



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AMBIENTE, TECNOLOGIA E SOCIEDADE
MESTRADO EM AMBIENTE, TECNOLOGIA E SOCIEDADE

TALLYSON NOGUEIRA BARBOSA

ATIVIDADE OVICIDA *in vitro* DO EXTRATO SALINO DAS FOLHAS DO *Ziziphus joazeiro* MART. EM NEMATOIDES GASTRINTESTINAIS DE CAPRINOS

MOSSORÓ

2019

TALLYSON NOGUEIRA BARBOSA

ATIVIDADE OVICIDA *in vitro* DO EXTRATO SALINO DAS FOLHAS DO *Ziziphus joazeiro* MART. EM NEMATOIDES GASTRINTESTINAIS DE CAPRINOS

Dissertação apresentada ao Mestrado em Ambiente, Tecnologia e Sociedade, do Programa de Pós-Graduação em Ambiente, Tecnologia e Sociedade da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Ambiente, Tecnologia e Sociedade.

Linha de Pesquisa: Tecnologias Sustentáveis e Recursos Naturais do Semi-Árido

Orientadora: Profa. Dra Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra.

MOSSORÓ

2019

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central Orlando Teixeira (BCOT)
Setor de Informação e Referência (SIR)

B
238 a Barbosa, Tallyson Nogueira.
Atividade ovicida in vitro do extrato salino das folhas do Ziziphus joazeiro Mart. em nematoides gastrintestinais de caprinos / Tallyson Nogueira Barbosa. - 2019.
57 f. : il.

Orientadora: Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra.
Coorientadora: Michele Dalvina Correia da Silva.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Ambiente, Tecnologia e Sociedade, 2019.

1. Caprino. 2. Parasito. 3. Fitoterápico. 4. Antiparasitário. I. Bezerra, Ana Carla Diógenes Suassuna, orient. II. Silva, Michele Dalvina Correia da, co-orient. III. Título.

Bibliotecário-Documentalista
Nome do profissional, Bib. Me. (CRB-15/10.000)

TALLYSON NOGUEIRA BARBOSA

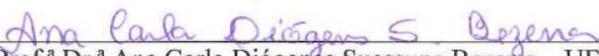
ATIVIDADE OVICIDA *in vitro* DO EXTRATO SALINO DAS FOLHAS DO *Ziziphus joazeiro* MART. EM NEMATOIDES GASTRINTESTINAIS DE CAPRINOS

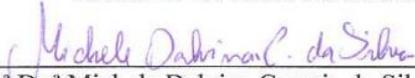
Dissertação apresentada ao Mestrado em Ambiente, Tecnologia e Sociedade, do Programa de Pós-Graduação em Ambiente, Tecnologia e Sociedade da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Ambiente, Tecnologia e Sociedade.

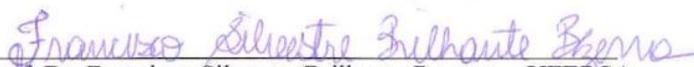
Linha de Pesquisa: Tecnologias Sustentáveis e Recursos Naturais do Semi-Árido

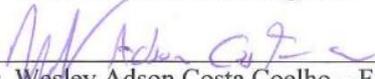
Defendida em: 25 / FEVEREIRO / 2019.

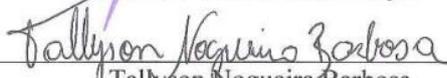
BANCA EXAMINADORA


Prof.^a Dr.^a Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra – UFERSA
Presidente da banca e orientadora


Prof.^a Dr.^a Michele Dalvina Correia da Silva – UFERSA
Membro externo ao Programa


Prof. Dr. Francisco Silvestre Brilhante Bezerra - UFERSA
Membro externo ao Programa


Prof. Dr. Wesley Adson Costa Coelho – FACENE
Membro externo à Instituição


Tallyson Nogueira Barbosa
Discente

Dedico esta obra a minha família. Por todo amor, carinho e respeito.

AGRADECIMENTOS

De todo o meu coração, de toda minha alma, agradeço primeiro ao Senhor da vida, Deus de amor, soberanamente justo e bom. Por me conceder o dom da vida, por ser o pai de amor que não abandona nenhum de seus filhos, por me permitir alcançar este objetivo, por compreender minhas fraquezas sem nenhuma explicação. Pois elevei meus olhos a ti e me senti fortalecido, pois tu és minha força e meu alívio. Sem vós, nada somos.

