

ASSOCIAÇÃO DE ESCOLAS REUNIDAS - ASSER

DIREÇÃO:

Oswaldo Aparecido Ienco (In Memoriam)
Antonio Carlos Vilela Braga (In Memoriam)
David José Hortenzi Vilela Braga
Marcello Aparecido Ienco

CENTRO UNIVERSITÁRIO CENTRAL PAULISTA - UNICEP

Diretor Geral: Dorival Marcos Milani
Diretor de Extensão: Maikon Vinicius Vidotti
Diretora de Ensino de Graduação: Maria Cristina Braga Tagliavini
Diretor de Pós-Graduação: André Serotini
Diretor de Apoio Administrativo: José Alberto Rodrigues Jordão
Diretora de Pesquisa: Cíntia Alessandra Matiucci Pereira

COMISSÃO DE PUBLICAÇÃO

Editores:

Antonio Carlos Vilela Braga (In Memoriam)
Cíntia Alessandra Matiucci Pereira

Editor Associado:

Dorival Marcos Milani

Secretária Executiva: Valéria Maia

Consultores *ad hoc* deste volume:

Cíntia Alessandra Matiucci Pereira	Juliana Nutti
Ana Claudia Figueiredo Rebolho	Angélica de Moraes Manço Rubiatti
Luís Roberto Paschoal	Alexandre Kannebley de Oliveira
Elianeide Nascimento Lima	Marco Aurélio Gumieri Valério
Josmar Brandão Coutinho	André Serotini
Daniel Sivieri Cordeiro	Helen Mariana Baldan Cimatti

As opiniões expressas nos artigos são de responsabilidade exclusiva dos autores

Capa: Ronie Anderson

Editoração: Danilo Fernando Rosemwinkel Escarachiulli

Associação de Escolas Reunidas - ASSER

Campus Administrativo: Rua Pedro Bianchi, 111 - Vila Alpes - CEP: 13570-381 - São Carlos - SP - Tel.: 16 3363-2111

Campus Miguel Petroni: Rua Miguel Petroni, 5111 - CEP: 13563-470 - São Carlos - SP - Tel.: 16 3362-2111

www.unicep.edu.br e-mail: multiciencia@unicep.com.br

MULTICIÊNCIA. São Carlos, SP: Centro Universitário Central Paulista,
v. 16, 2017. Anual. ISSN 1413-8972.

Editores: Antonio Carlos Vilela Braga (In Memoriam) e Cíntia A. Matiucci Pereira

I. UNICEP

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA *IN VITRO* DE
EXTRATOS VEGETAIS SOBRE OVOS DE *HAEMONCHUS CONTORTUS***

Matheus SILVA¹

Louyse Gabrielli LOPES²

Edy Sousa de BRITO³

Kirley Marques CANUTO⁴

Ana Sheila Queiroz de SOUZA⁵

Ana Carolina de Souza CHAGAS⁶

Maria Carolina Villani MIGUEL⁷

RESUMO: As doenças parasitárias são consideradas um grande obstáculo à produção de pequenos e grandes ruminantes. Os antiparasitários sintéticos têm sido a principal forma de controle, entretanto, devido ao seu uso intenso e indiscriminado, surgiram problemas de resistência dos parasitas e de resíduos nos alimentos de origem animal e no ambiente. A fitoterapia pode ser uma ferramenta na redução dos mesmos, além de prolongar a vida útil dos anti-helmínticos hoje comercialmente disponíveis. Atualmente, os estudos fitoquímicos de extratos vegetais fornecem informações quanto à natureza dos bioativos, o que permite o monitoramento da qualidade dos extratos e embasamento para elaboração de formulações antiparasitárias. No presente estudo, selecionaram-se extratos vegetais para realizar o estudo de sua atividade anti-helmíntica *in vitro* sobre o principal nematoide gastrointestinal de ovinos, *Haemonchus contortus*. Na avaliação dos extratos, a maior porcentagem de inibição da eclosão dos ovos foi encontrada nos extratos da arruda (EtOH *Ruta graveolens*), do bagaço de caju (MeOH *Anacardium occidentale*) e da cajazeira (MeOH H₂O *Spondias mombin*), que demonstraram 100% de inibição. O bagaço de caju, pela facilidade de obtenção e possibilidade de uso de um resíduo agroindustrial, foi selecionado para estudo futuro em ovinos infectados com *H. contortus*.

