

ATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE PALMAROSA E SEU COMPONENTE MAJORITÁRIO, GERANIOL, SOBRE OVOS DE *Fasciola hepatica*

Ana Clara Boechat Nunes¹, Letícia Gomes Maciel¹, Mariana Belizario de Oliveira², Walter Cesar Celeri Bigui², Vagner Tebaldi de Queiroz³, Isabella Vilhena Freire Martins¹, Adilson Vidal Costa³.

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Alto Universitário, S/N, Guararema – 29500-000 – Alegre – ES, Brasil, ana.cb.nunes@edu.ufes.br, leticia.maciel@edu.ufes.br, isabella.martins@ufes.br.

²Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Exatas / Departamento Química, Avenida Fernando Ferrari, 29075-910 – Vitória-ES, Brasil. belizmary@hotmail.com, walter.bigui@edu.ufes.br.

³Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde/ Departamento de Química e Física, Alto Universitário, S/N, Guararema – 29500-000 – Alegre – ES, Brasil, vagner.queiroz@ufes.br avcosta@hotmail.com.

Resumo

A fasciolose possui grande importância na pecuária, principalmente por gerar a condenação do fígado durante o abate e por ser responsável pela queda da produção em ruminantes. Com o advento da etnoveterinária, novas alternativas de controle vêm surgindo, dentre elas o uso de óleos essenciais. O presente estudo buscou avaliar a eficácia do óleo essencial de palmarosa e seu componente majoritário, geraniol, sobre ovos de *Fasciola hepatica* em diferentes concentrações. Os ovos obtidos diretamente da bile de animais positivos para fasciolose foram incubados com soluções do óleo nas concentrações de 20, 40, 60, 80 e 100 ppm em placas do tipo ELISA de 12 poços por 14 dias em uma estufa do tipo BOD. Após esse tempo, as placas foram expostas e o número de miracídios eclodidos foi contado para realizar o cálculo de eficácia. Os resultados mostraram que as concentrações de 80 e 100 ppm do óleo foram eficazes na inibição da eclosão de miracídios, bem como as concentrações de 60, 80 e 100 ppm do geraniol, demonstrando o potencial do óleo e do seu majoritário no controle da fasciolose.

Palavras-chave: *Cymbopogon martinii*. Fasciolose. Eficácia. Etnoveterinária.

Área do Conhecimento: Ciências da Saúde - Medicina Veterinária.

Introdução

A fasciolose, doença causada por parasitos do gênero *Fasciola*, é considerada uma das doenças zoonóticas mais negligenciadas, possuindo alta distribuição global, sendo encontrada em mais de 70 países (Martins *et al.*, 2022). As infecções são documentadas em diversos hospedeiros, considerando humanos e principalmente ruminantes como ovinos, bovinos, caprinos e bubalinos (Lalor *et al.*, 2021). A doença possui grande importância na pecuária pois além de gerar a condenação do fígado durante o abate, é responsável pela queda na produção de leite e carne, além de aumentar os casos de mortalidade no rebanho (Rodrigues; Souza, 2019).

O controle da doença é feito através de ações que diminuam a população de hospedeiros intermediários e o uso de fármacos antiparasitários, principalmente com os pertencentes ao grupo dos benzimidazóis (Leão *et al.*, 2012). Entretanto, com o avanço da resistência aos fármacos anti-helmínticos comerciais e ainda a crescente sensibilização dos consumidores com relação aos resíduos de medicamentos, novas alternativas de tratamento vêm surgindo (Iberwe, 2019).

A etnoveterinária é uma ciência que se inspira em práticas tradicionais de tratamento e prevenção de doenças pelo uso de plantas medicinais e seus derivados (Campos e Itaya, 2016). Os óleos essenciais são compostos lipofílicos e aromáticos derivados de plantas, que podem apresentar uma composição variada. Assim, pesquisadores investigam os efeitos destes compostos sobre os microrganismos e organismos pluricelulares, obtendo resultados satisfatórios (Vieira, 2017).

Portanto, diante desse cenário que busca por alternativas ao controle da fasciolose, este trabalho visou analisar *in vitro* o potencial ovicida do óleo essencial de palmarosa (*Cymbopogon martinii*) e seu componente majoritário, geraniol sobre ovos de *F. hepatica*.

