391-1402, 2013.

GUANZIROLI, Carlos Enrique; DI SABBATO, Alberto; DE FÁTIMA VIDAL, Maria. EVOLUÇÃO DA AGRICULTURA FAMILIAR NORDESTINA: UMA ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE OS DOIS CENSOS AGROPECUÁRIOS. 2014.

MACHADO, A. C.; OLIVEIRA, R. C. Medicamentos Fitoterápicos na odontologia: evidências e perspectivas sobre o uso da aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urun de uva Allemão*). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, p. 283-289, 2014.

MOLENTO, M. B. et al. ALTERNATIVAS PARA O CONTROLE DE NEMATÓIDES GASTROINTESTINAIS DE PEQUENOS RUMINANTES. **Arquivo do Instituto Biológico, São Paulo**, v. 80, n. 2, p. 253-263, 2013.

REZENDE, Enio Antunes; RIBEIRO, Maria Teresa Franco. Alguns Condicionantes do Ambiente Institucional da Filiação das Plantas Mediciniais no Brasil. **Organizações & Sociedade**, v. 10, n. 26, 2014.

Ribeiro W.L.C., Macedo I.T.F., Santos J.M.L., Oliveira E.F., Camurça-Vasconcelos A.L.F., Paula H.C.B. & Bevilacqua C.M.L. 2013. Activity of chitosan-encapsulated *Eucalyptus staigeriana* essential oil on *Haemonchus contortus*. **Exp. Parasitol.** 135:24-29

Silva J.C.C., Teodoro J.A.R., Afonso R.J.C.F., Aquino S.F., Augusti R. 2014. Photolysis and photocatalysis of ibuprofen in aqueous medium: characterization of by-products via liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry and assessment of their toxicities against *Artemia Salina*. **J. Mass Spectrom.** 49(2): 145–153.

SOUZA, B. B. et al. Respostas fisiológicas de caprinos terminados em pastagem nativa no semiárido paraibano. **Journal of Animal Behaviour and Biometeorology**, 2013.

CAPITULO 1

**Estudo da Toxicidade do Extrato Hidroalcoólico de *Vitex gardneriana*
SCHAUER sobre *Artemia salina* e ovos e larvas de *Haemonchus
contortus* de ovinos.**

(Manuscrito enviado para o Periódico Pesquisa Veterinária Brasileira)

Estudo da Toxicidade do Extrato Hidroalcoólico de *Vitex gardneriana* SCHAUER sobre *Artemia salina* e ovos e larvas de *Haemonchus contortus* de ovinos¹.

Maira do Carmo de Medeiros^{2*}, Ana R. C. Ribeiro², Fábio D. Andrade², Ana Célia Rodrigues Athayde², Wilson Wouflan Silva², Onaldo Guedes Rodrigues², Danielle Leite Silva³.

ABSTRACT: Medeiros M.C., Ribeiro A.R.C., Andrade F.D., Athayde A.C.R., Silva W.W., Rodrigues O.G., Silva D.L. 2014. [Study of the toxicity of the hydroalcoholic extract of *Vitex gardneriana* SCHAUER on *Artemia salina* and eggs and larvae of *Haemonchus contortus*.] Estudo da toxicidade do extrato hidroalcoólico de *Vitex gardneriana* SHAUER sobre *Artemia salina* e ovos e larvas de *Haemonchus contortus* de ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Laboratório de Doenças Parasitárias de Animais Domésticos, Universidade Federal de Campina Grande, Avenida Universitária, S/N, Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brazil. E-mail: mariacar.medeiros@hotmail.com.

The objective of the research was to investigate the toxicity of the species *gardneriana* *Vitex*, on *Artemia salina* microcrustacean using hydroalcoholic extract of the leaves (EHF) with acute toxicity tests (LC₅₀) at concentrations of 100, 500, 1,000, 10,000, 20,000, and 50,000 / mL. As positive control we used sodium hypochlorite (NaClO) to 1%. Was used as negative control saline solution (pH 8-9) and 1% DMSO. After the analysis the results showed case fatality with 50% of the population of the metanaúplios microcrustacean over concentration 34,600 / mL demonstrating his low toxic potential. For the determination of toxic action of the hydroalcoholic extract *V. gardneriana* on eggs and larvae of *Haemonchus contortus* was added 2.5mL of said EHF plant in the concentration of 34,600 / ml in stool added monospecific the nematode cultures containing approximately 12,000 eggs. The results demonstrated that EHF has allowed only 26.6% of the total 12,000 hatching eggs, corresponding to a therapeutic efficiency of 73.3% whereas in control and efficiency hatchability were 50% with 6,000 larvae recovered. The data obtained in this research reveal the therapeutic potential of this plant, for a possible alternative use in parasite control.

INDEX TERMS: toxicity, bioassay, botanical extract, nematode.

RESUMO: O objetivo da pesquisa foi investigar a ação tóxica da espécie *Vitex gardneriana*, sobre o microcrustáceo *Artemia salina* utilizando extrato hidroalcoólico das folhas (EHF) com ensaios de toxicidade aguda (CL₅₀) nas concentrações: 100, 500, 1.000, 10.000, 20.000, e 50.000 µg/mL. Como controle positivo utilizou-se Hipoclorito de Sódio (NaClO) a 1%. Como controle negativo foi utilizado solução salina (pH 8-9) e DMSO a 1%. Após as análises os resultados demonstraram que houve letalidade em 50% da população de metanaúplios do microcrustáceo sobre a concentração 34.600 µg/mL, demonstrando seu baixo potencial tóxico. Para a determinação da ação tóxica do extrato hidroalcoólico da *V. gardneriana* sobre ovos e larvas de *Haemonchus contortus*, foi adicionado 2,5mL do EHF da referida planta concentração de 34.600 µg/ml adicionados em culturas fecais mono específicas do nematódeo, contendo aproximadamente 12.000 ovos. Os resultados demonstraram que o EHF permitiu apenas 26,6% de eclosão do total de 12.000 ovos, correspondendo a uma eficiência terapêutica de 73,3%, enquanto que no controle a eclodibilidade e eficiência foram de 50%, sendo recuperadas 6.000 larvas. Os dados obtidos nesta pesquisa revelam o potencial terapêutico desta planta, para uma possível utilização alternativa no controle parasitário.

Termos de Indexação: toxicidade, bioensaio, extrato botânico, nematódeo.

¹Recebido em

Aceito para publicação em.....

²Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Avenida Universitária S/N - Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brazil. E-mail: a.raquel.ribeiro@hotmail.com, medvetfabio@hotmail.com, Athayde@cstr@hotmail.com, wouflan@hotmail.com, Onaldo@cstr.ufcg.edu.br; *Autor para correspondência: mariacar.medeiros@hotmail.com.

³Centro de Ciência e Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Rua Jário Vieira Feitosa, nº 1770, Bairro Pereiros, Pombal, PB 58.840-000, Brazil. E-mail: Danielle-leite@hotmail.

INTRODUÇÃO

A produção de pequenos ruminantes hoje é tida como uma importante fonte de renda familiar nos países em desenvolvimento. A região nordeste do Brasil concentra grande parte dos rebanhos com 94% de caprinos e 55% de ovinos (LIMA *et al.* 2013). Contudo um dos grandes obstáculos para o crescimento satisfatório desses animais são as verminoses causadas por nematódeos gastrointestinais (Costa *et al.* 2011).

A técnica eficaz para o controle desses parasitas até pouco tempo, tradicionalmente era o uso de fármacos sintéticos, tendo como consequência o surgimento da resistência anti-helmíntica originando a preocupação com resíduos nos produtos animais (Silva *et al.* 2010) e no meio ambiente. Novas formas de controle de parasitoses vêm sendo testadas em busca do melhoramento na produção desses animais incluindo o uso da fitoterapia, sendo promissor o potencial de plantas ricas em substâncias bioativas, especialmente taninos no controle de nematoides (Oliveira. 2013).

O parasita *Haemonchus contortus* destaca-se por sua alta prevalência e seu elevado potencial patogênico e de prolificidade (Fontes & Molento. 2013), interferindo diretamente nos resultados econômicos da produção de pequenos ruminantes (Cunha *et al.* 2014). Nos trópicos, em média 95% dos caprinos estão infectados, principalmente por *Haemonchus spp.* e *Trichostrongylus spp.*, apresentando taxa de mortalidade acima de 40% (Githigia *et al.* 2001).