1 – Discente do Curso de Medicina Veterinária. Centro Universitário Central Paulista – UNICEP, Rua Miguel Petroni 5111, 13563-470 São Carlos, São Paulo, Brasil. Email: matheusgrego56@gmail.com

2 – Discente do Curso de Medicina Veterinária. Centro Universitário Central Paulista – UNICEP, Rua Miguel Petroni 5111, 13563-470 São Carlos, São Paulo, Brasil. Email: louyse.gabrielli@hotmail.com

3 - Pesquisador na Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita, 2.270, 60511-110 Fortaleza, Ceará, Brasil. Email: edy.brito@embrapa.br

4 - Pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita, 2.270, 60511-110 Fortaleza, Ceará, Brasil. Email: kirley.canuto@embrapa.br

5 – Discente do Curso de Farmácia na Universidade de Fortaleza – UNIFOR, Av. Washington Soares, 1321, 60.811-905 Fortaleza, Ceará, Brasil. Email: anasheilapetunifor@gmail.com

6 - Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sudeste, Rod. Washington Luiz, Km 234, Fazenda Canchim, 13560-970 São Carlos, São Paulo, Brasil. Email: carolina.chagas@embrapa.br

7 – Docente do Curso de Medicina Veterinária. Centro Universitário Central Paulista – UNICEP, Rua Miguel Petroni 5111, 13563-470 São Carlos, São Paulo, Brasil. Email: carolina.unicep@outlook.com

PALAVRAS-CHAVE: Verminose; controle; fitoterapia; extratos vegetais; bagaço do caju; resíduo agroindustrial.

Introdução

Os nematoides gastrintestinais se tornaram um grande gargalo na produção animal, em especial para os pequenos ruminantes. Estudos realizados por investigadores de vários países tropicais (JANSEN; PANDEY, 1989; MBOERA; KITALYI, 1994; PANDEY; NDAO; KUMAR et al., 1994 e ATANÁSIO, 2000) indicaram que, em infecções mistas em que *Haemonchus contortus* ocorre com maior incidência, as perdas econômicas são altas. O mesmo ocorre no Brasil, onde *H. contortus* possui maior importância econômica na criação de pequenos ruminantes (AROSEMENA et al., 1999; AMARANTE, et al. 2004; RAMOS et al., 2004). Nos países desenvolvidos as perdas anuais estimadas para o controle de nematoides gastrintestinais em pequenos ruminantes superam todos os outros custos para o controle de doenças endêmicas. Nos três países de maior produção em ovinos, Austrália, África do Sul e Uruguai, as perdas calculadas devido à resistência parasitária são de aproximadamente US\$222 milhões, US\$ 45 milhões e US\$ 42 milhões, respectivamente (WALLER, 2006).

O Brasil é considerado um país com grande diversidade de plantas, apesar disso, poucas são as pesquisas que exploram efetivamente este recurso para uso na pecuária. Atualmente, a pesquisa de extratos vegetais com atividade sobre parasitas tem crescido bastante e apresentado resultados significativos *in vitro*. Assim, a fitoterapia, uma área de pesquisa recente no Brasil, tem demonstrado potencial para se tornar uma ferramenta futura na redução dos problemas já citados na produção animal, como resistência e resíduos, possibilitando também prolongar a vida útil dos produtos químicos comerciais

utilizados no controle de parasitas, bem como a associação de bioativos vegetais com substâncias sintéticas (CHAGAS, 2008).

O conhecimento sobre a atividade biológica de um produto natural, revelada por um programa de triagem, pode levar à sua aplicação no manejo de pragas pela aplicação direta do próprio produto natural ou de produtos resultantes de modificações estruturais. O conhecimento e a compreensão da função de um produto químico na natureza podem levar a novas estratégias importantes no manejo de parasitas de interesse (PLIMMER, 1992 apud CHAGAS, 2001). Vários estudos como os exemplificados abaixo têm demonstrado *in vitro* o potencial de uso de plantas medicinais e seus óleos essenciais e substâncias isoladas no controle de parasitas. Os óleos essenciais são misturas complexas contendo várias dezenas ou mesmo centenas de substâncias com composição química variada, obtidos pela técnica de hidrodestilação. São conhecidos cerca de 3.000 óleos essenciais, dos quais 10% são reconhecidos com certa importância comercial, quer nos alimentos, farmacêutica ou cosmética (FAO, 1995).

