

Informe uma subárea do item 7 das Normas de resumo. Ex.: 1.08.01 - Oceanografia Biológica.

ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Nectandra grandiflora*: ESTUDO IN VITRO FRENTE A *Ichthyophthirius multifiliis*

Patrícia Rodrigues¹, Anelise L Murari²; Daniela T Silva³; Marcelle, M Peres¹, Bernardo Baldisserotto,^{2, 4}; Berta Maria Heinzmann^{1,2, 3, 5}

¹Estudante IC do curso de Farmácia, UFSM ²Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, UFSM, ³Doutora em Engenharia Florestal, UFSM ⁴Pesquisador do departamento de Fisiologia e , ⁵Farmacologia, ⁵Professora do curso de Farmácia, UFSM/ Orientadora

Resumo:

Ichthyophthirius multifiliis é um protozoário que parasita peixes de água doce e frequentemente induz a mortalidade dos animais, ocasionando perdas econômicas na piscicultura. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antiparasitária *in vitro* do óleo essencial (OE) de *Nectandra grandiflora* frente a *I. multifiliis*. O OE foi extraído de folhas frescas por hidrodestilação, foi diluído em em etanol (1:10) e posteriormente em água destilada (1:100), para obter as concentrações a serem testadas (em triplicata): 0, 10, 25, 50 e 100 mg.L⁻¹. Os ensaios foram realizados em placas de 24 poços e, após 26 h, foram computados os parasitos mortos, obtendo-se as concentrações efetivas 50 e 90% através da análise de probitos. O resultado para a CE₅₀ foi de 9,6 mg.L⁻¹ (7,7-11,2), enquanto que a CE₉₀ foi de 24,1 mg.L⁻¹ (20,6 – 30,0), indicando um potencial promissor do OE de *N. grandiflora* para o controle da ictioftiríase.

Autorização legal: Comissão de ética no uso de animais, UFSM. Processo: 074/2014.

Palavras-chave: Parasito; Ictioftiríase; óleo essencial

Apoio financeiro: PROBIC-FAPERGS, FINEP? Ministério da Pesca e CNPq

Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição: UFSM.

Introdução:

Nectandra grandiflora Nees, conhecida popularmente como canela-amarela (LORENZI, 1982; JURINITZ; JARENKOW, 2003), pertence à família Lauraceae e é uma espécie arbórea nativa endêmica no Brasil, com ocorrência nas regiões sul e sudeste. Preparações à base de suas folhas são utilizadas na medicina popular como antirreumáticas, diuréticas e digestivas (PIO-CORRÊA, 1984). Seu óleo essencial (OE) é constituído principalmente de sesquiterpenoides e apresentou atividade anestésica em juvenis de jundiás (*Rhamdia quelen*) (SILVA, 2013).

Ichthyophthirius multifiliis é um protozoário ciliado considerado o parasito mais comum em peixes de água doce. Este parasito apresenta distribuição mundial e frequentemente induz a mortalidade dos animais, ocasionando perdas econômicas na piscicultura (CASSIDY-HANLEY et al., 2011; COYNE et al., 2011; FORWOOD et al., 2015). Este parasito possui três estágios de desenvolvimento: a fase trofonte (infectante), na qual o parasito se localiza entre a derme e a epiderme na pele e brânquias do animal, provocando a ictioftiríase (popularmente conhecida como doença dos pontos brancos); a fase tomonte, na qual o parasito perfura a pele do peixe para atingir o meio externo, o que causa lesão no hospedeiro, tornando-o vulnerável a infecções secundárias; e a forma infecciosa, denominada teronte (MATTHEWS, 2005; SHINN et al., 2012).

Através da interrupção do ciclo de vida do parasito em qualquer uma das etapas de seu desenvolvimento, pode-se impedir a propagação da doença (ictioftiríase) (BUCHMANN et al., 2003; PICÓN-CAMACHO et al., 2012). Visando o desenvolvimento de uma alternativa para o controle da ictioftiríase, vários produtos naturais têm sido testados contra seu agente etiológico. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antiparasitária *in vitro* do OE de *N. grandiflora* frente a *I. multifiliis*.

Metodologia:

O OE foi extraído de folhas frescas por hidrodestilação durante 3 h em aparelho de Clevenger modificado (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Para o ensaio *in vitro* foram utilizadas placas de 24 poços de poliestireno, aos quais foram adicionados 1 mL de água, as concentrações do OE a serem testadas e 4-6 tomentos, obtidos com o auxílio de uma pipeta a partir da água de um aquário que continha peixes com alto grau de infestação. Inicialmente o OE foi diluído em etanol (1:10) e depois em água destilada (1:100). As concentrações testadas foram: 10, 25, 50 e 100 mg.L⁻¹, em triplicata. Os controles negativos foram água e a maior concentração de etanol utilizada nas diluições. Os parasitos foram considerados mortos quando não apresentavam motilidade ou nenhuma produção de terontes em 26 h. Após este período, os tomentos foram observados diariamente durante sete dias. Os resultados foram submetidos à análise de probitos para a obtenção das concentrações efetivas CE₅₀ e CE₉₀ após 26 h (MURARI, 2016).