A espécie *Vitex gardneriana*, popularmente conhecida como Jaramataia, pertence à família Lamiaceae, de ocorrência endêmica do Brasil. Distribuída na região nordeste, é normalmente encontrada em margens de rios, lagos, córregos e terrenos de várzeas. O gênero possui um vasto histórico de utilização popular medicinal nas formas de infuso ou xarope. A indicação mais comum diz respeito ao controle das síndromes inflamatórias (Marinho *et al.* 2011). Existem diversos trabalhos científicos que apresentam outras espécies de *Vitex* associada a efeitos terapêuticos (Barreto *et al.* 2008), como a *Vitex agnus-castus* utilizada para irregularidades na síndrome pré-menstrual como mastalgia, também na retenção líquida, hiperprolactinemia e na infertilidade ocasionada pelo decréscimo nos níveis de progesterona (Iftoda *et al.* 2009).

A *Artemia salina* um microcrustáceo marinho, vem sendo constantemente utilizado como crivo inicial para avaliação tóxica de extratos de plantas pela praticidade e viabilidade de sua execução metodológica, econômica e asséptica (Andrade *et al.* 2014). Seus resultados podem ser direcionados a testes biológicos específicos, como anti-parasitário (Silva *et al.* 2014).

Diante do histórico apresentado pela planta, o presente estudo objetivou avaliar o efeito tóxico do extrato hidroalcoólico das folhas de *V. gardneriana* frente à *A. salina* e seu potencial ovicida e larvicida para *H. contortus* de ovinos.

MATERIAL E MÉTODOS

Local da pesquisa

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório Multiusuário de Pesquisas Ambientais (LAMPA), nos setores de Farmacologia e de Doenças Parasitárias de Animais Domésticos (LDPAD), da Universidade Federal da Paraíba UFCG- Patos.

Coleta do Material Botânico

As coletas e herborização do material vegetal foram realizadas baseando-se em metodologias propostas pelo Manual Técnico da Vegetação Brasileira (IBGE, 2012). As folhas de *V. gardneriana* foram coletadas as margens do rio Piranhas, município de Pombal-PB (06°46'55.8"S / 37°48'30.6"W), em novembro de 2013. A confecção, identificação, herborização e tombamento da espécie foram realizados pela equipe de taxonomia do herbário CSTR da Universidade Federal de Campina Grande – Patos-PB, e depositada sobre o número 4960.

Obtenção dos Extratos Botânicos

Foi confeccionado extrato das folhas de *V. gardneriana*, com preparação baseada em metodologias de Pereira *et al.* (2009). As folhas foram maceradas e submergidas em solvente orgânico tipo álcool cereal a 70%, após 96h de extração a frio, foram realizadas filtrações simples e o extrato orgânico mantido à temperatura ambiente (30±2°C) para evaporação total do solvente e obtenção do extrato botânico, seguido de roto evaporação (32 rpm) a uma pressão de 540 mmHg, e temperatura de 45°C para concentração do extrato por um período de 3:00h.

Determinação da CL₅₀

Para determinação da CL₅₀ os ensaios basearam-se na metodologia descrita por Araújo *et al.* (2010). Os testes foram realizados em triplicata com dez náuplios de *A. salina* em placas de Eliza contendo NaCl (pH 8 a 9), extrato dissolvido em solução de dimetilsulfóxido (DMSO) a 1% para as concentrações de 100, 500, 1.000, 10.000, 20.000, e 50.000 µg/mL com um volume final de 5mL por cada poço. Como controle positivo utilizou-se hipoclorito de sódio (NaClO) a 1%, como controles negativo solução salina e DMSO 1%. Após 24h em contato com essas soluções, realizou-se a contagem do número de náuplios sobreviventes, sendo consideradas mortas às larvas que permaneceram imóveis por mais de 10 segundos.

Análise de dados

Os valores obtidos com a média dos náuplios mortos foram submetidos à análise estatística, estimando-se a concentração letal para 50% (CL₅₀) das larvas pelo o método de Análise de Próbites, e pelo teste Spearman-Kärber com 95% de intervalo de confiança, utilizando-se o programa TRIMMED versão 1.5.

Ação biológica do extrato hidroalcoólico de *Vitex gardneriana* sobre ovos e larvas de *Haemonchu scontortus*.

Para avaliar a ação ovicida e larvicida foram realizadas coproculturas utilizando a metodologia adaptada de Roberts O'Sullivan (1950). Foram adicionados 2,5mL do extrato hidroalcoólico das folhas de *V. gardneriana* na concentração de 34.600,00µg/mL a culturas fecais mono específicas de *Haemonchus contortus*, contendo aproximadamente 12.000 ovos e para o grupo controle o extrato foi substituído por água destilada (Tabela 2). Os tratamentos foram realizados em triplicata. Após sete dias, em temperatura ambiente, procedeu-se a recuperação e contagem das larvas de terceiro estágio (L3) em microscópio óptico.

Para estimativa da eficiência do extrato sobre ovos e larvas nos tratamentos, foi utilizada a fórmula adaptada descrita por Camurça-Vasconcelos *et al.* (2007):

$$ET: \frac{L3 \text{ inicial} - L3 \text{ do grupo tratado}}{L3 \text{ inicial}}$$

Onde:

ET eficiência do extrato

L3 inicial corresponde à estimativa do número de larvas em cada coprocultura

L3 do grupo tratado corresponde à quantidade de larvas recuperadas após oito dias de incubação com os diferentes tratamentos.

Resultados

Na avaliação da toxicidade do extrato hidroalcoólico das folhas de *V. gardneriana*, os índices de mortalidade observados nos grupos de *A. salina* tratados nas concentrações de 100 a 10.000µg/mL não apresentaram óbito, enquanto que nas concentrações de 20.000 e 50.000µg/mL as mortalidades foram acima de 50% (Tabela 1), determinando uma CL₅₀ de 34.600,00 µg/mL para o EHF da planta. Essa toxicidade é considerada baixa segundo Mayer (1982), que determina tóxica uma substância que apresente CL₅₀ igual ou menor que 1.000 ppm.

Mediante metodologia aplicada à eficiência do extrato hidroalcoólico das folhas de *V. gardneriana* em *Haemonchus contortus* nas coproculturas, foi observado que do total de 12.000 ovos, houve eclosão de apenas 26,6%, sendo recuperado o total de 3.200 larvas o que representa uma eficiência de 73,3% (Tabela 2), corroborando a eficácia no controle do parasita citado.

Discussão

Sá-Barreto *et al.* (2008) avaliando a toxicidade aguda do extrato das folhas e caule de *V. gardneriana*, não constatou efeito tóxico sobre ratos após 72h de observação revelando uma DL₅₀ superior a 2.000 mg/kg, considerando do ponto de vista toxicológico sua utilização terapêutica não só do extrato das folhas como também da casca dos galhos.

A utilização do gênero *Vitex* tem sido frequentemente aplicada em pesquisas com diversas ações terapêuticas (Oliveira *et al.*, 2012). Sá Barreto *et al.* (2007) em testes preliminares com os

extratos secos das folhas, das cascas do caule e da aucubina isolada de *V. gardneriana* revelou importante atividade moluscicida frente aos embriões de *Biomphalaria glabrata*, podendo ser utilizada no controle ao hospedeiro intermediário da esquistossomose mansônica, patologia tropical endêmica. A presença de aucubina, um iridóide glicolisado frequentemente descrito no gênero *Vitex sp.* apresenta diversas atividades farmacológicas como antiinflamatória, antimicrobiana e anteprotzoária, porém com ação anti-helmíntica existem poucos relatos na literatura consultada.

A baixa toxicidade da *Vitex gardneriana* sobre *Artemia salina* possibilita a utilização segura desta planta em atividades biológicas, que somada aos resultados dos testes aplicados para ação ovicida e larvicida em *Haemonchus contortus*, apresenta um possível potencial no controle alternativo parasitário.