Como anti-helmíntico, o óleo essencial de *Cymbopogon martinii* e o seu principal constituinte, o geraniol, foram testados *in vitro*, utilizando o nematoide de vida livre *Caenorhabditis elegans*. Ambas as substâncias demonstraram potente atividade anti-helmíntica. A CL₅₀ do geraniol foi determinada a 66,7µg/mL, sugerindo que o geraniol pode ser o princípio anti-helmíntico do óleo de *C. martinii* (KUMARAN et al., 2003). O extrato aquoso de *C. citratus* a 224 mg/mL reduziu em 95% as larvas de *Strongyloidea* oriundas de caprinos (ALMEIDA et al., 2003).

No caso do gênero *Eucalyptus*, o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* (Myrtaceae) foi testado sobre larvas e fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* e causou mortalidade de 100 a 12,5%. Quando esse óleo foi transformado em um concentrado emulsionável, a eficácia de 100% foi obtida na concentração de 3,9% (CHAGAS et al.,

2002). Estudos realizados na Embrapa Pecuária Sudeste (CPPSE) têm indicado eficácia desta espécie a baixas concentrações sobre outros parasitas, tais como *C. hominivorax* e nematoides gastrintestinais de ovinos (CARVALHO et al., 2007; GIGLIOTI et al., 2007). Macedo et al. (2010) analisaram o efeito do óleo essencial de *E. staigeriana* sobre *H. contortus* e observou ação inibitória sobre ovos (99,27% na concentração 1,35 mg/mL) e larvas (99,20% na concentração 5,4 mg/mL). Dois dos cinco extratos de *Picria fel-terrae* apresentaram efeito inibitório significativo (3 a 5 mg/mL) sobre a motilidade e o desenvolvimento de larvas de *H. contortus*. Os diferentes níveis de inibição apresentados foram relacionados aos diferentes constituintes ativos e suas concentrações presentes nestes extratos (KUMARASINGHA et al., 2016). As L₃, fase mais resistente aos extratos vegetais, de 10 diferentes isolados de *H. contortus* foram expostas ao extrato acetona:água de uma planta de clima temperado (*Onobrychis viciifolia*) e de uma planta tropical (*Acacia pennatula*) no ensaio de inibição da perda da cutícula. As concentrações letais (CL₅₀) do extrato de *O. viciifolia* variaram entre 128 e 1003 µg/mL e do extrato de *A. pennatula* variaram entre 36 a 501 µg/mL (CHAN-PÉREZ et al., 2017).

O estudo com extratos de plantas da família Piperaceae tem mostrado uma grande diversidade de metabólitos com marcantes atividades biológicas. Segundo Boll et al. (1994) várias lignanas, amidas de cadeia longa e ésteres graxos, foram isolados de extratos de plantas do gênero *Piper*, substâncias com ação inseticida comparada à de piretróides sintéticos. As piperáceas são reconhecidas pela sua potencial ação inseticida, fungicida e bactericida. Carvalho et al. (2012) realizou estudo em nematoides gastrintestinais de ovinos com o extrato alcoólico de *P. tuberculatum* e observou no teste de eclosão de larvas CL₅₀ e CL₉₀ de, respectivamente, 0,031 e 0,09 mg/mL. Já no teste de desenvolvimento larvar, CL₅₀ e CL₉₀ de 0,02 e 0,031 mg/mL, respectivamente.

Em relação ao ensaio *in vivo* em ratos infectados com *Strongyloides venezuelensis*, duas doses do extrato de *P. tuberculatum*, não causaram qualquer redução significativa ($P > 0,05$) na carga de vermes e contagem de ovos nas fezes. Dessa forma, *P. tuberculatum* apresentou atividade eficaz quando testada *in vitro*, no entanto, novamente as doses avaliadas *in vivo* não tiveram efeito.

Como se pode observar, os resultados promissores obtidos *in vitro* com extratos muitas vezes não se repetem *in vivo*, demonstrando a necessidade de parceria com especialistas em antiparasitários da indústria. Acredita-se que somente dessa forma o real potencial dessas substâncias possa ser investigado, por meio de formulações que permitam o uso de solventes mais adequados ou até mesmo de combinações químicas. A total aceitação de drogas provenientes de plantas e a aplicação de fitoterápicos na medicina veterinária só poderão ocorrer se estes produtos cumprirem os mesmos critérios de eficácia, segurança e controle de qualidade que os produtos sintéticos (RATES, 2001), ou seja, os produtos derivados de plantas devem ter eficácia avaliada e confirmada, assim como deve ser garantida que sua administração a organismos vivos ocorra sem riscos para a saúde animal e para a saúde do consumidor. O presente projeto contempla tais expectativas. Nenhuma das espécies que serão estudadas está ameaçada de extinção. Elas já são cultivadas no Brasil para fins comerciais e industriais, contemplando desta forma a questão da produtividade em larga escala sem impacto ambiental.

