



FLORA • VEGETAÇÃO • ETNOBOTÂNICA

## Atividade ovicida e larvicida in vitro do óleo essencial de *Piper macedoi* Yunck sobre Tricostrongilídeos

**Ana Luiza Coutinho Matos Santana<sup>1</sup>**

*Universidade Federal do Sul da Bahia*

**Gisele Lopes de Oliveira<sup>2</sup>**

*Universidade Federal do Sul da Bahia*

**Sebastião Rodrigo Ferreira<sup>3</sup>**

*Universidade Federal do Sul da Bahia*

**Bruna Rafaela Machado Oliveira<sup>4</sup>**

*Universidade Federal do Sul da Bahia*

**Thiago Soares Rocha<sup>5</sup>**

*Universidade Federal do Sul da Bahia*

**Luanna Chácara Pires<sup>6</sup>**

*Universidade Federal do Sul da Bahia*

<sup>1</sup> Bacharel em Saúde. Graduanda em Medicina pela Universidade Federal do Sul da Bahia (UFSB). Mestranda no Programa de Pós-graduação em Saúde, Ambiente e Biodiversidade (PPGSAB) pela Universidade Federal do Sul da Bahia (UFSB), Teixeira de Freitas, Bahia, Brasil. Endereço para correspondência: Praça Joana Angélica, 58 - São José, Teixeira de Freitas, Bahia, Brasil, CEP: 45996-108. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8986-9102>.

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1658147982006830>. E-mail: [analuiza.coutinho.santana@gmail.com](mailto:analuiza.coutinho.santana@gmail.com).

<sup>2</sup> Doutora em Biotecnologia Vegetal e Bioprocessos pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Docente da Universidade Federal do Sul da Bahia (UFSB), Teixeira de Freitas, BA, Brasil. Endereço para correspondência: Praça Joana Angélica, 58 - São José, Teixeira de Freitas, Bahia, Brasil, CEP: 45996-108. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8036-299X>.

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9018193468807389>. E-mail: [gibiologia2@hotmail.com](mailto:gibiologia2@hotmail.com).

<sup>3</sup> Doutor em Parasitologia pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Docente da Universidade Federal do Sul da Bahia (UFSB), Teixeira de Freitas, BA, Brasil. Endereço para correspondência: Praça Joana Angélica, 58 - São José, Teixeira de Freitas, Bahia, Brasil, CEP: 45996-108. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1531-4980>.

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6811314821111877>. E-mail: [sebastiao.rodrigo@ufsb.edu.br](mailto:sebastiao.rodrigo@ufsb.edu.br).

<sup>4</sup> Doutora em Genética e Biologia Molecular pela Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC). Pós doutoranda em Ciência e Sustentabilidade pela Universidade Federal do Sul da Bahia (UFSB), Teixeira de Freitas, Bahia, Brasil. Endereço para correspondência: Praça Joana Angélica, 58 - São José, Teixeira de Freitas, Bahia, Brasil, CEP: 45996-108. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9483-0739>.

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8917240929203749>. E-mail: [brunarafaela.\\_@hotmail.com](mailto:brunarafaela._@hotmail.com).

<sup>5</sup> Mestre no Programa de Pós-graduação em Saúde, Ambiente e Biodiversidade (PPGSAB). ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6077-644X>.

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7720355087583691>. E-mail: [thiago.soaresr@hotmail.com](mailto:thiago.soaresr@hotmail.com).

<sup>6</sup> Doutora em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Docente da Universidade Federal do Sul da Bahia (UFSB), Teixeira de Freitas, BA, Brasil. Endereço para correspondência: Praça Joana Angélica, 58 - São José, Teixeira de Freitas, Bahia, Brasil, CEP: 45996-108. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7818-5899>.

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4745227664610152>. E-mail: [luanna.pires@gfe.ufsb.edu.br](mailto:luanna.pires@gfe.ufsb.edu.br).

## **RESUMO**

As plantas medicinais vem sendo uma alternativa utilizada para o controle das parasitoses gastrintestinais devido ao rápido desenvolvimento de populações de nematoídes resistentes. Objetivou-se avaliar o efeito do óleo essencial de *Piper macedoi* sobre a eclosão e desenvolvimento de larvas de tricostrostrongilídeos. Para os testes ovicida e de motilidade larval foram utilizadas cinco concentrações do óleo essencial ( $2.5 \text{ mg.ml}^{-1}$ ,  $5.0 \text{ mg.ml}^{-1}$ ,  $12.5 \text{ mg.ml}^{-1}$ ,  $25.0 \text{ mg.ml}^{-1}$  e  $50.0 \text{ mg.ml}^{-1}$ ) diluídas de modo seriado com Tween 80 a 1%. O controle negativo, em ambos os testes, foi Tween a 1% diluído em água destilada e o positivo foi 0.25 mg/ml de Albendazol no teste ovicida e 0.1mg/ml de Ivermectina no teste de motilidade larval. O óleo essencial de *P. macedoi* mostrou que as substâncias majoritárias foram os arilpropanoides apiol (28,26%) e dilapiol (26,93%). Assim como o tratamento controle positivo, o óleo na dosagem de  $25 \text{ mg.ml}^{-1}$  foi capaz de inibir a eclodibilidade das larvas de nematódeos gastrintestinais em 87,17% e teve a menor taxa de eclosão (12,83). A concentração de  $12.5\text{mg.ml}^{-1}$  apresentou um número de larvas mortas superior às demais concentrações, com eficácia de 64,20%, sendo superior ao controle positivo (ivermectina) de 41,63%. As CL50 e CL90 para o óleo essencial de *P. macedoi* foram estimadas em 0.21 e  $1.52 \text{ mg.ml}^{-1}$  para o teste de eclodibilidade e de 0.33 e  $1.49 \text{ mg.ml}^{-1}$  para a mortalidade larval. O óleo essencial de *Piper macedoi* apresentou resultados promissores na inibição da eclodibilidade dos ovos. Em relação a eficácia anti-helmíntica, os dados apresentaram-se moderadamente eficazes.

**Palavras-chave:** nematoídes; plantas medicinais; anti-helmíntica.

## **In vitro ovicidal and larvicidal activity of *Piper macedoi* Yunck essential oil on Trichostrongyles**

### **ABSTRACT**

Medicinal plants have been an alternative used to control gastrointestinal parasites due to the rapid development of resistant nematode populations. The objective of this study was to evaluate the effect of *Piper macedoi* essential oil on the hatching and development of trichostrongylid larvae. For the ovicidal and larval motility tests, five concentrations of the essential oil ( $2.5 \text{ mg.ml}^{-1}$ ,  $5.0 \text{ mg.ml}^{-1}$ ,  $12.5 \text{ mg.ml}^{-1}$ ,  $25.0 \text{ mg.ml}^{-1}$  and  $50.0 \text{ mg.ml}^{-1}$ ) were used, serially diluted with 1% Tween 80. The negative control in both tests was 1% Tween diluted in distilled water, and the positive control was 0.25 mg/ml of Albendazole in the ovicidal test and 0.1 mg/ml of Ivermectin in the larval motility test. The essential oil of *P. macedoi* showed that the major substances were the arylpropanoids apiol (28.26%) and dillapiole (26.93%). As with the positive control treatment, the oil at a dosage of  $25 \text{ mg.ml}^{-1}$  was able to inhibit the hatchability of gastrointestinal nematode larvae by 87.17% and had the lowest hatching rate (12.83). The concentration of  $12.5 \text{ mg.ml}^{-1}$  showed a higher number of dead larvae than the other concentrations, with an efficacy of 64.20%, being higher than the positive control (ivermectin) of 41.63%. The LC50 and LC90 for the essential oil of *P. macedoi* were estimated at 0.21 and  $1.52 \text{ mg.ml}^{-1}$  for the hatchability test and 0.33 and  $1.49 \text{ mg.ml}^{-1}$  for larval mortality. *Piper macedoi* essential oil showed promising results in inhibiting egg hatchability. Regarding anthelmintic efficacy, the data showed moderate effectiveness.