Para avaliação do extrato nas coproculturas, a justificativa da ação anti-helmíntica positiva do EHF de *V. gardneriana* no presente trabalho se fazem necessários estudos fitoquímicos mais aprimorados buscando identificar e isolar componentes presentes na planta, especificamente nas folhas, com prováveis efeitos antiparasitários, tendo essa espécie relato científico da presença de diversos grupos químicos com possíveis utilizações terapêuticas.

Agradecimentos – A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de mestrado e a todos que colaboram direto ou indiretamente para realização da pesquisa.

REFERÊNCIAS

- Andrade F.D., Ribeiro A.R.C., Medeiros M.C., Fonseca S.S., Athayde A.C.R., Ferreira A.F., Rodrigues O.G. & Silva W.W. 2014. Ação anti-helmíntica do extrato hidroalcoólico da raiz da *Tarenaya spinosa* (Jacq.) Raf. no controle de *Haemonchus contortus* em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 34(10):942-946. L
- Araújo M.G.D., Cunha W.R. & Veneziani R.C.S. 2010. Estudo fitoquímico preliminar e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de extrato obtido de frutos de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hill (Solanaceae). *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 31(2), 205-209
- Barreto L.C.L., Xavier H.S., Barbosa-Filho J.M. & Braz-Filho R. 2005. Ecdysteroid and iridoid glycoside from *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 15, n. 1, p. 51-54.
- Costa V.M., Simões S.V., & Riet-Correa F. 2011. Controle das parasitoses gastrintestinais em ovinos e caprinos na região semiárida do Nordeste do Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 31(1), 65-71.
- Cunha M.P.V., Alves Neto A.F., Suffredini I.B. & Abel L.J.C. 2014. Evaluation of the anti-helminthic activity of crude extracts from the Brazilian Amazon and Mata Atlântica plants against *Haemonchus contortus*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 66, n. 2, p. 374-380.
- Da Silva L.R., Santos P.A., Nunez C.V., de Oliveira T.A., Ronchi-Teles B. & da Fonseca C.R. 2012. Insecticidal activity of *Vitex cymosa* (Lamiaceae) and *Eschweilera pedicellata* (Lecythidaceae) extracts against *Sitophilus zeamais* adults (Curculionidae). *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 24(1). V.24, n.1
- De Sa Barreto L.C.L., de B. Carvalho E.F.N., da Cunha-Filho M.S.S., Ferreira C.P. & Xavier H.S. 2007. Atividade Moluscicida de Extratos e de Aucubina de *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae) em Embriões da *Biomphalaria glabrata*. *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 26, n. 3, p. 339.
- Fortes F. S. & Molento M. B. (2013). Resistência anti-helmíntica em nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes: avanços e limitações para seu diagnóstico. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(12), 1391-1402.

- Githigia S.M., Thamsborg S.M., Munyua W.K., Maingi, N. 2001. Impact of gastrointestinal helminths for production goats Kenia. *Small Ruminant Research*. v. 42, n. 1, p. 21-29.
- IBGE 2012. Manual técnico da vegetação brasileira: sistema fitogeográfico, inventário das formações florestais e campestres, técnicas e manejo de coleções botânicas, procedimentos para mapeamentos. 2a ed. IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro, 275p.
- Iftoda D.M., Oliveira F.K., Utsunomiya H.K., Moriya M., Uetuki M.A., Braggion A. & Lopes L.C. 2009. *Cimicifuga racemosa L., Trifolium pratense L. e Vitex agnus-castus L.*: a correspondência das indicações contida nas bulas dos fitoterápicos e o respaldo científico. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 27(2), 169-176.
- Marinho M.G.V., Silva C.C., Andrade L.H.C. 2011. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de caatinga no município de São José de Espinharas, Paraíba, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 13, n. 2, p. 170-182.
- Oliveira L.D.R.D. 2013. Plantas medicinais como alternativa para o controle de *Haemonchus contortus* em ovinos: testes in vitro e in vivo. (tese de Mestrado não publicada, Universidade de Brasília).
- Pereira E.C., Lucetti D.L., Barbosa-Filho J.M., de Brito E.M., Monteiro V.S., Patrocínio M.C.A. & Vasconcelos S.M.M. 2009. Coumarin effects on amino acid levels in mice prefrontal cortex and hippocampus. *Neuroscience letters*, 454(2), 139-142.
- Roberts F.H.S. & O'Sullivan J.P. 1950. Methods for egg counts and larval cultures for *strongyles infesting* the gastrointestinal tract of cattle. *Australian Journal of Agricultural Research*. 1:99-102.
- Sá-Barreto L.C., Cunha-Filho, MSS, Souza, IA, Fraga, MC, & Xavier, HS, 2008. Avaliação Preliminar da Atividade Biológica e Toxicidade Aguda de *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae). *Latin American Journal of Pharmacy*, 27(6), 909-13.
- Silva J.C.C., Teodoro J.A.R., Afonso R.J.C.F., Aquino S.F., Augusti R. 2014. Photolysis and photocatalysis of ibuprofen in aqueous medium: characterization of by-products via liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry and assessment of their toxicities against *Artemia Salina*. *J. Mass Spectrom.* 49(2): 145-153.
- Silva C.F., Athayde A.C.R., Silva W.W., Rodrigues O.G., Vilela V.L.R., Marinho P.V.T. 2010. Avaliação da eficácia de taboa (*Typhadomingensis* Pers.) e batata-de purga [*Operculina hámiltonii*(G. Don) D.F. Austin & Staples] in natura sobre nematóides gastrintestinais de caprinos, naturalmente infectados, em clima semi-árido. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, Vol.12(4), pp.466-471.

Tabela 1. Mortalidade de *A. salina* e valores de CL50 calculados para o extrato hidroalcoólico das folhas de *Vitexgardneriana* e respectivos intervalos de confiança de 95%.

Concentração do EHF	Mortalidade de <i>A. Salina</i>				CL50 (µg/mL)	Intervalo de confiança
	G1	GC1	GC2	GC3		
100	-	-	-	30		
500	-	-	-	29		
1.000	-	-	-	30	34.600,79	31.504,75 - 38.001,07
10.000	-	-	-	30		
20.000	26	-	-	30		
50.000	29	-	-	30		

G1: (Grupo tratado com Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *V. gardneriana*); GC1: Grupo Controle Negativo DMSO 1%); GC2: (Grupo Controle: Solução Salina Isotônica); GC3: (Grupo Controle: Positivo NaClO 1%); (-): Inativa; CL50: (Concentração Letal a 50%).

Tabela 2. Percentual e eficiência da concentração do extrato hidroalcoólico das folhas de *V. gardneriana* sobre ovos e larvas *Haemonchus contortus* de ovinos.

Tratamento	Concentração (µg/ml)	Total de L3	Eclodibilidade (%)	Eficiência (%)
Jaramataia	34.600,79	3200	26,6	73,3
Controle	Água destilada	6000	50	50

CAPÍTULO 2

Avaliação *In vivo* da atividade antiparasitária do extrato hidroalcolico de *Vitex gardneriana* Shauer (Lamiaceae) em *Haemonchus contortus* de ovinos.

(Artigo enviado para a Revista Brasileira de Plantas Mediciniais)

**Avaliação *in vivo* da atividade antiparasitária do extrato hidroalcoólico de
Vitex gardneriana Shauer (Lamiaceae) em *Haemonchus***

***contortus* de ovinos.**

**MEDEIROS, M.C.^{1*}; RIBEIRO, A.R.C.¹; ANDRADE, F.D.¹; ATHAYDE,
A.C.R.¹; SILVA, W.W.¹; RODRIGUES, O.G.¹; FONSECA, S.F.²**

¹Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Campina Grande, Avenida Universitária, S/N, Bairro Santa Cecília, Patos, CEP:58708-110, Brasil. *mariacar.medeiros@hotmail.com

55(83)88555341.²Laboratório de Patologia Clínica, Hospital Veterinário, Avenida Universitária, S/N, Bairro Santa Cécilia, Patos, CEP:58708-110, Brasil.