A minha família, por estar sempre ao meu lado, em especial aos meus pais Creuza e Ivan, meus amores incondicionais, por todo carinho, toda felicidade, todo sacrifício realizado em nome do bem estar dos filhos. Não existirão palavras que sejam suficientes para expressar todo amor que sinto por vocês, por serem os melhores pais que alguém poderia ter. Mesmo com todas as dificuldades, jamais cansaram de lutar para garantir o futuro dos filhos, e o mais importante, por me dar todo amor que é possível ser dado. A vocês sempre darei todo carinho, amor e respeito, os amo profundamente.

A minha namorada Ângela, por todo carinho, pelo amor e por compreender todas as minhas escolhas, por estar ao meu lado, comemorando minhas conquistas e me consolando nos momentos difíceis, te amo.

A Universidade Federal Rural do Semi-Árido, por me conceder este título, e permitir o meu crescimento acadêmico.

A minha orientadora, Professora Ana Carla. As palavras jamais serão boas interpretes para expressar todo carinho, respeito e afeto que sinto pela senhora, obrigado por sempre acreditar em mim, mesmo quando tantos outros duvidaram inclusive eu mesmo, obrigado por me ensinar a ser uma pessoa cada vez melhor e por compreender minhas limitações. De todas as pessoas que tive a honra de trabalhar nesta instituição, a senhora sempre será a mais importante. Espero um dia me tornar um profissional tão competente, gentil e sábio como a senhora é. Que Deus sempre te abençoe, pois é uma mulher maravilhosa. Muito obrigado por tudo, te levarei para sempre por onde quer que eu vá.

A professora Michele, pela co-orientação deste trabalho, pelos ensinamentos, apoio, confiança, incentivo e respeito, sem os quais não poderíamos chegar onde estamos.

Ao Professor Silvestre, por toda ajuda na construção desta obra, por me ajudar no meu crescimento acadêmico, por acreditar na minha capacidade como aluno, por ter me proporcionado o caminho que culminou na aprovação do doutorado. Que o Senhor seja sempre abençoado e que o sucesso seja a sua estrada.

Ao Professor Wesley Adson, por aceitar fazer parte da avaliação deste projeto e assim, ajudar no aperfeiçoamento deste trabalho.

A professora Karoline Mikaelle, por todo carinho, pelos conselhos, pelas risadas, pelo respeito e ensinamentos, por ter se tornado não só uma professora em minha vida, mas também por ser uma amiga valorosa.

A minha melhor amiga, Mara Thais, por tudo lhe serei eternamente grato, por ser uma verdadeira irmã, muito embora não de sangue, mas de coração. Por me ajudar a combater as minhas dificuldades, por estar ao meu lado desde os momentos mais felizes e permanecer fiel nas situações mais tempestuosas. E ao meu melhor amigo, Thiago Nunes, por fazer parte da minha história de vida, pelas brincadeiras que me permitiram esquecer as dificuldades e por me fazer entender que sempre poderei contar contigo.

A minha grande e também melhor amiga Bárbara Camila, não posso lhe dizer o quanto fui feliz por ter tido a oportunidade de conviver contigo durante toda essa estrada do mestrado. Obrigado por ficar ao meu lado, mesmo quando lhe roubava a paciência, muitas vezes por sinal, obrigado por todos os momentos de alegria e também pelos cartões na tentativa de corrigir os meus erros. Por tudo, serei sempre grato a ti, e quero que saiba que não importará o tempo ou distância, sempre poderá contar comigo.

Ao meu amigo João Inácio, pelo companheirismo, apoio e valorosos conselhos durante toda essa jornada, assim como aos demais amigos/colegas de trabalho do LABIP, Cristina, Lídia Arielle, Keven, Laryssa, Madalena, Renata, Sara, Sarinha, Vivian e Amanda. Por todo auxílio, risos e aprendizado.

Aos amigos que a UFERSA me proporcionou. Paulo Filho, Lucas, Matheus, Eli, Iohana, Renata, Ana, Larissa, Lidiane e a tantos outros que junto comigo, riram, sofreram e voltaram a sorrir, me ensinando que tudo se torna melhor quando não nos sentimos sozinhos.