Metodologia

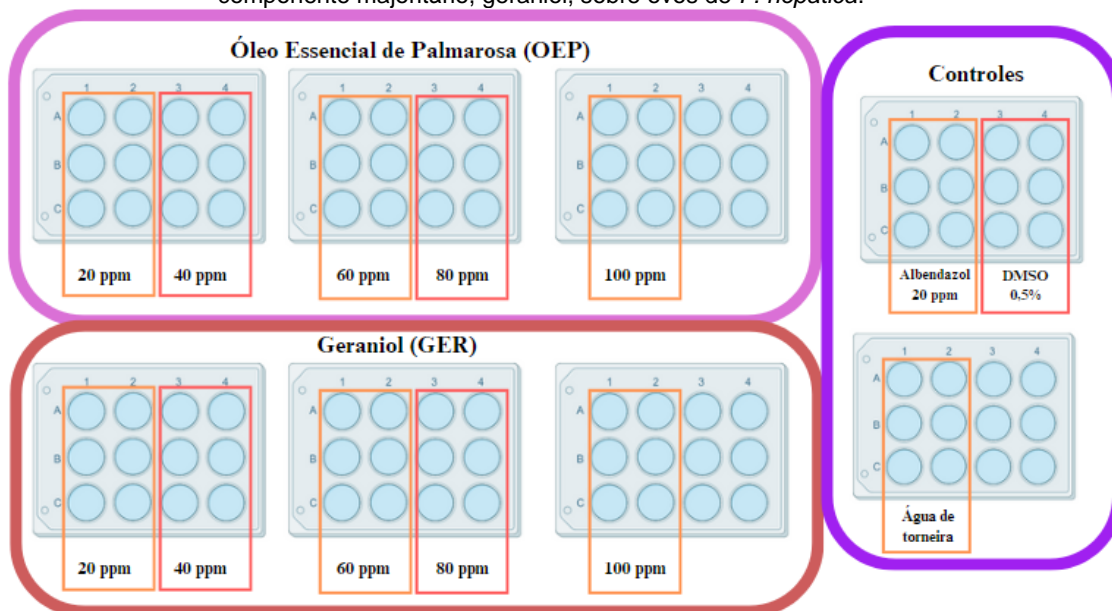
O experimento foi realizado no Laboratório de Parasitologia do Hospital Veterinário do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (HOVET CCAE UFES), localizado no município de Alegre, Espírito Santo, sendo aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Ufes-Alegre sob o protocolo 019/2023.

Os ovos de *F. hepatica* foram obtidos diretamente do líquido biliar de bovinos positivos para fasciolose abatidos em matadouros-frigoríficos da região sul do Espírito Santo, com a devida autorização prévia e encaminhados ao laboratório. O material foi sedimentado e lavado com água destilada, permanecendo em decantação por dez minutos em cada intervalo de descarte do sobrenadante até que este estivesse translúcido. O material foi armazenado em tubos do tipo Falcon de 50 mL envoltos por papel alumínio e acondicionados em geladeira entre 5 a 8°C.

As soluções de óleo essencial de palmarosa e seu componente majoritário, geraniol, foram fornecidas pelo Grupo de Estudos Aplicado em Produtos Naturais e Síntese Orgânica (GEAPS) da UFES. A diluição dos óleos foi feita utilizando-se dimetilsulfóxido (DMSO) 0,5% v v⁻¹ e água destilada em um volume de 20 mL nas concentrações de 20, 40, 60, 80 e 100 ppm, sendo organizados nos grupos: óleo essencial de palmarosa (OEP) e geraniol (GER). O controle do teste foi realizado com albendazol (ABZ) 20 ppm, DMSO a 0,5% v v⁻¹ e água destilada (AD).

O estudo seguiu a metodologia utilizada por Fairweather *et al.* (2012) e Marques *et al.* (2020). Os ovos foram diluídos em água destilada de forma que se obtivesse 100 ovos a cada um mL. Em seguida, um mL desta suspensão de ovos foi depositado em placas de cultivo do tipo ELISA de 12 poços juntamente com três mL da solução a ser avaliada. Para cada grupo foram realizadas seis repetições. O esquema de distribuição dos grupos está demonstrado na Figura 1.

Figura 1 - Esquema de distribuição de grupos no teste de eficácia do óleo essencial de palmarosa e seu componente majoritário, geraniol, sobre ovos de *F. hepatica*.



Fonte: Os autores.