Resumo:A pesquisa objetivou avaliar o potencial ante-helmíntico do extrato botânico das folhas de *Vitex gardneriana* *in vivo* em ovinos para *Haemonchus contortus*. Foram utilizados 20 animais sem padrão racial definido (SPRD) os quais foram vermifugados com ivermectina a 1% via parenteral e albendazol a 10% via oral para isenção total de carga parasitária. Foram realizadas coproculturas para obtenção de cultura pura das larvas infectantes e posteriormente inoculadas 3.000 larvas de *H. Contortus* em três aplicações diárias consecutivas. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos, Grupo (G1) para controle positivo (ivermectina a 1%), Grupo (G2) controle negativo (água), Grupo (G3)

e Grupo (G4) foram oferecidos 34.600 µg/mL e 69.200 µg/mL do extrato hidroalcoólico das folhas (EHF), respectivamente. Os valores das dosagens foram pré-estabelecidos por ensaio biológico de toxicidade (CL₅₀). Nos animais tratados com EHF de *V. gardneriana*, observou-se que para a dosagem menor (34,600 µg/mL) do G3 a eficácia do extrato foi inferior (49,6%) ao do fármaco G1(63,03%), no entanto, no G4 com maior dosagem do extrato (69,200 µg/mL), os resultados obtidos foram semelhantes ao G1. Em todos os grupos foram realizados exames hematológicos para verificação do Volume Globular (VG), que manteve-se dentro dos valores estabelecidos como normais pela Organização Mundial de Saúde (OMS). A espécie *Vitex gardneriana* apresenta-se como alternativa importante para controle de *H. contortus* de ovinos.

Palavras-chave: extrato das folhas, antiparasitário, *Haemonchus contortus*.

ABSTRACT: *In vivo* evaluation of antiparasitic activity of hydroalcoholic extract of *Vitex gardneriana* Shauer (Lamiaceae) *Haemonchus contortus* in sheep. The research aimed to evaluate ante-helminth potential of the botanical extract of *Vitex leaves gardneriana* *in vivo* in sheep to *Haemonchus contortus*. 20 animals were used without defined breed (SPRD) which were dewormed with ivermectin 1% via parenteral and albendazole 10% orally for full exemption of parasite load. The animals were randomly distributed in four groups, group (G1) to a positive control (ivermectin 1%), group (G2), negative control (water), group (G3) and Group (G4) were offered 34,600 mg / ml and 69,200 / mL of the hydroalcoholic extract of the leaves

(EHF), respectively. The values of measurements were pre-established by biological toxicity test (LC50). In animals treated with EHF *V. gardneriana* observed that for the smallest dose (34,600 mcg, ml) G3 effectiveness of the extract was less than (49.6%) of the drug G1 (63.03%), the However, with the higher dosage G4 extract (69.200 mg / mL), the results obtained were similar to G1. In all groups were performed hematological exams to verification the Corpuscular Volume (VG), which remained within the values established as normal by the World Health Organization (WHO) The species *Vitexgardneriana* presents itself as an important alternative to controlling *H. contortus* in sheep.

Keywords: extract of the leaves, antiparasitic, *Haemonchus contortus*.

Introdução

A importância econômica da caprino e ovinocultura é bastante relevante no mercado nacional e mundial apresentando um considerável crescimento no consumo de carne e leite (Cunha *et al*, 2014). No Brasil os problemas observados na criação de caprinos e ovinos são os mesmos de um extremo a outro do país. As doenças parasitárias acometem os rebanhos de pequenos ruminantes sem distinção de faixa etária retardando o desenvolvimento e desempenho dos animais e afetando a qualidade de seus produtos e derivados (Santos *et al*, 2012), especialmente a hemoncose, patologia causada pelo parasita gastrointestinal com maior prevalência, o *Haemonchus contortus* (Almeida *et al*, 2013).

H. contortus tem sido mundialmente estudado tanto nas suas características morfométricas quanto biológicas para proporcionar diagnósticos mais precisos (Nascimento *et al*, 2013), devido a sua alta prevalência e importância como agente causador de doenças e sua prevalência (Andrade *et al*, 2014). A resistência anti-helmíntica que vem sendo desenvolvida pelos nematódeos gastrintestinais também participa dos sérios problemas enfrentados pela cadeia produtiva de ovinos (Ribeiro *et al*, 2014). Linhagens de nematódeos resistentes aos principais fármacos utilizados no controle dessas parasitoses requerem a busca por novas alternativas que possam auxiliar para uma melhor eficiência dessas moléculas (Molento *et al*, 2013).

As plantas medicinais atualmente tem sido as principais fornecedoras de componentes naturais para a síntese de medicamentos (Sousa *et al*, 2013), apresentando um significativo crescimento mundial no uso de fitoterápicos, despertando o interesse de grandes indústrias do setor farmacêutico (Torres & Sousa, 2010). Para tal, são utilizadas variadas formas farmacêuticas a base destes compostos, que vão desde pó, cápsulas, soluções hidroalcoólicas e infusões (Machado & Oliveira, 2014).

A *Vitex gardneriana* Schauer (Lamiaceae) popularmente conhecida como jaramataia, é considerada uma árvore de pequeno porte, evidenciada no sertão nordestino do Brasil, com habitat em mata ciliar. Há relatos de sua utilização empírica principalmente em processos inflamatórios gerais (Sa Barreto *et al*, 2007). A espécie possui, também, registros na literatura de ensaios toxicológicos e testes terapêuticos avaliando efeitos anti-edematogênicos, antinociceptivos, hipnótico e atividade muluscicida em

embriões de *Biomphalaria glabrata*. Apesar do conhecimento de seu uso etnofarmacológico como antiparasitário, não existe registros de dados científicos que demonstrem sua ação ante-helmíntica, o que sugere a necessidade de investigação da espécie como uma possível alternativa para o controle de helminto. O gênero *Vitex* precisa ser investigado, com bases farmacognósticas, de forma sistemática para que o potencial dessas espécies possa ter sua indicação como agentes terapêuticos (Rani & Sharma, 2013).

Material e Métodos

Local da pesquisa

A pesquisa foi desenvolvida no Núcleo de Pesquisa para o Trópico Semiárido (NUPEÁRIDO), do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da UFCG – Patos, na microrregião do semiárido paraibano, com predominância climática seca e temperatura anual variando entre 28,7º a 32,5ºC. Altitude média de 270m com 07º04'85" S e 37º16'49" O.

Coleta de material botânico

As coletas e herborização do material vegetal foram realizadas baseando-se em metodologias propostas pelo Manual Técnico da Vegetação Brasileira (IBGE, 2012). As folhas de *V. gardneriana* foram coletadas as margens do rio Piranhas, município de Pombal-PB (06º46'55.8"S 37º48'30.6"W), em novembro de 2013. A confecção, identificação, herborização e tombamento da espécie foram realizados pela equipe de taxonomia do herbário CSTR da Universidade Federal de Campina Grande – Patos-PB, e depositada sobre o Número ≠ 4960.

Obtenção dos extratos botânicos

Foi confeccionado extrato das folhas de *V. gardneriana*, com preparação baseada em metodologias de Pereira *et al* (2009). Utilizou-se álcool cereal a 70% como solvente orgânico, após 96h de extração a frio, foram realizadas filtrações simples e o extrato orgânico mantido à temperatura ambiente ($30\pm 2^{\circ}\text{C}$) para evaporação total do solvente e obtenção do extrato botânico, seguido de evaporação rotativa a temperatura de 45°C para concentração do extrato.

Obtenção de cultura pura de *H. contortus*

Foram coletadas amostras de fezes direto da ampola retal de ovinos naturalmente infectados da fazenda NUPEÁRIDO da UFCG, Campus Patos. As amostras foram transportadas até o Laboratório de Doenças Parasitárias de Animais Domésticos (LDPAD) da UFCG para preparação de coproculturas pela técnica de Robert's & O'Sullivan (1950) até o desenvolvimento das larvas infectantes com posterior identificação de acordo com a morfologia descrita por Ueno & Gonçalves (1998). Em seguida foram administradas 3.000 larvas via oral em três doses diárias consecutivas aos animais experimentais com vermifugação previa de sete dias.