Por tudo isso, sempre serei grato a todos vocês, e que jamais me esquecerei de tudo que foi vivido, pois me tornaram uma pessoa melhor.

“Fé inabalável é somente aquela que pode encarar a razão face a face em todas as épocas da Humanidade.”

Allan Kardec.

RESUMO

A caprinocultura é uma atividade agropecuária de grande importância econômica e social. Entretanto, o parasitismo por nematóides gastrintestinais ocasiona grandes perdas na produção, associadas ao desenvolvimento da resistência química parasitária. Como essa resistência tem-se agravado ao longo dos anos, a busca por métodos alternativos tornou-se essencial para a atividade produtiva. O objetivo deste estudo foi analisar fitoquimicamente o extrato salino obtido a partir das folhas de *Ziziphus joazeiro* Mart., avaliar sua atividade ovicida contra parasitos gastrintestinais de caprinos (GIN) e sua toxicidade aguda frente a náuplios de *Artemia salina*. Para tal, folhas de *Z. joazeiro* foram coletadas, secas a temperatura ambiente e processadas para preparo do extrato salino. Uma vez obtido o extrato a análise fitoquímica foi realizada. Para o teste de eclodibilidade in vitro, ovos de parasitos GIN foram recuperados de amostras fecais coletadas em caprinos naturalmente infectados e incubados em adição as diferentes concentrações do extrato. Um ensaio para avaliar a toxicidade do extrato salino de *Z. joazeiro* foi realizado contra náuplios de *Artemia salina*. Como resultados, foram identificados os componentes fitoquímicos: saponinas, taninos, flavonoides e alcaloides. O extrato da folha de *Z. joazeiro* apresentou resultados satisfatórios de inibição de 99,53%, 75,28% e 67,66% nas concentrações 20,288mg/ml, 10,144mg/ml e 5,072mg/ml respectivamente. O extrato apresentou uma CL50 de 10,14mg/ml no teste de toxicidade. Esses dados revelam que extrato salino bruto de *Z. joazeiro* apresentou substâncias consideradas bioativas, com efeitos antiparasitários sob ovos de parasitos gastrintestinais de caprinos.

Palavras-chave: Caprino, Parasito, Fitoterápico, Antiparasitário.

ABSTRACT

The goat breeding is an agricultural activity of great economic and social importance. However, parasitism by gastrointestinal nematodes causes large production losses associated with the development of parasitic chemical resistance. As this resistance has worsened over the years, the search for alternative methods has become essential for productive activity. The objective of this study was to analyze phytochemically the saline extract obtained from the leaves of *Ziziphus joazeiro* Mart., To evaluate its ovicidal activity against gastrointestinal parasites of goats (IGN) and its acute toxicity against nauplii of *Artemia salina*. For this, *Z. joazeiro* leaves were collected, dried at room temperature and processed to prepare the salt extract. Once the extract was obtained the phytochemical analysis was performed. For the in vitro hatchability test, IGN parasite eggs were recovered from fecal samples collected in naturally infected goats and incubated in addition to the different concentrations of the extract. An assay to evaluate the toxicity of *Z. joazeiro* saline extract was performed against *Artemia salina* nauplii. As a result, the phytochemical components were identified: saponins, tannins, flavonoids and alkaloids. The *Z. joazeiro* leaf extract presented satisfactory inhibition results of 99.53%, 75.28% and 67.66% at the concentrations of 20.288mg / ml, 10.144mg / ml and 5.072mg / ml respectively. The extract showed a LC50 of 10.14 mg / ml in the toxicity test. These data show that crude salt extract of *Z. joazeiro* presented substances considered bioactive, with antiparasitic effects under eggs of gastrointestinal parasites of goats.

Keywords: Goat, Parasitic, Phytotherapeutic, Antiparasitic.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Larva de terceiro estágio (fase infectante) de <i>Trichostrongylus colubriformis</i> obtido através de coprocultura de fezes de caprinos.....	15
Figura 2	– Parasitos gastrintestinais recuperados das fezes de caprinos: A - Exemplar de <i>Oesophagostomum</i> sp caracterizador por células intestinais pentagonais e cauda longa; B - Exemplar de <i>Strongyloides</i> sp com presença das extremidades afiladas e esôfago estreito.....	16
Figura 3	– Larva de terceiro estágio (forma infectante) <i>Haemonchus contortus</i> com cauda da bainha terminada em filamento simples.....	17
Figura 4	– Árvore de <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart em estado adulto, médio porte, copa abundante e perene.....	24
Figura 5	– Inflorescência e folhas de <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart. com detalhe morfológicos para flores de coloração branco-amarelado e folha apresentando três nervuras bem definidas e não ramificadas.....	24