**Keywords:** nematodes; medicinal plants; anthelmintics.

## **Actividad ovicida y larvicia in vitro del aceite essencial de *Piper macedoi* Yunck sobre tricostrongilos**

### **RESUMEN**

Las plantas medicinales han sido una alternativa utilizada para el control de parásitos gastrintestinales debido al rápido desarrollo de poblaciones de nematodos resistentes. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del aceite esencial de *Piper*

*macedoi* en la eclosión y el desarrollo de larvas de tricostrongílidos. Para las pruebas ovicida y de motilidad larvaria se utilizaron cinco concentraciones de aceite esencial ( $2,5 \text{ mg.ml}^{-1}$ ,  $5,0 \text{ mg.ml}^{-1}$ ,  $12,5 \text{ mg.ml}^{-1}$ ,  $25,0 \text{ mg.ml}^{-1}$  y  $50,0 \text{ mg.ml}^{-1}$ ), diluidas seriadamente con Tween 80 al 1%. El control negativo, en ambas pruebas, fue Tween al 1% diluido en agua destilada y el control positivo fue 0,25 mg/ml de Albendazol en la prueba ovicida y 0,1 mg/ml de Ivermectina en la prueba de motilidad larvaria. El aceite esencial de *P. macedoi* mostró que las sustancias mayoritarias fueron los arilpropanoides apiol (28,26%) y dillapiol (26,93%). Al igual que el tratamiento de control positivo, el aceite en una dosis de  $25 \text{ mg.ml}^{-1}$  fue capaz de inhibir la eclosión de larvas de nematodos gastrointestinales en un 87,17% y tuvo la tasa de eclosión más baja (12,83). La concentración de  $12,5 \text{ mg.ml}^{-1}$  presentó mayor número de larvas muertas que las otras concentraciones, con una eficacia del 64,20%, siendo superior al control positivo (ivermectina) del 41,63%. La CL50 y CL90 del aceite esencial de *P. macedoi* se estimaron en 0,21 y  $1,52 \text{ mg.ml}^{-1}$  para la prueba de eclosión y 0,33 y  $1,49 \text{ mg.ml}^{-1}$  para la mortalidad larvaria. El aceite esencial de *Piper macedoi* mostró resultados prometedores en la inhibición de la eclosión de los huevos. Respecto a la eficacia antihelmíntica, los datos mostraron una efectividad moderada.

**Palavras clave:** nematodos; plantas medicinales; vermicídeo.

## INTRODUÇÃO

Na região Nordeste, a produção de pequenos ruminantes é particularmente notável, sendo explorada por diversos segmentos de unidades de produção. Ressalta-se que esses animais são explorados na maioria das vezes em regiões que ainda empregam métodos de manejo e tecnologias inapropriados, contribuindo para o crescimento de problemas de saúde, incluindo o parasitismo por nematoides gastrintestinais, que representam um dos maiores desafios para o sistema de produção. Isso gera impacto econômico devido aos custos com a prevenção e o tratamento dessas enfermidades, além da mortalidade que ocorre principalmente em animais jovens (MONTEIRO et al., 2021; BEZERRA & SILVA, 2018).

As infecções em ovinos mais comuns no Brasil são causadas por nematoides dos gêneros *Haemonchus* e *Trichostrongylus*, pertencente à família Trichostrongyloidae, que acometem ovinos de todas as faixas etárias (WILMSEN, 2014). Entre os nematoides gastrintestinais que prejudicam a sobrevivência e a produtividade dos ruminantes, o *Haemonchus contortus* se sobressai devido à sua maior patogenicidade, prevalência e severidade, além das resistências adquiridas devido à utilização indiscriminada de vários princípios ativos de diferentes desvermífugos. Assim, para tentar controlar e minimizar as perdas provocadas por infecções por helmintos, empregam-se anti-helmínticos sintéticos (BEZERRA & SILVA, 2018; BATISTA et al., 2017). No entanto, o crescimento acelerado de populações de nematoides resistentes, aliado ao elevado custo, perigo de resíduos nos alimentos e poluição ambiental, tornou imprescindível a procura por novos métodos de controle. Portanto, opções como o uso de produtos naturais pode ser uma opção para o controle de parasitas intestinais e a redução de alguns desses problemas, com o benefício de serem sustentáveis e aceitos ambientalmente (BATISTA et al., 2017; BORTOLUZZI, 2020).

Dentre os produtos naturais, estudos com plantas medicinais, especialmente com óleos essenciais se destacam (CASTRO et al., 2020; PINTO et al., 2009). Os óleos essenciais, ou voláteis, são misturas complexas de substâncias lipofílicas e aromáticas, pertencentes principalmente aos grupos dos monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides, derivadas do metabolismo especial de vegetais (SIMÕES et al., 2017; WOLFFENBÜTTEL, 2016).

A alternativa da utilização de óleos essenciais, mesmo quando já se observa resistências aos diferentes anti-helmínticos, pode ser uma ferramenta útil desde que também esteja associada a outros métodos para controlar nematoides gastrintestinais de ruminantes. Seu uso possui eficácia inferior a 95% em situações em que anti-helmínticos sintéticos não são recomendados ou quando o custo não é compensatório (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2008). É importante considerar plantas com atividade anti-helmíntica moderada, pois elas podem possibilitar uma estratégia integrada, especificamente projetada para conseguir um controle sustentável de parasitas em sistemas de produção de ruminantes (GITHIORI et al., 2006).