Objetivos

Determinar a atividade anti-helmíntica *in vitro* de extratos etanólicos, metanólicos e aquosos enviados pelo Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais (LMPQ) da Embrapa.

Material e Métodos

Foram enviados extratos vegetais oriundos da Embrapa Agroindústria Tropical (Fortaleza, CE) para a avaliação da atividade antiparasitária, na qual foram aplicadas metodologias inovadoras e padronizadas, recomendadas pela World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. Para tanto, segue descrição metodológica:

Recuperação dos ovos de *Haemonchus contortus*

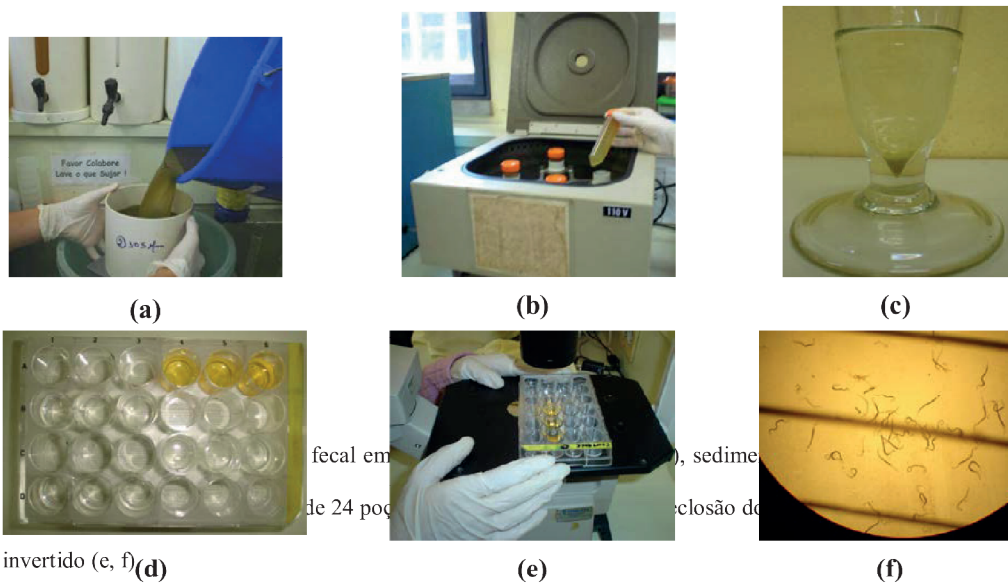
Os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Embrapa Pecuária Sudeste – CEUA. Dois ovinos Santa Inês da Embrapa Pecuária Sudeste foram mantidos em baias e infectados com 4.000 L₃ de *H. contortus* (cepa Embrapa2010, CHAGAS et al., 2013). As fezes foram coletadas diretamente da ampola retal dos hospedeiros. Os ovos foram recuperados com o uso sequencial de peneiras, seguindo o protocolo de Coles et al. (1992). As fezes foram maceradas e homogeneizadas em água aquecida a 40°C e filtradas em uma sequência de peneiras com malhas contendo aberturas de 250µm, 150µm, 75µm e 25µm. Após essa lavagem com água destilada, os ovos foram coletados da última peneira e distribuídos em tubos tipo Falcon de 50mL e centrifugados em 1.100 x g/ 5 minutos, para em seguida ser descartado o sobrenadante e completar-se com solução salina saturada para a ressuspensão do sedimento. Após nova centrifugação nas mesmas condições, o sobrenadante foi lavado na peneira de 25µm, para a retirada de toda solução salina. Os ovos recuperados foram transferidos para um Becker e quantificados. A coleta de fezes dos hospedeiros está ilustrada na figura 1.



Figura 1. Coleta de fezes diretamente da ampola retal dos hospedeiros.