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Gráfico 1. Percentual de inibição da eclosão de ovos de nematóides gastrintestinais tratados com extrato de *Ziziphus joazeiro*. NC = controle negativo com NaCl; PC = controle positivo com tiabendazol; T1 = 20,28 mg / ml; T2 = 10,14 mg / ml; T3 = 5,07 mg / ml; T4 = 2,53 mg / ml. a, b, c, d Letras diferentes indicam diferença significativa ($P > 0,05$)..... 38
- Gráfico2 – Gráfico 2. Efeito toxicológico de quatro concentrações de extrato salino de *Z. juazeiro* Mart. sobre *A. salina*..... 39

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	12
2.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	14
2.1	CAPRINOCULTURA.....	14
2.2	PRINCIPAIS ENDOPARASITOS GASTROINTESTINAIS DE CAPRINOS.....	14
2.2.1	<i>Trichostrongylus colubriformis</i>.....	15
2.2.2	<i>Oesophagostomum</i> sp., <i>Strongyloides</i> sp.....	16
2.2.3	<i>Haemonchus contortus</i>.....	16
2.3	CONTROLE PARASITÁRIO.....	17
2.3.1	Controle por Métodos Químicos.....	17
2.3.1.1	Benzimidazóis, Imidatiazóis e Avermectinas.....	17
2.3.1.2	Resistência Parasitária.....	18
2.3.1.2.1	Teste <i>in vitro</i>	20
2.4	PRINCIPAIS MÉTODOS ALTERNATIVOS DE CONTROLE PARASITÁRIO..	20
2.4.1	Fungos Nematófagos.....	21
2.4.2	Homeopatia.....	21
2.4.3	Fitoterapia.....	22
2.4.3.1	<i>Ziziphus joazeiro</i> Mart.....	23
3.	OBJETIVOS.....	26
3.1	OBJETIVO GERAL.....	26
3.2	OBJETIVO ESPECÍFICO.....	26
Capítulo 1 –	ATIVIDADE OVICIDA <i>in vitro</i> DO EXTRATO SALINO DAS FOLHAS DO <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart. EM NAMATOIDES GASTROINTESTINAIS DE CAPRINOS.....	27
	Resumo.....	28
	Introdução.....	29
	Material e métodos.....	30

Obtenção do Extrato Salino e Análise Fitoquímica.....	30
Recuperação dos Ovos e Teste de Eclosão.....	31
Teste de Toxicidade.....	32
Análise Estatística.....	32
Resultados.....	33
Análise Fitoquímica.....	33
Atividade Ovicida.....	33
Atividade Toxicológica.....	34
Discussão.....	34
Conclusão.....	36
Referências.....	40
4. CONCLUSÃO.....	44
5. REFERÊNCIAS.....	45

1 INTRODUÇÃO

A fitoterapia surgiu desde os primórdios da história, e ao longo dos anos destacou-se nos estudos científicos em razão da necessidade de métodos alternativos para o controle, tratamento e prevenção de patologias (ANCIÁ et al., 2016). Nos últimos anos, houve uma intensificação das pesquisas na avaliação de extratos medicinais para o tratamento e controle de doenças parasitárias em animais domésticos (JAMOUS et al., 2017), e seu uso alternativo em casos de resistência parasitária nos pequenos ruminantes.

O surgimento de cepas resistentes é responsável por agravar a problemática do parasitismo gastrointestinal (COSTA et al., 2018). Essa resistência é ocasionada pela utilização indiscriminada de medicamentos químicos, associada a práticas inadequadas de manejo sanitário (HUPP et al., 2018).

O emprego da fitoterapia no controle das verminoses em animais domésticos tornou-se alternativa viável que poderá reduzir o uso de anti-helmínticos alopáticos, prolongando a vida útil dos produtos químicos disponíveis. Algumas vantagens sobre o uso de fitoterápicos podem ser citadas como redução na poluição ambiental pela diminuição no descarte de embalagens e resíduos (STUCKI et al., 2018). Principalmente em razão do aspecto econômico, disponibilidade, baixa toxicidade e custos reduzidos (LIMA et al., 2017).