Alguns óleos essenciais de espécies do gênero *Piper* (família Piperaceae) têm apresentado interessantes atividades biológicas, como potencial anti-helmíntico, antimicrobiano, larvicida e leishmanicida (LARA JUNIOR et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2014; SALEHI et al., 2019; SANTOS et al., 2021). Trata-se de um gênero de distribuição pantropical, com muitas espécies com importância alimentares e medicinais, apresentando um aspecto químico diverso com potencial bioativo que vem sendo mais profundamente estudado desde a década de 1960, entretanto, somente 10% das espécies de *Piper* são conhecidas quimicamente (DYER; PALMER, 2012; SALEHI et al., 2019). No território brasileiro é possível encontrar cerca de 290 espécies de *Piper*, das quais estima-se que 185 espécies estejam abrigadas na região amazônica (GUIMARÃES et al., 2020). A *Piper macedoi* ainda que não tenha sido muito explorada apresentam alguns estudos sobre o potencial fitoquímico dessa espécie. Alguns desses estudos envolvem o óleo essencial extraído de suas folhas frescas, que possui atividade larvicida contra larvas de acaro da espécie *Rhipicephalus sanguineus* (BEZERRA et al., 2022), e o outro estudo relata sua atividade leishmanicida (DOS SANTOS et al., 2021). Assim, a espécie apresenta pouquíssimos estudos, sendo considerada, também, uma espécie “inédita” do ponto de vista de estudos químicos. Dado isso, novos estudos para a espécie são justificados. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do óleo essencial de *Piper macedoi* Yunck sobre a eclosão e desenvolvimento de larvas de tricostrongilídeos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção e análise química do óleo essencial de *Piper macedoi*

Amostras de *Piper macedoi* Yunck foram coletadas em um fragmento de Mata Atlântica, situado na Fazenda Palmeira (17°25'29.4"S 39°41'11.6"W), em Teixeira de Freitas, BA. A espécie foi identificada pela Dra. Elsie F. Guimarães e as exsicatas foram depositadas no Herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro sob voucher RB 732731. A autorização de coleta foi concedida pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO (número 31544), e o acesso cadastrado no Sisgen (A5A9FAC).

O óleo essencial foi extraído de folhas frescas, coletadas em outubro de 2020 no período da manhã, utilizando hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger por 2 horas. Foi armazenado em frasco de vidro âmbar de 5 mL e acondicionados em freezer (-20 °C) até o seu uso.

A análise química dos óleos essenciais foi realizada utilizando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) no Centro Analítico de Instrumentação da Universidade de São Paulo. As condições de análise por CG-EM foram: Equipamento Shimadzu Modelo QP2020, utilizando-se uma coluna DB-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), programação de temperatura de 50 °C a 280 °C, com incremento de 3 °C.min<sup>-1</sup>, com temperatura final em 280 °C, sendo a temperatura do injetor e da linha de transferência em 280 °C, usando hélio como gás de arraste, com fluxo de 1,2 ml.min<sup>-1</sup> e split 1:5.

As substâncias presentes no óleo volátil foram identificadas por comparação de seus espectros de massas com registro de banco de dados da biblioteca do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (NIST14) e da literatura, utilizando-se Adams (2017).

### **Coleta e processamento das amostras fecais**

Os ovos foram obtidos das fezes de dois ovinos mestiços da raça Santa Inês naturalmente infectados por nematoídes gastrintestinais (infecção mista), provenientes da Fazenda Natividade localizada em Alcobaça, Bahia, a 17° 54' 4.92" S, e 39° 72' 4.01" O. O clima da região é caracterizado como tropical úmido, sem estação seca, com precipitação pluviométrica média anual de 1200 mm, temperatura média anual de 24,5 °C e predominância de solo classificado como latossolo (SEI, 2011).

As fezes foram coletadas diretamente da ampola retal dos animais, com a utilização de luvas, em quantidade de aproximadamente 100 gramas. As amostras de fezes foram imediatamente submetidas ao teste da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) com a utilização da técnica de Gordon & Whitlock (1939) - modificado. Os procedimentos dessa técnica consistem em pesar duas gramas de fezes de ovinos em um copo descartável, triturá-las com uma espátula e, posteriormente, homogeneizar, de acordo com metodologia adaptada de Bizimenyera et al. (2006), em solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) e peneirar, a fim de retirar o excesso de impureza.

Depois de trituradas e homogeneizadas, as fezes foram peneiradas sob homogeneização em um agitador magnético com aquecimento, onde foi retirada uma pequena quantidade da amostra com auxílio de uma pipeta Pasteur, preenchendo os dois espaços da câmara de McMaster. Para leitura da câmara, foi utilizado microscópio eletrônico com lente objetiva de 10 x. A contagem de ovos foi realizada em ambos os lados da câmara de McMaster, onde o resultado foi multiplicado por 100 para ovinos.

Para a obtenção de larvas L3 foram realizadas coproculturas das fezes dos ovinos pelo método de Roberts & O`Sullivan (1950). Este procedimento é complementar à técnica de contagem de OPG, pois permite diagnosticar quais gêneros da família Trichostrongylidae estão acometendo o rebanho.

Cada coprocultura foi realizada com 20 g de fezes, utilizando a proporção de 1/3 de fezes para 2/3 de serragem levemente irrigados com água destilada, e colocadas em recipiente de vidro coberto com filme de PVC, sendo efetuados orifícios pequenos no filme para aeração dos cultivos. As coproculturas foram mantidas em uma estufa B.O.D à 27 °C durante 7 dias, sendo irrigadas a cada 48 horas, afim de manter a cultura umedecida. Após 7 dias, foi realizada a técnica de Baermann (OPAS, 2020) modificada que se baseia na sedimentação das larvas

infectantes por termotropismo, hidrotropismo e geotropismo das larvas (PINTO et al., 2009). As larvas L3 sedimentadas foram recuperadas e utilizadas para realização do teste larvicida e para identificação dos nematoides.

A identificação das L3 foi feita segundo Ueno & Gonçalves (1998) e Keith (1952). Foram consideradas viáveis as larvas que estavam vivas e apresentaram características morfológicas de L3. Para melhor visualização, as larvas foram coradas com uma gota de lugol e observadas nas lentes objetivas de 4 x, 10 x, 40 x e 100 x. Para a identificação, foram analisadas as características da cauda (porção posterior), presença ou não de bainha, formato da região anterior e tamanho do esôfago filarioide.

### Teste de eclodibilidade

Após obtenção dos ovos, o material foi lavado com água destilada e centrifugado em tubos Falcon a 2000 rpm por 6 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi removido e adicionou-se mais água destilada. Essa solução foi novamente centrifugada nas mesmas condições. O teste foi realizado em quadriplicata com aplicação de sete tratamentos, sendo cinco diferentes concentrações de óleo essencial de *P. macedoi* ( $2.5 \text{ mg.ml}^{-1}$ ,  $5.0 \text{ mg.ml}^{-1}$ ,  $12.5 \text{ mg.ml}^{-1}$ ,  $25.0 \text{ mg.ml}^{-1}$ ,  $50.0 \text{ mg.ml}^{-1}$ ), um controle negativo e um controle positivo composto por Albendazol. As diluições do óleo essencial foram feitas de modo seriado utilizando como emulsificador Tween 80 a 1%. O controle negativo e positivo utilizados foram, respectivamente, água destilada com Tween a 1 % e 0,25 mg/ml de Albendazol. Foi adicionado, em cada frasco, uma alíquota de 150  $\mu\text{L}$  contendo aproximadamente 150 ovos de estrongilóides e uma alíquota de 150  $\mu\text{L}$  com solução de óleo essencial em suas respectivas concentrações, totalizando 300  $\mu\text{L}$  em cada frasco. Após 48 horas, foi adicionado formol às amostras e a leitura foi realizada utilizando lugol para melhor visualização.