Animais e tratamentos

Foram utilizados 20 ovinos sem padrão racial definido (SPRD), com média de idade de 12 meses e peso médio de 15 kg/PV, e submetidos a um período de adaptação (30 dias), mantidos em baias com piso ripado suspensos a sombra, sendo oferecidas água e ração *ad libitum*. Os animais foram vermifugados com ivermectina a 1% via parenteral e albendazol a 10% via oral para eliminação de carga parasitária, o que foi atestado com realização de OPG após sete dias.

Infecção artificial dos ovinos

Foram inoculadas 3.000 larvas infectantes de *Haemunchus contortus* em três aplicações diárias consecutivas, após vinte e um dia foram realizadas contagem de ovos certificando o grau de infecção dos animais com OPG acima de 3.000 ovos.

Formação dos grupos experimentais

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos com cinco repetições e seus devidos tratamentos conforme descrito na tabela 1.

TABELA 1. Distribuição dos grupos experimentais para avaliação *in vivo* da atividade antiparasitária do extrato hidroalcoólico de *Vitex gardneriana* Shauer (*Lamiaceae*) sobre *Haemonchus contortus* de ovinos:

Grupo	Animais	Tratamento	Concentração	Dosagem	Aplicação	
					Via	dia
G1	5	Ivermectina	1%	1 ml/Kg/PV	Parenteral	zero
G2	5	Água	0	10 ml	Oral	0, 7, 14, 21 e 28
G3	5	EHF	34.600	10 ml	Oral	0, 7, 14, 21 e 28
G4	5	EHF	69.200	10 ml	Oral	0, 7, 14, 21 e 28

EHF:(Extrato Hidroalcoólico das folhas); G1:(controle positivo Ivermectina a 1%); G2:(controle negativo água); G3: (EHF a 34.000 µg/mL); G4: (EHF a 69.200 µg/mL)

Coleta e análises das amostras

Foram realizadas coletas de fezes direto da ampola retal dos animais nos dias zero, 7, 14 e 28 para avaliação parasitológica. O material coletado foi encaminhado ao Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos (LDPAD), do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da

UFCG, para realização de OPG segundo Gordon & Whitlock (1939), modificada por Ueno & Gonçalves (1998).

Para a determinação do volume globular (VG) as amostras de sangue foram coletadas por pulsão da veia jugular nos dias 0, 14 e 28 acondicionadas em tubos estéreis contendo Ácido Etileno Diamino Tetra-Acético a 10% (EDTA) como anticoagulantes e encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UFCG para determinação de VG.

Análise estatística

Os resultados obtidos com a contagem de OPGs foram transformados em $\log(x + 1)$ e avaliados pela ANOVA de uma via e submetidos ao teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram submetidas ao software BIOESTAT 5.0 (Ayres *et al*, 2007). Para determinação da eficácia do EHF de *V. gardneriana* nos grupos tratados utilizou-se a fórmula de redução de ovos por grama de fezes (RCOF) segundo Coles *et al*, (1992).

Os dados de hematologia foram submetidos a análises de variância pelo teste de Tukey com o nível de 5% de significância. Os valores encontrados foram calculados no programa estatístico SAS (versão 9.1).

Procedimento ético

O trabalho foi submetido à Comissão de ética no Uso de Animais (CEUA) do CSTR da UFCG com liberação sobre o nº de protocolo 197/2014.

Resultados e discussão

Os dados expostos na tabela 2 avaliando a eficiência do EHF demonstram que o grupo de animais tratados com ivermectina (G1) apresentaram pelo teste RCOF um resultado inferior (63,33%) aos recomendados pela OMS, que considera um vermífugo eficiente quando sua eficácia parasitária seja igual ou superior a 95%. Nos tratamentos com EHF de *V. gardneriana*, observou-se que para a dosagem menor (34,600 µg/mL) do grupo G3 a eficácia do extrato foi inferior (49,6%) ao do fármaco G1(63,03%). Porém, para o grupo G4, tratado com a maior dosagem do extrato (69,200 µg/mL), os resultados obtidos foram semelhantes ao do G1 (63,33%). Estatisticamente não houve diferença significativa. A redução da carga parasitária ocorreu de modo gradativo crescente para o grupo G4 tratado com o extrato da planta, isso pode ter ocorrido devido ao acúmulo dos princípios ativos nos animais ao longo do tratamento, quando se observa diferença estatística nas linhas dos tratamentos. Fato este observado também no grupo G3 com maior redução nos dias 21 e 28.

Em estudos com plantas da família Lamiaceae, a exemplo da *Ocimum gratissimum* Linn sobre *Haemonchus contortus* de caprinos e ovinos, foi percebido um alto percentual da inibição da eclosão de ovos, quando do uso de seu óleo essencial, se assemelhando ao controle positivo de tiabendazol (0,5%), em que o resultado observado foi de 100.0 ± 0.0 % (Sousa *et al*, 2013), o que demonstra que a referida família possivelmente integra princípios ativos semelhantes com as outras espécies de Lamiaceae que atua sobre este grupo de parasita.

TABELA 02: Média aritmética, re-transformada $[(\log(x+1))]$, e desvio padrão do OPG de ovinos artificialmente infectados com *H. contortus*, submetidos aos tratamentos com EHF de *Vitex gardneriana*.

Tratamentos	OPG Dia zero	OPG Dia 07	OPG Dia 14	OPG Dia 21	OPG Dia 28	RCOF (%)
G1	3000±300 ^a	1433±200 ^b	1480±250 ^b	1580±280 ^b	1100±200 ^b	63,33 ¹
G2	3060±320 ^a	2560±330 ^a	2900±300 ^a	3620±330 ^a	3900±250 ^a	0 ²
G3	3020±350 ^a	3400±300 ^a	3740±500 ^a	1840±200 ^b	1520±150 ^b	49,6 ³
G4	3300±280 ^a	2440±5300 ^b	2260±350 ^b	2700±200 ^b	1220±250 ^c	63,03 ¹

Letras diferentes por linha e números por coluna diferem estatisticamente ($P < 0,05$), pelo Teste de Tukey para amostras independentes. G1: Controle positivo, Ivermectina 1%; G2: Controle negativo, água. G3: Jaramataia 34 600 µg/ml; G4: Jaramataia 69 200 µg/ml.

Para as estimativas de volume globular (VG) os resultados demonstraram uma permanência dos valores médios encontrados para o G4 enquanto que os demais grupos tiveram um decréscimo no decorrer do experimento (Tabela 3). Uma possível interferência do extrato pode ter ocasionado essa estabilidade no VG, tendo o G4 recebido a maior dose, sendo os animais utilizados no estudo homogêneos e mantidos em igual situação.

TABELA 03. Valores percentuais médios do volume globular (VG) de ovinos artificialmente infectados com larvas *Haemonchus contortus* nos diversos tratamentos com EHF de *Vitex gardneriana*.

Dia	G1	G2	G3	G4
0	33,20±2,39 ^a	35,60±1,95 ^a	34,2±2,8 ^a	33,2±4,4 ^a
14	34,80 ±2,59 ^b	34,40±2,30 ^a	32,6±3,2 ^a	33±4,1 ^a
28	34,20±1,92 ^b	29,20±1,30 ^b	32±6,9 ^a	33,2±3,3 ^a

G1: Controle positivo, Ivermectina 1%; G2: Controle negativo, água. G3: Pinhão 34.600 µg/ml; G4: Pinhão 69.200 µg/ml. Valores seguidos por letras diferentes, nas colunas, diferem estatisticamente ($p > 0,05$) pelo Teste de Tukey para amostras independentes.

Apesar da carga parasitária relativamente alta dos ovinos, não houve registro de anemia nos grupos experimentais e o volume globular manteve-se dentro dos valores estabelecidos como normais. Andrade *et al* (2014) avaliando o extrato hidroalcoólico da raiz de *Tarenaya spinosa* em *Haemonchus contortus* de ovinos, observou que os animais mesmo com alta carga parasitária não apresentaram anemia ou sinais clínicos de parasitose, resultados estes que se assemelham com os do presente estudo.