Resultados e Discussão:

A concentração de 9,6 mg.L⁻¹ (7,7-11,2) induziu a morte de 50% dos parasitos no período de 26 h de observação. Já a concentração de 24,1 mg.L⁻¹ (20,6 – 30,0) proporcionou uma mortalidade de 90% dos parasitos. Extratos de *Carica papaya* nos testes *in vitro* frente a este parasito, ocasionaram 90% de mortalidade dos trofontes na concentração de 250 mg.L⁻¹, após 3 h de exposição, e 100% de mortalidade na concentração 200 mg.L⁻¹ após 6 h de exposição (EKANEM et al, 2004). Dados da literatura demonstram que substâncias antiparasitárias extraídas de plantas podem ser uma nova alternativa para tratar a ictioftiriose (YAO et al., 2010, ZHANG et al. 2013). Adicionalmente, plantas medicinais apresentam um grande potencial como alternativa para tratar infecções na aquicultura, pois tendem a ser biodegradáveis e diferentes preparações à base de extratos vegetais exibiram atividade antimicrobiana e antiparasitária (VALLADÃO, GALLANI & PILARSKI 2015).

Os resultados desse trabalho são relevantes, pois a adição do OE impediu a liberação de terontes (forma infectante) e promoveu a mortalidade dos tomentos, que apresentam maior resistência aos tratamentos farmacológicos disponíveis (BUCHMANN et al., 2003; ROWLAND et al., 2009; LING et al., 2012; Yi et al. 2012; ZHANG et al., 2013).

Conclusões:

O OE de *N. grandiflora* apresenta atividade antiparasitária promissora *in vitro*, podendo ser avaliado *in vivo* visando o desenvolvimento de um produto para o controle de *I. multifiliis*.

Referências bibliográficas

- CASSIDY-HANLEY, D. M. Transcriptional profiling of stage specific gene expression in the parasitic ciliate *Ichthyophthirius multifiliis*. **Molecular & Biochemical Parasitology**, v.178, p. 29-39, 2011.
- COYNE, R. S. Comparative genomics of the pathogenic ciliate *Ichthyophthirius multifiliis*, its free-living relatives and a host species provide insights into adoption of a parasitic lifestyle and prospects for disease control. **Genome Biology**, v.12, p. 1-26, 2011.
- EKANEM A.P., OBIKEZIE A., KLOAS W. & KNOPF K. Effects of crude extracts of *Mucuna pruriens* (Fabaceae) and *Carica papaya* (Caricaceae) against the protozoan fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis*. **Parasitology Research** 92, 361–366, 2004.
- FARMACOPEIA BRASILEIRA. **Atheneu**. São Paulo, 2010.
- FORWOOD, J. M. et al. Life cycle and settlement of an Australian isolate of *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet, 1876 from rainbow trout. **Folia Parasitologica**, v.62, p. 1-5, 2015.
- JURINITZ, C. F.; JARENKOW, J. A. Estrutura de uma floresta estacional no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Botânica**, v26, p. 475-487, 2003.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. São Paulo: Institut Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 368 p,1982.
- MATTHEWS, R. A. *Ichthyophthirius multifiliis* fouquet and ichthyophthiriosis in freshwater teleosts. **Advances in Parasitology**, v59, p. 159-240, 2005.
- MURARI, A. L. **Óleos essenciais como antiparasitários contra *Gyrodactylus lillianae* E *Ichthyophthirius multifiliis***. 2016. 181 f. Doutorado em Farmacologia. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016.
- PICÓN-CAMACHO, S. M. et al. **An assessment of the use of drug and non-drug interventions in the treatment of *Ichthyophthirius multifiliis*** v139, p.149-190, 2012.
- PIO-CORRÊA, M. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1984.
- YAO, J. Y., SHEN, J. Y., LI, X. L., XU, Y., HAO, G. J., PAN, X. Y., WANG, G.X. AND

SILVA, D. T. **Óleos essenciais de *Nectandra grandiflora* e *Ocotea acutifolia***: rendimento, composição química e atividades biológicas. 2013. 141f. Dissertação de Mestrado em Engenharia Florestal. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

SHINN, A. P. et al. The anti-protozoal activity of bronopol on the key life-stages of *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet, 1876 (Ciliophora). **Veterinary Parasitology**, v.186, p.229-236, 2012.

VALLADÃO G.M.R., GALLANI S.U. & PILARSKI F. Phytotherapy as an alternative for treatment of fish disease. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics** v38,417–428, 2015.

YIN, W. L. Effect of sanguinarine from the leaves of *Macleaya cordata* against *Ichthyophthirius multifiliis* in grass carp (*Ctenopharyngo donidella*). **Parasitology Research** v107, 1035–1042, 2010.

ZHANG, Q. Z., XU, D. H. AND KLESIUS, P. H. Evaluation of an antiparasitic compound extracted from *Gallachinensis* against fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis*. **Veterinary Parasitology** v198, 45–53, 2013.