### Teste de motilidade larval

O teste foi realizado em triplicata com aplicação de 7 tratamentos, sendo 5 concentrações de óleo essencial ( $2.5 \text{ mg.ml}^{-1}$ ,  $5.0 \text{ mg.ml}^{-1}$ ,  $12.5 \text{ mg.ml}^{-1}$ ,  $25.0 \text{ mg.ml}^{-1}$ ,  $50.0 \text{ mg.ml}^{-1}$ ), um controle negativo e um controle positivo. As diluições do óleo essencial foram feitas de modo seriado utilizando como emulsificador Tween 80 a 1%. O controle negativo e positivo utilizados foram, respectivamente, água destilada com Tween a 1 % e 0,1 mg/ml de Ivermectina. Foi adicionado, em cada frasco, uma alíquota contendo aproximadamente 100 larvas L3 e uma alíquota de 100  $\mu\text{L}$  com solução de óleo essencial em suas respectivas concentrações. Os resultados foram contabilizados após 48 horas.

### Análise estatística

A taxa de eclodibilidade no teste *in vitro* foi expressa em percentual pela seguinte fórmula: taxa de eclodibilidade (%) = [número de larvas / (número de ovos + larvas) x 100].

A eficácia de cada tratamento no teste de eclosão de ovos (%E) e do desenvolvimento larvar (%L) foi determinada segundo Camurça-Vasconcelos et al. (2007) de acordo com as Equações 1 e 2.

$$\%E = (\text{número de larvas eclodidas} / (\text{número de larvas eclodidas} + \text{número de ovos}) * 100$$

$$\%L = ((L_3 \text{ grupo controle negativo} - L_3 \text{ grupo tratado}) / L_3 \text{ grupo controle negativo}) * 100$$

Após compilação dos dados em planilhas eletrônicas e eliminação de *outliers* procedeu-se a análise dos dados por meio dos testes para verificação da normalidade e homoscedasticidade das variâncias (Shapiro-Wilks, Bartlett e teste *t* de *Student*) ao nível de 5% de probabilidade ( $P<0,05$ ). Posteriormente, os dados dos testes de eclosão de ovos e de desenvolvimento larval foram summarizados e avaliados por meio da análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de comparações múltiplas de Tukey ( $P<0,05$ ).

A regressão Probit foi empregada para analisar os dados e determinar as concentrações suficientes para inibir 50% (CL50) e 90% (CL90) da eclosão dos ovos e desenvolvimento larval. Todas análises estatísticas foram realizadas por meio do software livre R por meio da plataforma R-Studio.

### **Comitê de ética e biossegurança**

Os procedimentos adotados neste experimento estão em conformidade com os princípios éticos da experimentação animal, aprovado no protocolo de nº 5108160421 pela Comissão de Ética em Uso Animal (CEUA) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano – IF Baiano, *campus* Teixeira de Freitas.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Composição química de *Piper macedoi***

A análise cromatográfica do óleo essencial de *P. macedoi* mostrou que as substâncias majoritárias foram os arilpropanoides apiol (28,26%) e dilapiol (26,93%), seguidas pelo sesquiterpeno espatulenol, com 7,94%, e o monoterpeno limoneno, com 6,25% (Tabela 1). Estudos anteriores também com *P. macedoi* identificou que os principais grupos moleculares que constituem os óleos foram monoterpenos (> 45%), sesquiterpenos (> 20%) e arilpropanoides (> 23%), onde a principal molécula encontrada no óleo foi a trans-βocimene, com mais de 24% (OLIVEIRA et al., 2016). Já Bezerra et al. (2022) identificou 44 compostos na análise química do óleo essencial das folhas de *Piper macedoi* distribuídos principalmente entre monoterpenos (12,78%), sesquiterpenos (17,20%) e arilpropanoides (68,43%). As principais substâncias encontradas foram os arilpropanoides apiol (39,81%) e dilapiol (26,47%), seguidos do sesquiterpeno biciclogermacreno (4,88%) e dos monoterpenos (E)-β-ocimeno (4,55%) e β-pineno (3,21%).

**Tabela 1-** Substâncias identificadas no óleo essencial de folhas de *Piper macedoi*.

Substâncias	IR	IR lit	% Relativa
β-Pineno	991	990	0,64

Limoneno	1029	1023	<b>6,25</b>
1,8-Cineol	1026	1031	0,87
Linalol	1071	1096	2,47
Canfeno	1100	1113	2,94
$\alpha$ -Terpineol	1186	1188	0,65
Piperitona	1249	1252	0,86
$\beta$ -Elemeno	1389	1390	1,46
$\beta$ -Cariofileno	1416	1419	1,64
$\alpha$ -Humuleno	1449	1454	0,40
Miristicina	1515	1518	1,01
$\delta$ -Cadineno	1521	1523	3,05
Isoledeno	1374	1376	0,41
Elemonicina	1552	1557	0,61
(E)-Nerolidol	1560	1563	2,47
Espatulenol	1571	1578	<b>7,94</b>
Óxido de Cariofileno	1580	1583	1,97
Viridiflorol	1590	1592	0,35
Dilapiol	1617	1620	<b>26,93</b>
Cubenol <1-epi->	1625	1628	1,23
$\alpha$ -Acorenol	1630	1633	0,93
Muurolol <epi- $\alpha$ ->	1639	1642	2,15
$\alpha$ -Muurolol	1644	1646	0,54
$\alpha$ -Cadinol	1652	1654	1,82
Apiol	1674	1678	<b>28,26</b>
Acetato de Elemol	1680	1680	0,35
<b>Total</b>			<b>91,95</b>

Fonte: Adams (2017). IR = Índice de Retenção; IRLit = Índice de Retenção da Literatura.

### Atividade anti-helmíntica

A análise da quantidade de ovos de helmintos por gramas de fezes evidenciou que a OPG dos ovinos utilizados foi de 5000 ovos/g e 19.500 ovos/g de fezes. De acordo com Ueno & Gonçalves (1998), as infecções por nematódeos gastrintestinais são classificadas como grau leve (faixa de 500 a 800 ovos/g de fezes), moderado (de 800 a 1.500 ovos/g de fezes) e elevado (acima de 1.500 ovos/g de fezes), sendo neste último indicada a intervenção com o uso de anti-helmíntico. As contagens de OPG têm sido a principal variável utilizada nos programas de seleção para resistência a verminose, pois, sabe-se que os animais com maior contagem de OPG têm maior quantidade de parasitas adultos fixados na mucosa abomasal, e que estes exercem hematofagia (AMARANTE, 2014). A diversidade de espécies de nematódeos é maior quando os ovinos compartilham pastagens com bovinos (GIUDICI et al., 1999), o que corrobora com a realidade encontrada a campo no Extremo Sul da Bahia.

Foi possível identificar que a maioria das larvas analisadas pertenciam aos gêneros *Haemonchus* e *Trichostrongylus*. Nematoides do gênero *Haemonchus* possuem lábios rudimentares, a cavidade bucal guarnevida de lanceta, a dilatação cuticular cefálica é ausente e as papilas cervicais proeminentes. Já o gênero *Trichostrongylus* tem como característica a extremidade anterior com afilamento progressivo, dilatação cuticular, papilas cervicais ausentes e esôfago longo (UFRRJ, 2016).