Conclusão

A partir da metodologia aplicada e dos resultados obtidos com o uso do EHF de *V. gardneriana* sobre *H. contortus* de ovinos, sua utilização pode ser indicada em associação com outras técnicas de manejo para o controle de nematódeos gastrintestinais de ovinos.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, T. L., BRUM, K. B., LEMOS, R. A., LEAL, C. R., & BORGES, F. A. (2013). Doenças de ovinos diagnosticadas no Laboratório de Anatomia Patológica Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(1), 21-29.

ANDRADE, F.D., RIBEIRO, A.R.C., MEDEIROS, M.C., FONSECA, S.S., ATHAYDE, A.C.R., RODRIGUES, O.G. & SILVA, W.W. 2014. Ação anti-helmíntica do extrato hidroalcoólico da raiz da *Tarenaya spinosa* (Jacq.) Raf.

no controle de *Haemonchus contortus* em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 34(10):42-46.

AYRES M., AYRES JÚNIOR M., AYRES D.L. & SANTOS A.A. 2007. BIOESTAT - Aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas. Ong Mamiraua. Belém, PA.

COLES, G.C., BAUER, C., BORGSTEEDE, F.H.M., GEERTS, S., KLEI T.R., TAYLOR, M.A. & WALLER, P.J. 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**. 44:35-44.

CUNHA, M. P. V. et al. Evaluation of the anti-helminthic activity of crude extracts from the Brazilian Amazon and Mata Atlântica plants against *Haemonchus contortus*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 2, p. 374-380, 2014.

DE SA BARRETO, Lívia Cristina Lira et al. Atividade Moluscicida de Extratos e de Aucubina de *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae) em Embriões da *Biomphalaria glabrata*. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 3, p. 339, 2007.

IBGE, 2012. Manual técnico da vegetação brasileira: sistema fitogeográfico, inventário das formações florestais e campestres, técnicas e manejo de coleções botânicas, procedimentos para mapeamentos. 2a ed. IBGE- **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, Rio de Janeiro, 275p.

MACHADO, A. C.; OLIVEIRA, R. C. Medicamentos Fitoterápicos na odontologia: evidências e perspectivas sobre o uso da aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urun de uva Allemão*). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 2, p. 283-289, 2014.

MOLENTO, M. B. et al. ALTERNATIVAS PARA O CONTROLE DE NEMATÓIDES GASTROINTESTINAIS DE PEQUENOS RUMINANTES. **Arquivo do Instituto Biológico, São Paulo**, v. 80, n. 2, p. 253-263, 2013.

NASCIMENTO, Janilene de Oliveira et al. Morphometric spect of *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803) from goats (*Capra hircus*) of semiarid region of Rio Grande do Norte, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 80, n. 4, p. 447-449, 2013.

PEREIRA, E.C., LUCETTI, D.L., BARBOSA-FILHO, J.M., DE BRITO, E.M., MONTEIRO, V.S., PATROCÍNIO, M.C.A., ... & VASCONCELOS, S.M.M., 2009. Coumarin effects on amino acid levels in mice prefrontal cortex and hippocampus. **Neuroscience letters**, 454(2), 139-142.

RANI, Anita; SHARMA, Anupam, 2013. The genus *Vitex*: A review. **Pharmacognosy reviews**, v. 7, n. 14, p. 18.

RIBEIRO, A.R.C., ANDRADE, F.D., MEDEIROS M.C., CAMBOIM A.S., PEREIRA Jr F.A., PEREIRA Jr F.A., SILVA W.W. & ATHAYDE A.C.R. 2014. Estudo da atividade anti-helmíntica do extrato etanólico de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. (Euphorbiaceae) sob *Haemonchus contortus*

em ovinos no semiárido paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 34 (11):51-55.

Roberts F.H.S. & O'Sullivan J.P. 1950. Methods for egg counts and larval cultures for *strongyle sinfisting* the gastrointestinal tract of cattle. *Australian Journal of Agricultural Research*. 1:99-102.

SANTOS, Fernanda Carlini Cunha; MONTEIRO, Silvia Gionzalez; VOGEL, Fernanda Silveira Flores. Extrato aquoso de alho (*Allium sativum*) sobre nematóides gastrintestinais de ovinos. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 7, n. 1, 2012.

SOUSA, R. G. et al. Atividade anti-helmíntica de plantas nativas do continente americano: uma revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 2, p. 287-292, 2013.

TORRES, R. P.; SOUZA, M.A.F. A Dinâmica do Mercado Farmacêutico Brasileiro Segundo o Modelo das Estratégias Genéricas de Porter. **Sociedade, Contabilidade e Gestão**. Rio de Janeiro. Vol. 5, n. Especial. 2010.

UENO, H.; GONÇALVES, V. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. Tóquio : Japan International Cooperation Agency, 1998. 143p.

ANEXOS

ANEXO I

1. Normas da revista. Envio do primeiro artigo (**Estudo da Toxicidade do Extrato Hidroalcoólico de *Vitex gardneriana* SCHAUER sobre *Artemia salina* e ovos e larvas de *Haemonchus contortus* de ovinos**). Enviado para a revista **Pesquisa Veterinária Brasileira**.

Objetivo e política editorial

Pesquisa Veterinária Brasileira tem como objetivo publicar os resultados de pesquisa original, a fim de contribuir para a manutenção da saúde animal, o que mais depende do conhecimento sobre a profilaxia sanitária e controle.

Publicado mensalmente, **PVB** publica trabalhos originais e artigos de revisão no campo da patologia veterinária no seu sentido geral, principalmente em relação a doenças do significado econômico e de interesse para a saúde pública.

Os trabalhos deverão ser enviados por e-mail ao Editor, Dr. Jürgen Döbereiner < jurgen.dobereiner@terra.com.br > ou para a revista < pvb@pvb.com.br > na versão mais recente do programa Word. Se necessário por causa de arquivos Figura pesados, eles poderiam ser submetidas por correio normal, em CD com um original impressa, a Revista Pesquisa Veterinária Brasileira, PO Box 74,591, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil.

Eles devem conter resultados de pesquisa original ainda não publicados ou considerados para publicação em outras revistas.

Apesar que Communications curtos não são aceitos, não há limite mínimo para o número de páginas, no entanto, o artigo deve conter as informações necessárias sobre experiências ou metodologia utilizados no estudo.

Papers são da responsabilidade dos autores, no entanto, o direito é reservado para o Editor de sugerir ou solicitar alterações na sequência de revisão por pares.

Apresentação de manuscritos

Os trabalhos devem sempre ser apresentada de acordo com a apresentação normal da revista (< www.pvb.com.br >) e o modelo incluído (PDF) da seguinte forma:

1. Os títulos. Os trabalhos devem ser organizados em Título, nome dos autores, resumo, os termos de índice, RESUMO e TERMOS de Indexação (Resumo e Índice Termos em Português, necessário não absoluto para artigos em Inglês apresentadas a partir de países estrangeiros), Introdução, Material e Métodos, resultados, discussão, conclusões (ou a combinação dos dois últimos), Agradecimentos e Referências. A lista de legendas de figuras, tabelas

e figuras reais deverão ser apresentados após as Referências.

a) **Título** este deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho;

b) **Os autores** devem abreviar seus nomes e usá-los de forma sistemática para a sua identificação científica e citação. Primeiro nome deve ser sempre grande para ajudar acesso ao *Currículo Lattes* do CNPq. Por exemplo, Paulo Fernando de Vargas Peixoto, utiliza Paulo V. Peixoto ou Peixoto PV; Franklin Riet-Correa Amaral, usa Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F.; Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva poderia usar Silvana Silva MMS ou Silvana MM Sousa-Silva, ou mais curto Silvana M. Medeiros Silva;

Os endereços profissional completo dos autores deve ser colocado em uma nota de rodapé na primeira página, com o autor correspondente e-mail;

c) **RESUMO** deve conter as mesmas informações apresentadas no Resumo Português, mas pode ser mais extensa. Ambos devem ser escritas de forma concisa usando o verbo no passado para incluir o que foi feito e quais foram os resultados e as conclusões mais importantes. Layout e tamanho do tipo deve seguir o formato normal, mostrado no jornal (< www.pvb.com.br >). Em jornais ingleses, o título em Português deve ser dada em negrito e entre parênteses após a palavra RESUMO, quando este deve ser o caso.