Teste de eclosão de ovos com nematoides gastrintestinais de ovinos (TEO)

Aproximadamente 100 ovos/vol. foram colocados em placas com 24 poços para cada um dos extratos vegetais na concentração de 50 mg/mL. Também foi elaborado o grupo controle com água destilada. Todos os extratos e controle foram avaliados em seis repetições. As placas foram incubadas por 24h a 27°C e UR > 80. Após esse período, foi adicionada uma gota de lugol em cada poço onde os ovos e L₁ eclodidas foram quantificados em microscópio invertido para cálculo da porcentagem de inibição da eclosão larvar. Sequência de recuperação dos ovos e exposição aos extratos vegetais está ilustrada na figura 2.



invertido (e, f)(d)

fecal em
de 24 poç
, sedime
eclosão de

Contagem de ovos por rama de fezes (OPG)

Os ovinos hospedeiros foram permanentemente monitorados quanto à sua infecção parasitária por meio da realização do teste de OPG. Foram coletadas as fezes diretamente da ampola retal dos ovinos. Seguindo o protocolo de Gordon; Whitlock (1939), foram pesados 2 gramas de fezes em um Becker, em seguida essas fezes foram maceradas com 28 mL de solução salina, homogeneizadas e peneiradas em um outro Becker. Com o auxílio de uma pipeta de Pasteur uma amostra foi retirada e disposta em duas áreas da câmara de MacMaster. Após 5 minutos de repouso, a amostra foi analisada em microscópio óptico onde foi realizada a contagem de ovos presentes em ambas as áreas da câmara. A soma total de ovos contados nas duas áreas da câmara foi multiplicada por 50, onde obteve-se o resultado referente ao número de ovos por grama de fezes. Sequência utilizada para o processamento do OPG está ilustrada na figura 3.

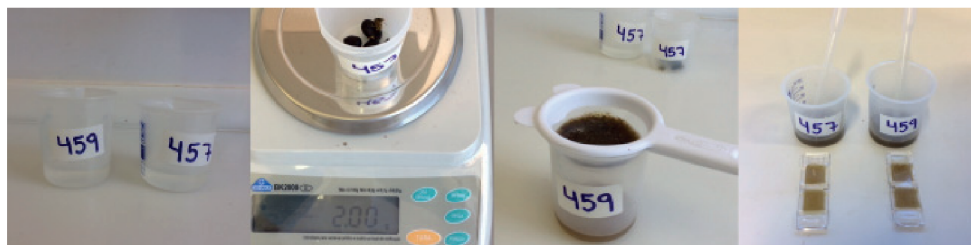


Figura 3. Processos utilizados para realização da contagem de ovos por grama de fezes (OPG).

Determinação dos fenólicos totais pelo método *Folin-Ciocalteu*

Devido à facilidade de obtenção e possibilidade de uso de um resíduo agroindustrial, o extrato metanólico do bagaço do caju (Figura 4) foi selecionado para um futuro estudo *in vivo*, ou seja, para prosseguimento dos estudos em ovinos infectados com *H. contortus*. Desta forma, a determinação dos fenólicos totais foi realizada e estudos fitoquímicos desse material ainda estão em andamento.

A determinação dos teores de compostos fenólicos totais foi baseada no método de Singleton e Rossi com modificações (1965). Foram utilizados os seguintes reagentes: Folin-Ciocalteu (Vetec), uma solução saturada de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 17% e um padrão autêntico de ácido gálico (BDH, 98 %), do qual foi preparado uma solução-estoque de 70 $\mu\text{g}/\text{mL}$ em etanol 10%. As curvas de calibração foram construídas com sete soluções-padrões nas seguintes concentrações: 0,7-7,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$. As amostras foram preparadas através da dissolução de 5 mg de extrato em 50 mL de etanol 10%. As amostras e as soluções-padrões foram postas para reagir com o reagente Folin-Ciocalteu e Na_2CO_3 por 90 min. Toda a análise foi feita em duplicata e sob abrigo da luz. A leitura foi feita em espectrofotômetro UV-Vis Varian Cary 300 Conc a 725 nm, utilizando-se cubetas de quartzo. As curvas de calibração foram geradas pela correlação dos valores de absorbância x concentração, obtendo-se delas as equações das retas e os seus respectivos coeficientes de linearidade (R^2). O teor de fenólicos totais foi expresso em mg de equivalente de ácido gálico/mg de extrato metanólico e em mg de equivalente de ácido gálico/g de bagaço de caju.