A ação anti-helmíntica do óleo essencial de *P. macedoi* demonstrou uma inibição da ecloabilidade de ovos de nematódeos gastrintestinais de ovinos, da superfamília Trichostrongylidae (Tabela 2). As concentrações de 50 e 25 mg.ml<sup>-1</sup> não apresentaram diferenças significativas em relação ao controle positivo contendo o anti-helmíntico Albendazol ( $p<0,05$ ), com eficácia de inibição da ecloabilidade igual ou superior a 69,67%. As concentrações de 2.50; 5.00 e 12.5 mg.ml<sup>-1</sup> foram semelhantes entre si e apresentaram diferenças significativas em relação ao controle e demais concentrações (Tabela 2). Entretanto, as concentrações não diferiram significativamente do controle negativo, podendo apresentar uma taxa de inibição de eclosão de ovos natural ou ter sofrido interferência do Tween utilizado para a solubilizar o óleo essencial.

Foi observado ainda uma redução larval maior na concentração de 25 mg.ml<sup>-1</sup> em relação a 50 mg.ml<sup>-1</sup>. Provavelmente esse fato ocorreu devido a diversidade de helmintos encontrados nas fezes dos ovinos, distribuídos aleatoriamente entre os tratamentos e a provável existência de espécies resistentes (Tabela 2).

**Tabela 2** - Eficácia do óleo essencial de *Piper macedoi* sobre a ecloabilidade de ovos e motilidade larval de nematódeos gastrintestinais de ovinos, família Trichostrongylidae.

Tratamento (mg.ml <sup>-1</sup> )	Ovos ecloididos*	Larvas mortas <sup>ns</sup>	%E	%L
2,5	68,50 <sup>ab</sup>	49,00 <sup>a</sup>	31,50 <sup>bc</sup>	20,62
5,0	71,83 <sup>a</sup>	37,75 <sup>a</sup>	28,17 <sup>c</sup>	3,11
12,5	76,67 <sup>a</sup>	77,00 <sup>a</sup>	23,33 <sup>c</sup>	64,20
25,0	12,83 <sup>ca</sup>	65,25 <sup>a</sup>	87,17 <sup>a</sup>	45,91
50,0	30,33 <sup>c</sup>	68,50 <sup>a</sup>	69,67 <sup>a</sup>	50,97
Controle positivo	41,75 <sup>bc</sup>	62,50 <sup>a</sup>	79,83 <sup>a</sup>	41,63
Controle negativo	20,17 <sup>c</sup>	35,75 <sup>a</sup>	58,17 <sup>ab</sup>	-
Cve	29,33%	36,99%		

Elaboração: pelos autores. \*Cve: coeficiente de variação experimental; \*P<0,05; ns: não significativo. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna são estatisticamente semelhantes ao Teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Vale ressaltar que assim como o tratamento controle positivo, o óleo na dosagem de 25 mg.ml<sup>-1</sup> foi capaz de inibir a ecloibilidade das larvas de nematódeos gastrintestinais em 87,17% e teve a menor taxa de eclosão (12,83). Esse resultado, é capaz de demonstrar seu uso potencial como anti-helmíntico para o controle parasitário de ovinos. Frisa-se a importância se considerar a adicional vantagem do óleo de *P. macedoi* para o mercado consumidor, produtor e meio ambiente devido ao fato de tratar-se de um medicamento natural, ou seja, ausente de sustâncias sintéticas, sendo que o seu uso previne a presença desses contaminantes tanto dos alimentos oriundos da produção animal (carne, leite, etc.) como do meio ambiente.

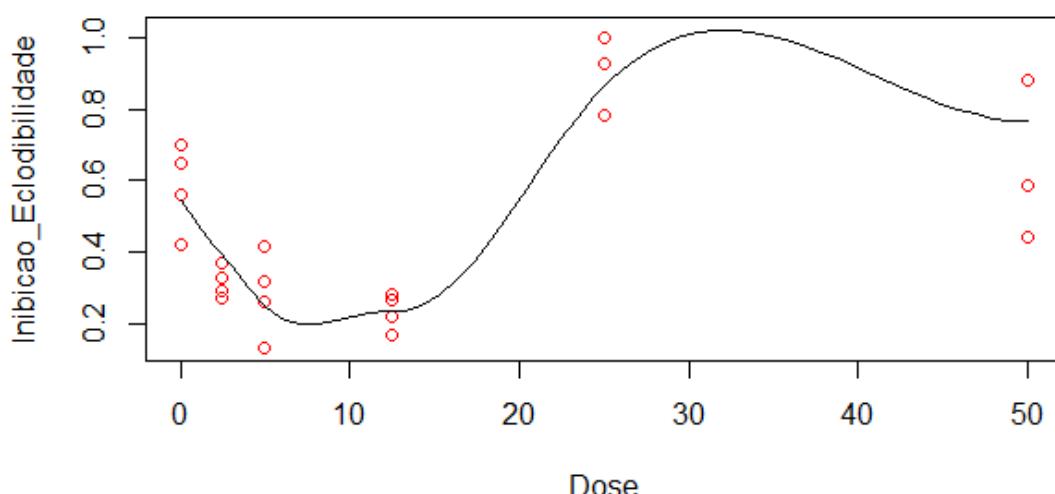
Em relação ao teste de motilidade larval, provavelmente, a diversidade de larvas também interferiu nesse resultado, pois, apesar dos tratamentos não diferirem significativamente entre si ( $P>0,05$ ), a concentração de 12.5mg.ml<sup>-1</sup> apresentou um número de larvas mortas superior às demais concentrações, com eficácia de 64,20%, sendo superior ao

controle positivo (ivermectina) de 41,63%. As concentrações de 25 e 50 mg.ml<sup>-1</sup> apresentaram uma eficácia de 45,91% e 50,97%, respectivamente, também superiores à ivermectina.

As CL50 e CL90 para o óleo essencial de *P. macedoi* foram estimadas em 0.21 e 1.52 mg.ml<sup>-1</sup> para o teste de eclodibilidade (Figura 1) e de 0.33 e 1.49 mg.ml<sup>-1</sup> para a mortalidade larval (Figura 2). O óleo essencial apresentou efeito inibitório de dose-dependente sobre a eclosão e desenvolvimento larval da carga parasitária total de ovinos infectados naturalmente. Os valores de CL50 e CL90 para o teste de eclodibilidade se demonstram promissores, visto que são valores mais baixos quando comparados a outros trabalhos que utilizaram óleos essenciais e evidenciaram inibição da eclodibilidade de ovos de nematoides pertencentes à família Trichostrongyloidea (HELAL et al., 2020; ABIDI et al., 2018; ZHU et al., 2013).