d) **Introdução** deve ser breve, com citações bibliográficas específicas, e deve explicar e justificar o objetivo do estudo;

e) **MATERIAIS E MÉTODOS** deve conter detalhes suficientes para permitir a repetição e verificação do trabalho experimental. As experiências com animais devem ter a aprovação pela Comissão de Ética local;

f) **RESULTADOS** deve conter a apresentação concisa dos dados obtidos. As tabelas devem evitar dados supérfluos, apresentando, sempre que possível, as médias das repetições. Os dados complexos são muitas vezes melhor expressa com gráficos e figuras em vez de nos quadros extensos. Por favor, evitar a repetição de dados em tabelas e gráficos (figuras);

g) **DISCUSSÃO** deve chamar a atenção para os importantes resultados e relacioná-los com a literatura. Evitar a especulação e as referências a dados não publicados;

f) **CONCLUSÕES** só deve ser com base nos resultados apresentados no papel;

g) **Agradecimentos** deve ser breve e não deve aparecer no texto ou em notas de rodapé;

h) **Referências** só deverá incluir literatura mencionada no papel e deve ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor. Esse nome deve ser seguido por aqueles de outros autores (todos em letras minúsculas), o ano, o título de cada publicação e o nome e detalhes de volume, número e páginas da revista ou livro. Estes devem ser de forma abreviada (ou extensiva, se há alguma dúvida) seguindo normas internacionais, conforme descrito no "Manual de Estilo para Jornais Biológicos" (Instituto Americano de Ciências Biológicas), "Guia bibliográfica para editores e autores" (American Chemical Society, Washington, DC), e os exemplos em edições recentes da revista

(www.pvb.com.br).

2. Texto

a) **layout e formato** deve ser Times New Roman e seguir o exemplo de últimas edições da revista (www.pvb.com.br). O texto deve ser escrito em uma coluna seguido por todas as tabelas, legendas de figuras e os valores reais abaixo dele. Figuras (incluindo gráficos) devem ser fornecidos como arquivos separadamente do texto; eles devem ser introduzidas no texto por meio de "inserir" da Palavra, porque as imagens copiadas e inseridas perder as informações do programa em que foram gerados, o que resulta sempre de má qualidade;

b) **Estilo** dos papéis deve ser clara e concisa. Este é ajudado por usar frases curtas precisos com amplo uso de pontuação e números corretos. Linguagem deve ser impessoal e, na medida do possível, no tempo passado. As referências a notas de rodapé devem ser números arábicos sobrescritos, após o texto relevante. Os números serão jogados ao pé da página. Tabelas e Figuras devem ser encaminhados também por número. Abstract e Resumo deve ser escrito em um único parágrafo e não conter citações;

c) **Siglas e abreviaturas** para os nomes das instituições deverão ser colocados entre parênteses e precedidas pelo nome extenso a primeira vez que eles são usados;

d) **Citações bibliográficas** devem ser feitas pelo "autor e ano" do sistema. Paç dois autores devem ser mencionados pelos nomes de ambos, e papéis de três mais autores, o nome do primeiro seguido de "et al." e no ano; se dois artigos podem ser distinguidos por esses elementos, diferenciação será feito através inserção de pequenas letras (a, b, c) imediatamente após os anos. Os artigos consultados pelo autor (s) na forma original completo deve ser diferenciado, mencionar no final da respectiva referência: "(Resumo)" ou "(Apud So-and-so e ano)"; a referência do artigo que serviu de fonte, devem ser incluídos na l apenas uma vez. A citação de comunicações pessoais e não os artigos ai publicados no texto é feita apenas dando nome e ano, e na lista de referênc adicionalmente, é dado o autor do Instituição em freios. Na citação de trabal dentro de freios, vírgulas não são usados entre o nome do autor eo ano, n ponto e vírgula após o ano; a separação entre os documentos é feita por vírgu como por exemplo: (.. Christian & Tryphonas 1971, Priester & Haves 1974, Lemo: al 2004, Krametter-Froetcher et al 2007);

e) a lista de referências com nomes dos autores escritos em caixa alta e baixa, e os nomes científicos em itálico, deve estar de acordo com o padrão adotado na última edição da revista, inclusive a ordem dos seus elementos.

Figuras (fotos, gráficos, desenhos ou mapas) devem preferencialmente ser netidos em sua forma original por via electrónica; quando as fotografias foram las com uma câmara digital (com extensão ".jpg"), os arquivos devem ser ados sem tratamento ou alterações. Fotos em papel deve ser apresentado em forma original, mesmo quando digitalizado pelo autor; eles devem ser tificadas no verso a lápis, com o respectivo número e nome do autor, e onde ; existir dúvida sobre, a parte inferior da figura deve ser indicado com a palavra . Os gráficos devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e o, sem fundo e sem linhas. A chave da convenção adoptada deveria ser incluído área da Figura; títulos no alto da ilustração deve ser evitado. Quando não ado por e-mail, figuras devem ser apresentadas em CD-Rom ou papel

ante. Na versão on-line da revista, Figuras podem ser publicadas em cores.

4. legendas das figuras devem conter informações suficientes para que estes sejam compreensíveis, e será apresentado no final do documento apresentado.

5. As tabelas devem ser explicativo para si e colocar no final do texto. Cada um deve ter o seu título completo e deve ser caracterizada por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre estas duas linhas pode haver outros mais curtos, para o agrupamento de colunas. Não há linhas verticais. Os sinais de chamada deve ser alfabética, de preferência começando com "um" em cada quadro; as notas deve ser lançada directamente abaixo do respectivo quadro, a partir da qual eles devem ser separados por uma curta linha, do lado esquerdo.

ANEXO II

2. Comprovação de envio do artigo ao periódico.

29/11/2014

[Documentos](#)

Estamos reenviando o trabalho com as correções solicitadas. Atenciosamente,
Maria do Carmo de Medeiros.



JurgenDobereiner (jurgen.dobereiner@pvb.com.br)

27/11/2014

[Documentos](#)

Prezada Dra. Maira, Em anexo, envio-lhe o seu Trabalho 4033 LD solicitando completar duas referências, conforme assinalado no próprio texto.

ANEXO III

3. Normas da revista. Envio do segundo artigo (**Avaliação *In vivo* da atividade antiparasitária do extrato hidroalcoólico de *Vitex gardneriana* Shauer (Lamiaceae) em *Haemonchus contortus* de ovinos**). Enviado para a **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**.

Escopo e política

A Revista Brasileira de Plantas Mediciniais [BJMP] é uma publicação trimestral dedicada à divulgação de artigos originais, revisões e notas preliminares, que devem ser inéditos, cobrindo as grandes áreas de plantas medicinais. Manuscritos envolvendo ensaios clínicos devem ser acompanhados de uma autorização do Comitê de Ética da Instituição onde o trabalho foi realizado. Os artigos podem ser escritos em Português, Inglês ou Espanhol; no entanto, um resumo em Inglês e Português é obrigatória, independentemente da linguagem usada. Os trabalhos devem ser enviados por e-mail para rbpm.sbpm@gmail.com, digitado em fonte Arial 12, espaço duplo, margens 2cm, o Word para Windows. Os números de telefone para qualquer contato urgente também devem ser incluídos na apresentação e-mail. Os artigos não devem exceder 20 páginas.

Para a publicação de artigos submetidos ao RBPM depois de 1 de Abril de 2013, há um custo de US \$ 300 (trezentos reais) a ser pago pelos autores somente ao receber a carta de aceitação, quando receberão também a factura e instrução de pagamento.

Forma e preparação de manuscritos

CRÍTICAS E NOTAS PRELIMINARES

Comentários e Notas preliminares devem ser basicamente estruturado em Título, Autores, Resumo, Palavras-chave, resumo, palavras-chave, texto, Confirmação (opcional) e Referências.

Deve ser dada especial atenção para os artigos de revisão; Ipsi Litteris-citação de outros textos publicados devem ser evitados, uma vez que significa plágio por lei.