O desenvolvimento de bioproduto para controlar os parasitos gastrointestinais em pequenos ruminantes com plantas do bioma Caatinga foi descrito por Silva et al (2018), quando comprovaram que o tratamento de preparações proteicas com folhas de *Cassia fistula* foi capaz de impedir o desenvolvimento larval em 69%. Marroquín-Tun et al. (2018) obtiveram extratos etanólico e hidroalcolico de sementes de *Carica papaya* com inibição de 90% e 50% respectivamente em ovos de *Haemonchus contortus* em teste *in vitro*. Por sua vez, estudos conduzidos por Medeiros et al., (2018), ao avaliar o efeito antiparasitário de lectina solúvel em água obtida de *Moringa oleífera* sob a eclosão de ovos e no desenvolvimento do estágio inicial de parasitas gastrointestinais de cabras, obtiveram 44,4% de inibição da eclosão dos ovos e 55,8% desenvolvimento larval.

Como planta oriunda deste bioma destaca-se a espécie *Ziziphus joazeiro* Mart por apresentar atividades farmacológicas comprovada com ação antimicrobiana (XAVIER et al., 2018), despertando interesse para pesquisas com aplicações biotecnológicas. Ademais, apresenta-se em grande quantidade no bioma Caatinga encontrado no Brasil, sendo largamente distribuída por toda a região do Nordeste brasileiro, com abundante crescimento no Sertão (NASCIMENTO et al., 2016). Na medicina popular, apresenta ações

antibacterianas e antifúngicas (DANTAS et al., 2014), ampliando interesse no desenvolvimento de formulações farmacológicas de *Z. joazeiro* (BRITO et al., 2015) fato que permite experimentos com infecções parasitárias gastrintestinais (BASTOS et al., 2018).

O objetivo deste estudo foi realizar a análise fitoquímica do extrato salino obtido a partir das folhas de *Z. joazeiro*, avaliar sua atividade ovicida contra parasitos gastrintestinais de caprinos *in vitro* e toxicidade.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 CAPRINOCULTURA

A criação de pequenos ruminantes configura uma importante atividade pecuarista nas diferentes localidades do mundo, onde a criação consiste uma atividade de grande importância para desenvolvimento socioeconômico (PERIASAMY et al., 2017). No Brasil, a caprinocultura está presente em todas as regiões brasileiras. É considerada uma das formas de criação animal mais antiga do país (FARIAS et al., 2018) apresenta um rebanho numeroso, que pode refletir aumento na produção de carne, leite e derivados (SOUSA et al., 2017).

Devido adaptação da espécie as condições edáficas, climáticas e botânicas da região Nordeste (VIEIRA et al., 2016). A caprinocultura se consolidou como atividade rentável, (LEAL et al., 2018). Tal atividade demonstra-se como uma excelente alternativa de trabalho e renda, dada a sua produção de alimentos de alto valor biológico (AQUINO et al., 2016).

A região Nordeste brasileira destaca-se por concentrar 93,25% de todo o rebanho nacional (IBGE, 2017), a caprinocultura representa uma forma alternativa na promoção de emprego e renda possibilitando o desenvolvimento regional (FARIAS et al., 2014). A caprinocultura, contribui com ofertas de alimentos de elevados valores nutricionais e insumo para indústria, atendendo ao consumo e a demanda do mercado (AQUINO et al., 2016).

O sistema predominante de criação praticado no Nordeste é o extensivo (GAMARRA-ROJAS et al., 2017), considerado um modelo tradicional de manejo, no qual os rebanhos se constituem de animais sem raça definida ou por raças nativas (BORGES; ROCHA, 2017). Assim à utilização de práticas rudimentares de manejo, assistência técnica deficitária, baixo nível de organização, e elevado parasitismo nos caprinos (BATISTA et al., 2014), têm ocasionado perdas econômicas aos produtores rurais (MELO et al., 2013). As parasitoses promovem prejuízos no desempenho animal, ocasionado por perda de peso, redução na digestão e absorção de nutrientes (BATISTA et al., 2017), crescimento retardado, redução da fertilidade as vezes ocasionando o óbito (CHIKWETO et al., 2018).