Em seguida, as placas foram cobertas com um filme de parafina plástica e armazenadas em incubadora do tipo B.O.D a uma temperatura média de 25 °C por 14 dias. Após esse tempo, as placas foram expostas a uma luz incandescente de 100 W por três horas, sendo observadas e verificadas quanto à eclosão miracidial e possíveis alterações na morfologia a cada hora através de um microscópio estereoscópio no aumento de duas vezes.

Os cálculos de eficácia foram baseados na fórmula: $\% \text{ Eficácia} = \frac{(\text{Número de ovos em controle} - \text{Número de ovos em tratamento})}{\text{Número de ovos em controle}} \times 100$.

Os óleos foram considerados eficazes quando a porcentagem de eficácia superou 90%, assim como descrito por Wood *et al.* (1995).

Resultados

Os resultados referentes às leituras das placas estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 01 - Eficácia do óleo essencial de palmarosa (OEP) e seu componente majoritário, geraniol (GER) sobre ovos de *Fasciola hepatica*

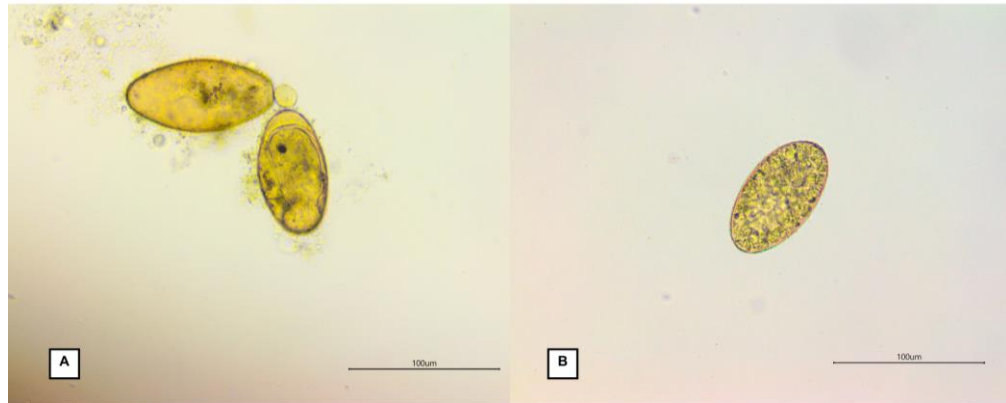
GRUPOS	Eficácia (%)
AD	0,0
ABZ 20 ppm	100,00
DMSO 0,5% v v ⁻¹	0,0
OEP 20 ppm	48,8
OEP 40 ppm	65,0
OEP 60 ppm	66,3
OEP 80 ppm	100,00
OEP 100 ppm	100,00
GER 20 ppm	32,5
GER 40 ppm	50,0
GER 60 ppm	100,00
GER 80 ppm	100,00
GER 100 ppm	100,00

Fonte: Produção do próprio autor

Com base nos resultados obtidos foi possível afirmar que o OEP e o GER são compostos que possuem potencial para a inibição da eclosão de miracídeos de *Fasciola hepatica*. As concentrações de 80 e 100 ppm de ambos OEP e GER foram altamente eficazes.

Em relação à morfologia, foi possível observar ovos com o opérculo aberto e ovos com a presença de miracídeos em seu interior e miracídeos livres no grupo controle com AD e no grupo com DMSO 0,5% v v⁻¹. Já no grupo ABZ 20 ppm foram vistos apenas ovos com o embrião interrompido (Figura 2).

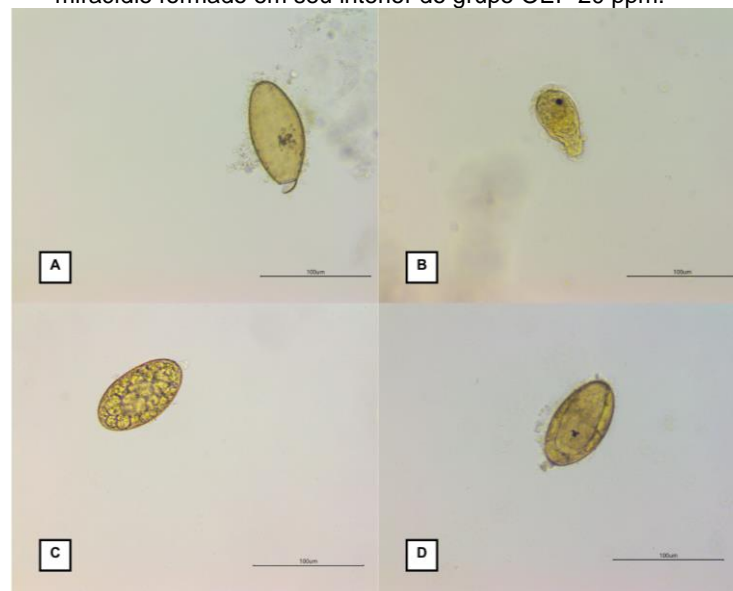
Figura 2 - Ovos do grupo controle negativo (AD) e controle positivo (ABZ 20 ppm no aumento de 20x. (A) Ovos do grupo AD demonstrando à esquerda um ovo de *F. hepatica* com opérculo aberto e à direita um ovo com um miracídio formado em seu interior no estágio de mancha ocular. (B) Ovos do grupo ABZ 20 ppm ilustrando um ovo de *F. hepatica* inviável com seu desenvolvimento estagnado.