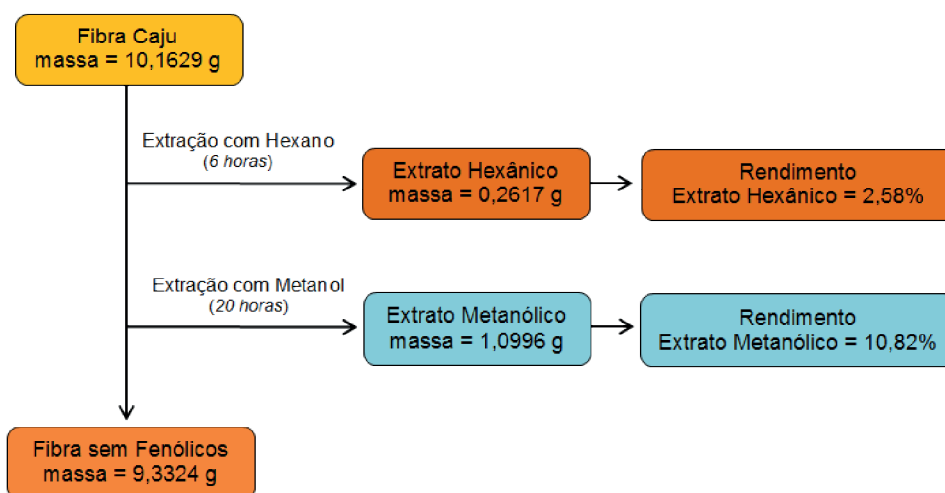


Figura 4. Fluxograma de extração do bagaço de caju com solventes orgânicos.

Resultados

O teste avaliou a eclosão dos ovos do parasita *H. contortus* após 24 horas expostos à concentração de 50 mg/mL de extratos etanólicos, metanólicos e aquosos enviados pelo Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais (LMPQ) da Embrapa. Na avaliação dos extratos, a maior porcentagem de inibição foi encontrada nos extratos da arruda (EtOH *Ruta graveolens*), do bagaço de caju (MeOH *Anacardium occidentale*) e da cajazeira (MeOH H₂O *Spondias mombin*), que demonstraram 100% de inibição como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1. Porcentagem de inibição da eclodibilidade (% I) de ovos de *H. contortus* na presença de extratos vegetais a 50 mg/mL: tipo de extrato, nome popular e científico e parte utilizada.

Tipo de extrato	Nome popular	Nome científico	Parte utilizada	(%) I
Etanólicos	Cravo-de-defunto	<i>Tagetes minuta</i>	Folhas	48,7
	Cravo-de-defunto	<i>Tagetes minuta</i>	Flores	69,5
	Pata de vaca**	<i>Bauhinia</i> sp.	Folhas	1,9
	Pata de vaca	<i>Bauhinia</i> sp.	Flores	13,4
	Arruda	<i>Ruta graveolens</i>	Folhas e ramos finos	100,0
Etanólicos: Aquosos (70:30)	Palma orelha de elefante	<i>Opuntia stricta</i>	Folhas	8,1
	Palma doce	<i>Nopalea cochenillifera</i>	Folhas	37,5
	Palma IPA*	<i>Nopalea cochenillifera</i>	Folhas	13,5
	Palma controle	<i>Nopalea cochenillifera</i>	Folhas	76,2
	Maracujá do mato (60:40)	<i>Passiflora cincinnata</i>	Cascas do fruto	9,8
Metanólicos	Bagaço de caju	<i>Anacardium occidentale</i>	Bagaço do caju	100,0
	Gliricidia (Pinheiro)	<i>Gliricidia sepium</i>	Sementes	60,0
	Gliricidia (semi-árido)	<i>Gliricidia sepium</i>	Sementes	53,0
Metanólico: Aquoso	Cajazeira (80:20)	<i>Spondias mombin</i>	Folhas	100,0
Aquoso	Crotalária	<i>Crotalaria</i> sp.	Sementes	63,9

* IPA: Instituto Agronômico de Pernambuco, todas as palmas foram cultivadas em Trairi-CE.
** extrato de difícil leitura/contagem.

Em relação aos fenólicos totais, o teor no material foi de 0,06 mg ác. gálico/mg de extrato metanólico, correspondente a 62,5 mg ác. gálico/g bagaço de caju.

Conclusão

Com base nos testes analisados observou-se que os extratos da Embrapa Agroindústria Tropical avaliados no Teste de eclosão de ovos (TEO) apresentaram ótimos resultados. Dentre os extratos, o que se destacaram foram os da Arruda, do Bagaço do caju e da Cajazeira, com 100% de inibição da eclosão dos ovos. O bagaço de caju, pela facilidade de obtenção e possibilidade de uso de um resíduo agroindustrial, foi selecionado para estudo futuro *in vivo*, ou seja, para prosseguimento dos estudos em ovinos infectados com *H. contortus*. Os compostos fenólicos podem ter um papel importante na atividade anti-helmíntica. Desta forma, estudos fitoquímicos desse material estão em andamento para conhecimento mais detalhado da sua composição química. Assim, espera-se que no futuro ele possa ser fornecido como uma alternativa fitoterápica para o controle parasitário em animais de produção.