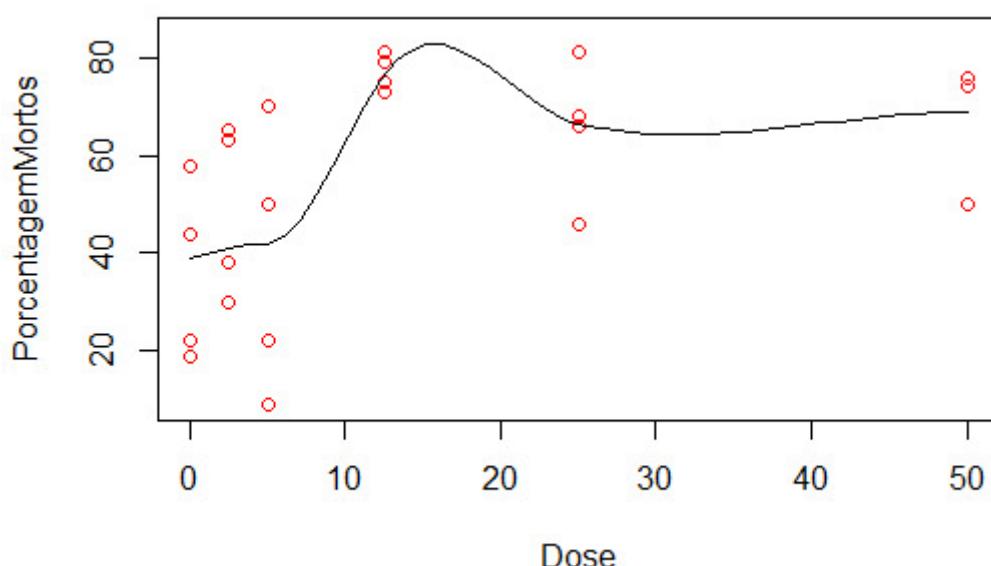
Apesar do óleo essencial de *P. macedoi* nas concentrações utilizadas terem apresentado diferença significativa no que se refere à concentração letal (CL), observou-se subestimativa das CL50 e CL90 do óleo que corresponderam à 0.2207 e - 1.15 mg.ml<sup>-1</sup>, respectivamente. Porém, mesmo com a diversidade da carga parasitária, foi possível observar a tendência de comportamento dose dependente, ou seja, à medida que se aumenta a dose do produto avaliado, verifica-se maior efetividade de ação do mesmo; conforme ilustrado nas Figuras 1 e 2.

**Figura 1** - Inibição da eclodibilidade de ovos de tricostrongilídeos em diferentes concentrações do óleo essencial de *Piper macedoi*.



**Fonte:** Próprios autores (2025).

**Figura 2** - Mortalidade de larvas L3 de tricostrostrongilídeos em diferentes concentrações do óleo essencial de *Piper macedoi*.



Fonte: Próprios autores (2025).

É interessante ressaltar que no presente estudo foi utilizado Tween 80 a 1%, e, segundo a literatura, o Tween 80 até 3% é utilizado para solubilizar o óleo essencial em meio aquoso e não apresenta atividade ovicida nem larvicida em testes para avaliação de substâncias com potencial anti-helmíntico (ARAÚJO-FILHO et al., 2019; MACEDO et al, 2009; OLIVEIRA et al., 2014).

Em relação a eficácia anti-helmíntica de *P. macedoi* no presente estudo, os dados apresentaram-se moderadamente eficazes, e para melhor compreensão da ação do óleo seria interessante repetir o experimento utilizando espécies isoladas, como *Haemonchus contortus*, para evitar a diversidade de espécies na amostra mal distribuídas entre os tratamentos, visto que algumas podem apresentar resistência e tornar os resultados inconsistentes. Segundo a classificação do índice de eficácia anti-helmíntica proposta pela *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology*, o produto é altamente efetivo se apresenta mais de 90% de eficácia antiparasitária, moderadamente eficaz quando atua entre 80 a 90%, pouco eficiente entre 60 e 80% e ineficaz em níveis abaixo de 60% (POWERS et al., 1982).

Estudo realizado com o nematoide *Haemonchus contortus* isolado demonstrou uma boa eficácia do óleo essencial de *Piper aduncum* no teste de eclodibilidade e desenvolvimento larval, sendo CL50 de 5.72 mg/mL e 0.10 mg/mL. O estudo evidenciou que o óleo essencial tem como componente majoritário o dilapiol, sugerindo que o mesmo seja responsável pelo potencial anti-helmíntico contra esta espécie (GAÍNZA et al., 2016). É comum a atividade biológica de um óleo essencial ser aferida à presença de uma substância majoritária, todavia, fenômeno sinérgico entre metabólitos pode resultar em uma maior ou menor bioatividade em comparação com os componentes isolados (HUMMELBRUNNER; ISMAN, 2001; LIMA et al, 2019). O óleo essencial de *P. macedoi* apresentou o dilapiol como segundo composto

majoritário, assim, testes isolados com *Haemonchus* seria ideal para avaliar a eficácia desse óleo essencial contra o gênero em questão.

Existe uma variedade de estudos na literatura científica que comprovam a eficácia de óleos essenciais e extratos de diferentes espécies vegetais contra *Haemonchus contortus*, o qual, embora seja considerado um nematoide resistente a anti-helmínticos, se mostra sensível a alguns metabólitos secundários encontrados nos produtos vegetais (FERREIRA et al., 2018; QI et al., 2015). Em contrapartida, não existem tantos estudos que demonstrem os efeitos de óleos essenciais ou extratos vegetais contra o gênero *Trichostrongylus*, evidenciando também a necessidade de testes isolados.

Em um estudo para avaliar a resistência de nematoides gastrintestinais de ovinos após aplicação de anti-helmínticos sintéticos, verificou-se que entre os nematoides *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Cooperia curticei*, *C. punctata*, *C. pectinata* e *Oesophagostomum columbianum*, os gêneros mais resistentes foram *Haemonchus* sp. e *Trichostrongylus* sp, com porcentagem de resistência de 86,9% e 47,5%, respectivamente (SCZESNY-MORAES et al., 2010). Assim, pode-se inferir que os gêneros trabalhados no presente estudo são considerados resistentes, ratificando a necessidade de testes isolados para averiguar em qual gênero o óleo essencial de *Piper macedoi* tem maior eficácia.

## CONCLUSÕES

A crescente resistência dos nematoides gastrintestinais de ovinos a anti-helmínticos sintéticos tem fomentado a busca por alternativas de controle mais eficazes e sustentáveis. O óleo essencial de *Piper macedoi* apresentou resultados promissores na inibição da eclosibilidade dos ovos, devido à baixa quantidade de óleo necessária para inibir a eclosão de 50% e 90% dos ovos. São necessários mais estudos com nematoides isolados para avaliar o potencial de *P. macedoi* nas respectivas espécies.