Fonte: Os autores.

Já para os grupos tratados, foram observados ovos com o opérculo aberto, ovos com presença de miracídios formados em seu interior e miracídios livres nos grupos OEP 20 ppm, OEP 40 ppm, OEP 60 ppm, GER 20 ppm, GER 40 ppm e ovos embrionados, mas com o seu desenvolvimento estagnado nos demais grupos (Figura 3).

Figura 3 - Ovos de *Fasciola hepatica* dos grupos tratados com óleo de palmarosa e seu componente majoritário, geraniol, em aumento de 20x. (A) Ovo com opérculo aberto do grupo GER 20 ppm. (B) Miracídio livre do grupo OEP 40 ppm (C) Ovo com desenvolvimento interrompido do grupo OEP 100 ppm. (D) Ovo com miracídio formado em seu interior do grupo OEP 20 ppm.



Fonte: Os autores.

Discussão

Segundo Sen *et al.* (2023), o óleo essencial de palmarosa possui diversas propriedades, incluindo a anti-helmíntica, confirmada pela eficácia satisfatória encontrada para o mesmo no presente estudo. Katiki *et al.* (2011) realizaram um estudo utilizando o mesmo óleo contra o desenvolvimento de ovos de tricostrongíldeos de ovinos e seus resultados foram positivos para uma atividade anti-helmíntica em

concentrações que variaram de 0,018 mg/mL a 22,75 mg/mL, sendo a concentração letal média de 0,13 mg/mL.

Não existem outros testes na literatura com os mesmos compostos em *Fasciola hepatica*. Entretanto, óleos de outras plantas do mesmo gênero apresentaram satisfatória ação contra outros helmintos. Macedo *et al.* (2019) utilizaram do óleo de *Cymbopogon citratus* (Capim-limão) sobre ovos de *Haemonchus contortus* e obtiveram eficácia de 97,1% na concentração de 1,25 mg/mL. Katiki *et al.* (2012) usaram o óleo de *C. schoenanthus* (Capim camelo) sobre ovos de *Haemonchus contortus* em cordeiros que apresentavam resistência ao tratamento convencional e obtiveram 96,83% de eficácia na dose de 180/kg. Já Jeyathilakan *et al.* (2010) utilizaram o óleo essencial de *C. nardus* (Citronela) em parasitos adultos de *Fasciola gigantica*, obtendo 100% de eficácia na inibição da motilidade.

Ao realizar a histologia dos parasitos, foi possível observar que o óleo também afetou o útero e os ovos dos parasitos, que se apresentavam enegrecidos. Cassani *et al.* (2021) utilizaram o óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) nas mesmas concentrações testadas no presente estudo sobre ovos *F. hepatica* e obtiveram 100% de eficácia, visto que não houve eclosão miracidial nos grupos testados.

Semelhantemente à pesquisa de Cassani *et al.* (2021), o presente estudo também não encontrou alterações morfológicas como alterações de coloração e no tamanho dos ovos. Contudo, os autores relataram outras alterações como ovos com formatos deformados ou ovos com abertura do opérculo e saída do conteúdo nos grupos tratados com óleo, sendo que estas alterações não foram observadas na atual pesquisa.

Ainda é válido ressaltar que pesquisas voltadas para essa área ainda são necessárias, principalmente por não terem sido encontrados estudos na área da parasitologia com o óleo essencial de palmarosa. Os resultados positivos obtidos podem indicar que tal maneira de controle pode impedir a propagação da fasciolose através de uma medida alternativa.