Agradecimentos

À Embrapa pelo apoio financeiro durante a execução desse estudo.

In vitro evaluation of the anthelmintic activity of plant extracts on *Haemonchus contortus* eggs

ABSTRACT: Parasitic diseases are considered a major obstacle to the production of small and large ruminants. Synthetic antiparasitics have been the main form of control. However, due to their intense and indiscriminate use, problems of parasite resistance and residues in animal foods and in the environment have increased. Phytotherapy can be a tool to reduce these problems, as well as to prolong the shelf-life of anthelmintics currently commercially available. Phytochemical studies of plant extracts provide information on the nature of the bioactive compound, which allows determining the quality of the extracts and base to prepare antiparasitic formulations. In the present study, plant extracts and their formulations were selected to analyze their anthelmintic activity *in vitro* on the main gastrointestinal nematode of sheep, *Haemonchus contortus*. In the evaluation of extracts, the highest percentage of egg hatching inhibition was found for the extracts of rue (EtOH *Ruta graveolens*), cashew bagasse (MeOH *Anacardium occidentale*) and cassava (MeOH H₂O *Spondias mombin*), which demonstrated 100% inhibition. Cashew bagasse, due to its plentiful availability and the possibility of using an agroindustrial residue, was selected for future study in sheep infected with *H. contortus*.

KEYWORDS: Parasitic diseases; control; Phytotherapy; plant extracts; cashew bagasse; agroindustrial residue.

Referências Bibliográficas

ALMEIDA, M. A. O.; BOTURA, M. B.; SANTOS, M. M.; ALMEIDA, G. N.; DOMINGUES, L. F.; COSTA, S. L.; BATATINHA, M. J. M. Efeitos dos extratos aquosos de folhas de *Cymbopogon citratus* (DC) stapf (capim santo) e de *Digitaria insularis* (L.) fedde (capim-açu) sobre cultivos de larvas de nematóides gastrintestinais

de caprinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 3, p. 125-129, 2003.

ATANÁSIO, A. **Helminths, protozoa, heart water, and the effect of gastrointestinal nematodes on productivity of goats of the family sector in Mozambique**. 2000. 185 f. Thesis (PhD) - Medical University of Southern Africa, Pretoria, 2000.

AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A.; ROCHA, R. A.; GENNARI, S. M. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France lambs to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v. 120, p. 91-106, 2004.

AROSEMENA, N. A. E.; BEVILÁQUA, C. M. L.; MELO, A. C. F. L.; GIRÃO, M. D. Seasonal variations of gastrointestinal nematode in sheep and goats from semi-árid areas in Brazil. **Revista de Medicina Veterinária**, v. 150, p. 873-876, 1999.

BOLL, P. M., PARMAR, V. S.; TYAGI, O. D.; PRASAD, A.; WENGEL, J.; OLSEN, C. E. Some recent isolation studies from potential insecticidal *Piper* species. **Pure & Applied Chemistry**, v. 66, p. 2339-2342, 1994.

CARVALHO, C. O.; CHAGAS, A. C. S.; COTINGUIBA, F.; FURLAN, M.; BRITO, L. G.; CHAVES, F. C. M.; STEPHAN, M. P.; BIZZO, H. R.; AMARANTE, A. F. T. The anthelmintic effect of plant extracts on *Haemonchus contortus* and *Strongyloides venezuelensis*. **Veterinary Parasitology**, v.183, p.260 - 268, 2012.

CARVALHO, C. O.; OLIVEIRA, M. C. S.; FREITAS, A. R.; CHAGAS, A. C. S.; GIGLIOTI, R.; GIGLIOTI, C.; ESTEVES, S. N. Efeito de óleos essenciais de eucalipto sobre ovos, larvas de terceiro estágio e adultos de nematóides gastrintestinais de ovinos. In: SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA PECUÁRIA SUDESTE, 2, 2007, São Carlos. **Anais...** São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2007p. 22-23.

CHAGAS, A. C. S. **Efeito acaricida de produtos naturais e sintéticos de plantas e solventes sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae)**. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte/MG. Tese de Doutorado, 2001. 58p.

CHAGAS, A. C. S. Metodologias *in vitro* para avaliação de fitoterápicos sobre parasitas e resultados de testes a campo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 2008, Curitiba. **Anais...** Curitiba: CBPV, 2008. v. 15. 13p.