## REFERÊNCIAS

- ABIDI, A., SEBAI, E., DHIBI, M., ALIMI, D., et al. Chemical analyses and anthelmintic effects of *Artemisia campestris* essential oil. **Vet. Parasitol.** 15(263):59-65, 2018. doi: 10.1016/j.vetpar.2018.10.003.
- ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectrometry. 4 ed. Allured Publ., Carol Stream, IL, 2007.
- AMARANTE, A. F. T. Os parasitas de ovinos. Editora: UNESP; 2014, doi: <https://doi.org/10.7476/9788568334423>
- ARAÚJO-FILHO, J. V. D., RIBEIRO, W. L. C., ANDRÉ, W. P. P., CAVALCANTE, G. S., RIOS, T. T., SCHWINDEN, G. M., ... OLIVEIRA, L. M. B. D. Anthelmintic activity of *Eucalyptus citriodora* essential oil and its major component, citronellal, on sheep gastrointestinal nematodes. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** 28(4):644-651, 2019. doi: 10.1590/S1984-29612019090.

BATISTA, L. F., RAMOS, L. F., BRITO, S. N. S., DE OLIVEIRA CASTRO, A. L., ANTUNES, C. R., DOS SANTOS OLIVEIRA, L. L. Resistência anti-helmíntica em nematoides gastrintestinais de ovinos. **Pubvet.** 11(12):1188-1297, 2017. <https://doi.org/10.22256/PUBVET.V11N12.1245-1249>

BEZERRA, V. M., FERREIRA, E. G. S., SANTOS, G. W. DOS, OLIVEIRA, G. L. DE, MOREIRA, D. DE L., VIEIRA, T. M., DUARTE, E. R., DEUS, R. G. DE, LIMA, M. R. DE, RONER, M. N. B. Acaricide activity of *Piper macedoi* Yunck essential oil against *Rhipicephalus sanguineus*. **Res. Soc. Develop.** 11(1):e18911124610, 2022. doi: 10.33448/rsd-v11i1.24610.

BEZERRA, A. C. D. S., SILVA, M. D. C., eds. Fitoterapia e a Ovinocaprinocultura: uma associação promissora [online]. Mossoró: EdUFERSA, pp. 1-10, 2018. <https://doi.org/10.7476/9786587108643>.

BIZIMENYERA, E. S., GITHIORI, J. B., ELLOF, J. N., SWAN, G. E. In vitro activity of *Peltophorum africanum* Sond. (Fabaceae) extracts on the egg hatching and larval development of the parasitic nematode *Trichostrongylus colubriformis*. **Vet. Parasitol.** 142(3):336-343, 2006. doi: 10.1016/j.vetpar.2006.06.013

BORTOLUZZI, B. B., BUZATTI, A., DESCHAMPS, C., BERTOLDI, F., CHAABAN, A., PERRUCCI, S., MOLENTO, M. B. Fitoterapia no controle de parasitos gastrintestinais de ruminantes: ênfase no gênero *Mentha* e seus componentes bioativos. **Ars Vet.** 36(4):253-270, 2020. <http://dx.doi.org/10.15361/2175-0106.2020v36n4p253-270>

CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F., BEVILAQUA, C. M. L., MORAIS, S. M., MACIEL, M. V., COSTA, C. T. C., MACEDO, I. T. F., OLIVEIRA, L. M. B., BRAGA, R. R., SILVA, R. A., VIEIRA, L. S., NAVARRO, A. M. C. Anthelmintic activity of *Lippia sidoides* essential oil on sheep gastrointestinal nematodes. **Vet. Parasitol.** 154(1-2):167-170, 2008.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F., BEVILAQUA, C. M. L., MORAIS, S. M., MACIEL, M. V., COSTA, C. T. C., MACEDO, I. T. F., OLIVEIRA, L. M. B., BRAGA, R. R., SILVA, R. A., VIEIRA, L. S. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. **Vet. Parasitol.** 30;148(3-4):288-94, 2007. doi: 10.1016/j.vetpar.2007.06.012.

CASTRO, L. M., PINTO, N. B., MOURA, M. Q., VILLELA, M. M., et al. Antihelminthic action of the *Anethum graveolens* essential oil on *Haemonchus contortus* eggs and larvae. **Braz. J. Biol.** 81(1):183-188, 2021. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.225856>

DYER, L. A., PALMER, A. *Piper A Model Genus for Studies of Phytochemistry, Ecology, and Evolution*. Germany: Springer Heidelberg, 2012.

FERREIRA, L. E., BENINCASA, B. I., FACHIN, A. L., CONTINI, S. H. T., et al. Essential oils of *Citrus aurantifolia*, *Anthemis nobile* and *Lavandula officinalis*: in vitro anthelmintic activities against *Haemonchus contortus*. **Paras. Vec.** 11:269, 2018. doi: <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2849-x>

GAÍNZA, Y. A., FANTATTO, R. R., CHAVES, F. C. M., BIZZO, H. R., ESTEVES, S. N., CHAGAS, A. C. de S. *Piper aduncum* contra isolados de *Haemonchus contortus*: Resistência cruzada e a pesquisa de bioativos naturais. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** 25(4):383–393, 2016. doi: 10.1590/S1984-29612016073.

GITHIORI, J. B., ATHANASIADOU, S., THAMSBORG, S. M. Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminths in livestock with emphasis on small ruminants. **Vet. Parasitol.** 139:308-320, 2006. doi: 10.1016/j.vetpar.2006.04.021

GIUDICI, C., AUMONT, G., MAHIEU, M., SAULAI, M., CABARET, J. Changes in gastrointestinal helminth species diversity in lambs under mixed grazing on irrigated pastures in the tropics (French West Indies). **Vet. Res.** 30(6):573-581, 1999.

GORDON, H. M., WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **J. Counc. for Scien. and Ind. Res.** 12:50-52, 1939.

GUIMARÃES, E. F., MEDEIROS, E. V. S. S., QUEIROZ, G. A. Piper in Flora e Funga do Brasil. [Internet]. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. [Citado em 20 nov 2024]. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB12735>.

HELAL, M. A., ABDEL-GAWAD, A. M., KANDIL, O. M., KHALIFA, M. M., et. al. Nematocidal effects of a coriander essential oil and five pure principles on the infective larvae of major ovine gastrointestinal nematodes in vitro. **Pathogens**, 9;9(9):740, 2020. doi: 10.3390/pathogens9090740.

HUMMELBRUNNER, L. A., ISMAN, M. B. Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). **J. Agric. Food Chem.** 49(2):715720, 2001. doi: <https://doi.org/10.1021/jf000749t>.

KEITH, R. K. The differentiation of the infective larvae of some common nematode parasites of cattle. **Austral. J. of Zool.** 1(2):223-237, 1952. doi:10.1071/ZO9530223

LARA JÚNIOR, C. R., OLIVEIRA, G. L., MOTA, B. C. F., FERNANDES, M. F. G., FIGUEIREDO, L. S., MARTINS, E. R., MOREIRA, D. L. M., KAPLAN, M. A. C. Antimicrobial activity of essential oil of *Piper aduncum* L. (Piperaceae). **J. Med. Plants Res.** 6:3800-3805, 2012. doi:10.5897/JMPR12.738

LIMA, R. N., RIBEIRO, A. S., SANTIAGO, G. M. P., CINARA, C. O., SOARES, M. B., BEZERRA, D. P., SHANMUGAM, S., FREITAS, L. DOS S., ALVES, P. B. Antitumor and *Aedes aegypti* Larvicidal Activities of Essential Oils from *Piper klotzschianum*, *P. hispidum*, and *P. arboreum*. **Nat. Prod. Com.** 14(7):1934578X1986393, 2019. doi: 10.1177/1934578X19863932.