Conclusão

Por meio dos resultados observados é possível afirmar que o óleo essencial de palmarosa e seu componente majoritário, geraniol, possuem satisfatória eficácia contra ovos de *Fasciola hepatica* quando utilizados em concentrações superiores a 80 e 60 ppm, respectivamente, sendo capazes de inibir a eclosão miracidial.

Referências

- CASSANI, L. S. *et al.*, Eficácia do óleo essencial de *Origanum vulgare* L. e carvacrol no controle *in vitro* de ovos de *Fasciola hepatica*. **XXV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica. Universidade do Vale do Paraíba**. 2021. Disponível em <https://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2021/anais/arquivos/RE_0513_0272_01.pdf>. Acesso em 15 de ago de 2024.
- FAIRWEATHER, I. *et al.* Development of an egg hatch assay for the diagnosis of triclabendazole resistance in *Fasciola hepatica*: Proof of concept. **Veterinary Parasitology**, v. 183, n. 3-4, p. 249-259, 2012.
- IBEKWE, H. A. *In vitro* anthelmintic activities of aqueous crude extract of *Azadirachta indica* on *Paramphistomum cervi* and *Fasciola hepatica*. **International Journal of Veterinary Sciences and Animal Husbandry**, v. 4, n. 1, p. 14-18, 2019.
- JEYATHILAKAN, N. *et al.* Anthelmintic activity of essential oils of *Cymbopogon nardus* and *Azadirachta indica* on *Fasciola gigantica*. **Tamilnadu Journal of Veterinary & Animal Sciences**, v. 6, n. 5, p. 204-209, 2010.
- KATIKI, L. M. *et al.* Anthelmintic activity of *Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon schoenanthus* and *Mentha piperita* essential oils evaluated in four different *in vitro* tests. **Veterinary Parasitology**, v. 183, n. 12, p. 103–108, 2011.

KATIKI, L. M. *et al.* Evaluation of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil in lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v. 186, n. 3- 4, p. 312–318, 2012.

LALOR, R. *et al.* Pathogenicity and virulence of the liver flukes *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* that cause the zoonosis Fasciolosis. **Virulence**, v. 12, n. 1, p. 2839-2867, 2021. Disponível em <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21505594.2021.1996520>> Acesso em 06 de jun de 2023.

LEÃO, A. G. C. *et al.* Eficácia do albendazole, sulfóxido de albendazole e do clorsulon no controle da fasciolose em bovinos leiteiros. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, n. 1, p. 11- 14, 2012.

MACEDO, I. T. F. *et al.* Anthelmintic effect of *Cymbopogon citratus* essential oil and its nanoemulsion on sheep gastrointestinal nematodes. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 28, n. 3, p. 522-527, 2019.

MARQUES, L. T. *et al.* Chemical composition of various plant extracts and their in vitro efficacy in control of *Fasciola hepatica* eggs. **Ciência Rural**, v. 50, n. 5, 2020.

MARTINS, I. V. F. *et al.* Estudo retrospectivo da prevalência das fasciolose bovina na região sul do estado do Espírito Santo, Brasil. In: XXI CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA. **Anais do XXI Congresso de Parasitologia Veterinária**. Ilhéus, Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária. 2022, Ilhéus. p.80.

RODRIGUES, H. C.; SOUZA, H. B. Prevalência e perdas econômicas por fasciolose em bovinos abatidos sob regime de inspeção municipal em Itaperuna, Rio de Janeiro. **Pubvet**, v.14, n.1, p. 1-4, 2019.

SEN, S. *et al.* Pharmaceutical, cosmeceutical, food additive and agricultural perspectives of *Cymbopogon martini*: A potential industrial aromatic crop. **South African Journal of Botany**, v. 158, p. 277-291, 2023.

VIEIRA, F. P. R. **Efeitos in vitro e caracterização química dos óleos essenciais de *Cinnamomum verum*, *Syzygium aromaticum*, *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris* e seus componentes majoritários sobre *Fasciola hepatica***. 2017. Dissertação. (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2017.

WOOD, I. B. *et al.* World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). **Veterinary parasitology**. v. 58, n. 3, p. 181-213, 1995.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) e com o apoio técnico da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e auxílio do Grupo de Estudo Aplicado em Produtos Naturais e Síntese Orgânica (GEAPS). Agradecimento ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).