ARTIGOS

Os artigos devem ser estruturados da seguinte forma: **TÍTULO:** O título deve ser claro e conciso, em negrito, com apenas a primeira letra em maiúscula e centralizado na parte superior da página. A legenda, se disponível, deve seguir o título, em letras minúsculas, e pode ser precedido por um algarismo romano. Os nomes comuns de plantas medicinais devem ser seguidos pelo nome científico

entre parênteses, disponíveis em www.tropicos.org e www.ipni.org .

AUTORES: Cite primeiro o último nome dos autores na íntegra (use apenas as iniciais do primeiro e nomes intermediários sem espaços e separados por vírgulas), em letras maiúsculas e em negrito, começando duas linhas abaixo do título. Após o nome de cada autor, um número sobrescrito deve indicar a respectiva Instituição e endereço (rua, CEP, cidade, país). O autor correspondente deve ser identificado com um endereço de e-mail. Os nomes dos autores devem ser separados por ponto-evírgula.

RESUMO: "Resumo" deve estar na página de título, começando duas linhas abaixo os nomes dos autores. Deve ser escrito em um único parágrafo, contendo objetivo, material resumido e métodos, resultados principais, e conclusão. Não há citações de literatura devem ser incluídos. **Palavras-chave:** "Palavras-chave" deve iniciar uma linha abaixo "Resumo" na margem esquerda, em negrito, e deve incluir até cinco palavras separadas por vírgulas.

RESUMO: Deve conter o título eo resumo em Inglês, com o mesmo formato do que em Português (parágrafo único), exceto para o título que deve ser digitado em negrito, com a primeira letra em maiúscula e após o termo abstrato.

Palavras-chave: As palavras-chave em Inglês deve ser digitado abaixo o **RESUMO** e deve incluir até cinco palavras separadas por vírgulas

INTRODUÇÃO: A introdução deve conter uma breve revisão da literatura e os objetivos do trabalho. Os autores devem ser citadas no texto de acordo com os seguintes exemplos: Silva (1996); Pereira & Antunes (1985); (Souza & Silva, 1986), ou quando há mais de dois autores, Santos et al. (1996).

MATERIAL E MÉTODO: As técnicas originais utilizados devem estar completamente descritos ou referências de trabalhos anteriores que esses métodos devem ser incluídos. As análises estatísticas também deve conter referências. Nos métodos, os seguintes dados relativos às espécies estudadas devem ser apresentados: nome científico e autor, nome do Herbarium onde a espécie de voucher é armazenado e seu respectivo número número do voucher).

RESULTADO E DISCUSSÃO: Estes podem ser apresentados separadamente ou como uma única seção, incluindo uma conclusão resumida no final.

AVISO: Se necessário, as confirmações devem ser escritos nesta seção.

REFERÊNCIA: As referências devem seguir os exemplos abaixo:

Revistas:

AUTOR (ES) separados por ponto e vírgula, sem espaços entre as iniciais. Título do trabalho. **Jornal título na íntegra** , volume, número, página inicial-página final, ano.

Kawagishi, H. et al. O fraccionamento e a actividade antitumoral do resíduo insolúvel em água de corpos de frutificação Agaricus. **Carbohydrate Research** , v.186, n.2, p.267-73, 1989.

Livros:

. AUTOR **título do livro**. Edition. Local de Publicação: Editora, Ano. Número total de páginas. Murria, RDH; Méndez, J .; BROWN, SA **As cumarinas naturais** :

ocorrência, química e bioquímica. 3.ed. Chinchester: John Wiley& Sons, 1982. 702P.

Capítulos:

autor (es) do capítulo. Título do capítulo. In: AUTOR (S) do livro. **Título do livro:** subtítulo. Edição. Lugar de publicação: Editora, ano, página inicial-página última. Huffaker, o metabolismo de proteínas RC. Steward, FC (Ed.): In. **fisiologia da planta:** um tratado. Orlando: Academic Press, 1983. p.267-33.

Tese ou Dissertação:AUTOR **Título:** subtítulo. Ano. Número total de páginas. Categoria (grau e área de concentração) - Instituição, Universidade, Place. OLIVEIRA, AFM **Caracterização de Acanthaceae Medicinais conhecidas Como Anador não Nordeste do Brasil.** 1995. 125p. Dissertação (Mestrado - Área de concentração em Botânica) - Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Trabalho de Evento:AUTOR (S). Título do trabalho. In: Título do evento em letras maiúsculas, número, ano, local. **tipo de publicação** ... Local: Editora, ano. primeira página-última página. VIEIRA, RF; MARTINS, MVM Estudos etnobotânicos de Espécies Medicinais de OSU populares no Cerrado. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE CERRADO, 3., 1996, Brasília. **Proceedings** Brasília: Embrapa, 1996. p.169-71.

Publicação Eletrônica:AUTOR (S). Título do trabalho. **títuloJournal** , volume, número, página inicial-página final, ano. Local: Editora, ano. Páginas. Disponível em: <<http://www.....>>. Acesso em: dia mês (abreviado) ano. PEREIRA, RS et al. . Atividade antibacteriana de Óleos Essenciais em cepas isoladas de Infecção urinaria **Revista de Saúde Pública** , v.38, n.2, p.326-8, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br> . Acesso em: 18 de abril de 2005. Não citar resumos e relatórios de pesquisa a menos que a informação é extremamente importante e não foi publicado como um formato diferente. As comunicações pessoais devem ser escritos como nota de rodapé na página são citadas, mas deve ser evitado, se possível. Citações como "Almeida (1994) citado por Souza (1997)" também devem ser evitados.

Tabelas: As tabelas devem ser inseridas no texto e digitado em fonte Arial 10, espaço simples. A palavra tabela deve ser digitado em letras maiúsculas, seguido por algarismos arábicos; no texto, tabelas deve ser digitado em letras minúsculas (Tabela). O título da tabela deve ser digitado em fonte Arial 12, enquanto os dados dentro da tabela deve estar em Arial 10.

FIGURAS: figuras (gráficos, fotografias, desenhos, mapas) devem ser digitados em letras maiúsculas, seguido por números arábicos, Arial 12, inseridas no texto. Quando citados no texto, letras minúsculas deve ser utilizado (Figura). Legendas e eixos devem ser digitados em fonte Arial 10. As fotografias devem ser enviadas em arquivos separados de 300 DPI de resolução, 800 x 600, extensão JPEG, para impressão de publicação.

Processo de Revisão: Os manuscritos são analisados por pelo menos dois revisores, de acordo com um guia para avaliação baseada principalmente na abordagem científica. Os revisores irá recomendar a aceitação, com ou sem a necessidade de reavaliação, a rejeição ou alterações; neste último caso, o artigo reescrito retornará ao revisor para uma avaliação final. Quando pelo menos dois revisores aprovar o manuscrito, sem a necessidade de uma reavaliação, ele estará pronto para publicação e o autor receberá a carta de aceitação e as instruções para o pagamento de custos (R\$ 300,00 / manuscrito) *. Nomes revisores "estão

escondidos, e os nomes dos autores também são ocultados colaboradores.

* Os artigos apresentados após 01 de abril de 2013 deve pagar os custos de publicação só aprovado.

Direitos de Autor: Ao submeter um artigo para a revista, os autores devem estar cientes de que, se for aceito para publicação, o seu autor, incluindo os direitos de reprodução em todas as mídias e formatos, será exclusivamente cedida à Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. A revista não recusará as solicitações legítimas dos autores para reproduzir seus artigos.

Atenção: Os artigos não coerentes com essas normas serão devolvidas aos autores.

Nota: As opiniões e conceitos apresentados nas exposições constituem exclusivo do autor responsabilidade. No entanto, o Conselho Editorial tem o direito de sugerir ou exigir que as modificações que considerem necessárias.

ANEXO IV

ARTIGO PARA SUBMISSÃO.

ARTIGO PARA SUBMISSÃO.

Ações

Maria do Carmo de Medeiros

30/12/2014

Documentos

Para: rbpm.sbp@gmail.com



Outlook.com [Exibição Ativa](#)

1 anexo (86,0 KB)



[Baixar como zip](#)

Estamos enviando o nosso trabalho para avaliação dessa respeitada revista para uma possível publicação na mesma. Agradecemos a atenção. Aguardamos contato.

Atenciosamente,

Maria do Carmo de Medeiros.