CHAGAS, A. C. S.; KATIKI, L. M.; SILVA, I. C.; GIGLIOTI, R.; ESTEVES, S. N.; OLIVEIRA, M. C. S.; BARIONI-JÚNIOR, W. *Haemonchus contortus*: A multiple-resistant Brazilian isolate and the costs for its characterization and maintenance for research use. **Parasitology International**, v.62, p.1 - 6, 2013.

CHAGAS, A. C. S.; PASSOS, W. M.; PRATES, H. T.; LEITE, R. C.; FURLONG, J.; FORTES, I. C. P. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.39, n.5, p.247-253, 2002.

CHAN-PÉREZ, J. I.; TORRES-ACOSTA, J. F. J.; SANDOVAL-CASTRO, C. A.; CASTAÑEDA-RAMÍREZ, G. S.; VILAREM, G.; MATHIEU, C.; HOSTE, H. Susceptibility of ten *Haemonchus contortus* isolates from different geographical origins towards acetone:water extracts of polyphenol-rich plants. Part 2: Infective L₃ larvae. **Veterinary Parasitology**, v. 240, p. 11–16, 2017.

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

FAO. **Flavours and Fragrances of Plant Origin**. Rome, 1995.

GIGLIOTI, R.; CARVALHO, C. O.; FERREZINI, J.; OLIVEIRA, M. C. S.; CHAGAS, A. C. S. Efeito do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* sobre larvas de terceiro estágio de *Cochliomyia hominivorax*: resultados preliminares. In: SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA PECUÁRIA SUDESTE, 2, 2007, São Carlos. **Anais...** São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2007. p. 28.

GORDON, H. M., WHITLOCK, H. V. A., 1939. New technique for counting nematodes eggs in sheep faeces. **Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 12, p. 50-52.

JANSEN, J.; PANDEY, V. S. Observations on gastro-intestinal helminths of goats in Zimbabwe. **Zimbabwe Veterinary Journal**, v. 20, p. 11-13, 1989.

KUMARAN, A. M.; D'SOUZA, P.; AGARWAL, A.; BOKKOLLA, R. M.; BALASUBRAMANIAM, M. Geraniol, the putative anthelmintic principle of *Cymbopogon martinii*. **Phytotherapy Research**, v. 17, p. 957, 2003.

KUMARASINGHA, R.; PRESTON, S.; YEO, T. C.; LIM, D. S. L.; TU, C. L.; PALOMBO, E.A.; SHAW, J.M.; GASSER, R.B.; BOAG, P.R. Anthelmintic activity of selected ethno-medicinal plant extracts on parasitic stages of *Haemonchus contortus*. **Parasites & Vectors**, v. 9, p. 187-193, 2016

MACEDO, I. T. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; OLIVEIRA, L. M. B.; CAMURÇAVASCONCELOS, A. L. F.; VIEIRA, L. S.; OLIVEIRA, F. R.; QUEIROZ-JUNIOR, E. M.; TOMÉ, A. R.; NASCIMENTO, N. R. F. Anthelmintic effect of *Eucalyptus staigeriana* essential oil against goat gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 173, p. 93-98, 2010.

MBOERA, L. E. G.; KITALYI, J. I. Diseases of small ruminants in central Tanzania. In: LEBBIE, S. H. B.; IRUNGU, E. K. (eds), Small Ruminant Research and Development in Africa. **Proceedings of the Conference of the African Small Ruminant Research Network**, 1994, AICC, Arusha, Tanzania, p.117–120.

PANDEY, V. S.; NDAO, M.; KUMAR, V. Seasonal prevalence of gastrointestinal nematodes in communal land goats from the highveld of Zimbabwe. **Veterinary Parasitology**, v. 51, n. 3-4, p. 241-248, 1994.

RAMOS, C. I.; BELLATO, V.; SOUZA, A. P.; ÁVILA, V. S.; COUTINHO, G. C.; DALAGNOL, C.A. Epidemiologia das helmintoses gastrintestinais de ovinos no Planalto Catarinense. **Ciência Rural**, v. 34, p. 1889-1895, 2004.

RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. **Toxicology**, v.39, p.603-13, 2001.

SINGLETON, V. L., ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144–158, 1965.

WALLER, P. J. From discovery to development: current industry perspectives for the development of novel methods of helminth control in livestock. **Veterinary Parasitology**, v. 139, p. 1-14, 2006.