MACEDO, I. T., BEVILAQUA, C. M., OLIVEIRA, L., CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L., et al. Atividade ovicida e larvicida in vitro do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Haemonchus contortus*. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** 18(3), 2009. doi: <https://doi.org/10.4322/rbpv.01803011>

MONTEIRO, M. G., BRISOLA, M. V., VIEIRA FILHO, J. E. R. Diagnóstico da cadeia produtiva de caprinos e ovinos no Brasil. **Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada – IPEA**. Brasília; 2021.

OLIVEIRA, G. L., CARDOSO, S. K., LARA JUNIOR, C. R., VIEIRA, T. M., GUIMARÃES, E. F., FIGUEIREDO, L. S., MARTINS, E. R., MOREIRA, D. L., KAPLAN, M. A. C. Chemical study and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oil of *Piper aduncum* L. (Piperaceae). **An. Acad. Bras. Ciênc.** 85(4):1227-1234, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201391011>

OLIVEIRA, G. L., MATOS, C. C., SANTOS, R. R., MAIA, J. T. S., MARTINS, E. R., FIGUEIREDO, L. S., MOREIRA, D. L., KAPLAN, M. A. C. Rooting of cuttings and analysis of essential oils from wild and cultivated *Piper macedoi* Yunck. **Rev. Bras. Pl. Med.** 18(4):782-790, 2016. doi: 10.1590/1983-084X/0033

OLIVEIRA, G. L., VIEIRA, T. M., NUNES, V. F., RUAS, M. O., DUARTE, E. R., MOREIRA, D. L., KAPLAN, M. A. C., MARTINS, E. R. Chemical composition and efficacy in the egg-hatching inhibition of essential oil of *Piper aduncum* against *Haemonchus contortus* from sheep. **Rev. Bras. Farmacogn.** 24(3):288-292, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2014.07.004>

OPAS: Organização Pan-Americana de Saúde. Pranchas para o Diagnóstico de Parasitas Intestinais. Organização Mundial da Saúde. 2 ed, 2020 [citado em 14 de dez. 2024]. Disponível em: [https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/52299/9789275722060\\_por.pdf](https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/52299/9789275722060_por.pdf)

PINTO, S., BARROS, C. S., SCOLARI, A. P. R., SEBBEN, J. E. Larvas de Tricostrongilídeos em fezes de ovinos. **Ciênc. Ani. Bras.** 1:701-706, 2009. <https://doi.org/10.5216/cab.v1i0.7887>

POWERS, K. G., WOOD, I. B., ECKERT, J., GIBSON, T., SMITH, H. J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine and ovine). **Vet. Parasitol.** 10(4):265-284, 1982.

QI, H., WANG, W. X., DAI, J. L., ZHU, L. In vitro anthelmintic activity of *Zanthoxylum simulans* essential oil against *Haemonchus contortus*. **Vet Parasitol.** 30:211(3-4):223-7, 2015. doi: 10.1016/j.vetpar.2015.05.029.

ROBERTS, F. H. S., O'SULLIVAN, P. J. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastro-intestinal tract of cattle. **Crop and Past. Sci.** 1(1):99-102, 1950. doi: <https://doi.org/10.1071/AR9500099>

SALEHI, B., ZAKARIA, Z. A., GYAWALI, R., IBRAHIM, S. A., RAJKOVIC, J., SHINWARI, Z. K., KHAN, T., SHARIFI-RAD, J., OZLEYEN, A., TURKDONMEZ, E., VALUSSI, M., TUMER, T. B., FIDALGO, L. M., MARTORELL, M., SETZER, W. N. Piper Species: A Comprehensive Review on Their Phytochemistry, Biological Activities and Applications. **Molecules.** 7:24(7):1364, 2019. doi: 10.3390/molecules24071364

SANTOS, V. N., OLIVEIRA, G. L., MOREIRA, D. L., DEUS, R. G., ALMEIDA, R. M., FUJIWARA, R. T., PIMENTA, L. P. S., FERREIRA, S. R. Leishmanicidal Activity of the Volatile Oil of *Piper macedoi*. **Rev. Bras. Farmacogn.** 31:342–346, 2021. <https://doi.org/10.1007/s43450-021-00155-4>

SCZESNY-MORAES, E. A., BIANCHIN, I., SILVA, K. F. D., CATTO, J. B., HONER, M. R., PAIVA, F. Resistência anti-helmíntica de nematóides gastrintestinais em ovinos, Mato Grosso do Sul. **Pesq. Vet. Bras.** 30(3), 2010. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2010000300007>

SEI: Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia. Estatística dos municípios Baianos. [Internet]; 2011 [Citado em 20 nov. 2024]. Disponível em: [http://www.sei.ba.gov.br/index.php?option=com\\_wrapper&view=wrapper&Itemid=266](http://www.sei.ba.gov.br/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=266)

SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P., MELLO, J. C. P., MENTZ, L. A., PETROVICK, P. R. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. Porto Alegre (RS): Artmed; 2017.

UENO, H., GONÇALVES, P. C. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes. 4 ed. Tokyo: Japan Internacional Cooperation Agency; 1998.

UFRRJ: Universidade Federal Rural Do Rio De Janeiro. Classificação e morfologia de nematoides em medicina veterinária. Departamento Parasitologia Animal, Instituto de veterinária, UFRRJ. Soropédica; 2016.

WILMSEN, M. O., SILVA, B. F., BASSETTO, C. C., AMARANTE, A. F. T. Gastrointestinal nematode infections in sheep raised in Botucatu, state of São Paulo, Brazil. **Braz. J. Vet. Parasitol.** 23(3):348-354, 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612014058>

WOLFFENBÜTTEL, A. N. Base da química dos óleos essenciais e aromaterapia: Abordagem técnica e científica. 2 ed. Editora Laszlo, 2017.

ZHU, L., DAI, J., YANG, L., QIU, J. Anthelmintic activity of *Arisaema franchetianum* and *Arisaema lobatum* essential oils against *Haemonchus contortus*. **J. Ethnopharmacol.** 21;148(1):311-6, 2013. doi: 10.1016/j.jep.2013.04.034.

## HISTÓRICO

**Submetido:** 28 de março de 2025.

**Aprovado:** 18 de abril de 2025.

**Publicado:** 23 de maio de 2025.

## COMO CITAR O ARTIGO - ABNT

SANTANA, Ana Luiza Coutinho Matos; OLIVEIRA, Gisele Lopes de; FERREIRA, Sebastião Rodrigo; OLIVEIRA, Bruna Rafaela Machado; ROCHA, Thiago Soares; PIRES, Luanna Chácara. Atividade ovicida e larvicida in vitro do óleo essencial de *Piper macedoi* Yunck sobre Tricostongilídeos. **FLOVET - Flora, Vegetação e Etnobotânica**, Cuiabá (MT), v. 3, n. 14, e2025011, 2025.