2.2 PRINCIPAIS ENDOPARASITOS GASTROINTESTINAIS DE CAPRINOS

Os principais parasitos que infectam os rebanhos caprinos são *Haemonchus* sp, *Trichostrongylus* sp, *Strongyloides* sp, *Cooperia* sp, *Bunostomum* sp, *Trichuris* sp, *Skrjabinema* sp e *Oseophagostomum* sp (TRESIA et al., 2016). Dentre os quais se destaca *H.*

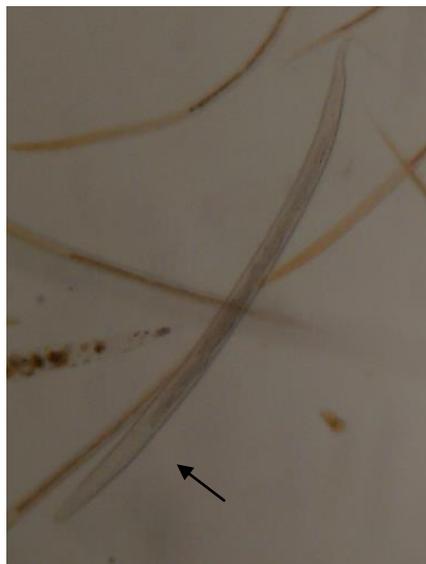
contortus, principal responsável por perdas produtivas nos pequenos ruminantes (WESTERS et al., 2016). Considerado o parasito mais frequente do semiárido, *H. contortus*, é o principal descrito como responsável pela ocorrência de surtos de parasitoses gastrintestinais (KLONGSIRIWET et al., 2015).

O ciclo de vida dos parasitos gastrintestinais se caracteriza por ser direto, com dois períodos distintos. No primeiro, o desenvolvimento ocorre no hospedeiro, sendo esta a fase parasitária, e o segundo no meio ambiente, denominada fase de vida livre (SILVA, 2014). Quando os ovos são eliminados nas fezes, e encontram condições favoráveis, se desenvolvem até atingirem o terceiro estágio. Conhecido com o estágio infectante ou L3 (MINHO, 2014).

2.2.1 *Trichostrongylus colubriformis*

Trichostrongylus colubriformis alimenta-se a partir das vilosidades que revestem o intestino delgado do hospedeiro, causando inflamação e prejudicando a absorção de nutrientes gerando quadros anêmicos (DEVER et al., 2016). A infecção causada por este helminto ocorre por meio da L3 que penetra regiões entre as glândulas epiteliais da mucosa duodenal para completar seu ciclo evolutivo. A migração dos adultos para a região intestinal gera a ruptura da mucosa, com formação de edema, exsudação e hemorragia, diminuindo a superfície de absorção das vilosidades intestinais (ARROYO-LOPEZ et al., 2014). (Figura 1).

Figura 1 – Larva de terceiro estágio (fase infectante) de *Trichostrongylus colubriformis* obtido através de coprocultura de fezes de caprinos.

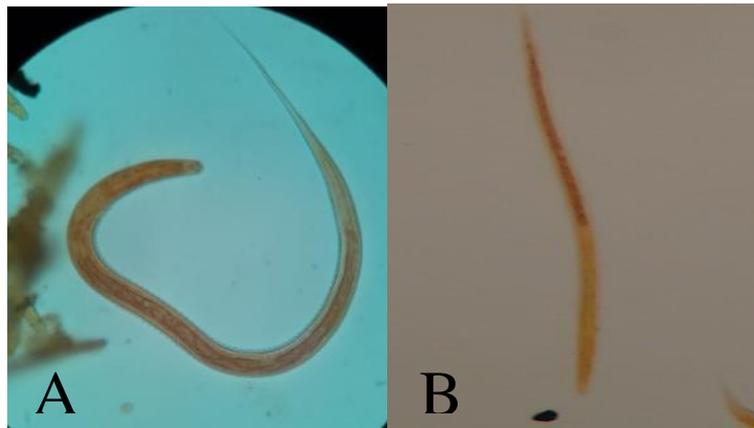


Fonte: Autorial própria

2.2.2 *Oesophagostomum* sp., *Strongyloides* sp.

Em pequenos ruminantes acometidos pelo parasitismo por *Oesophagostomum* sp, observa-se a presença de nódulos amarelos que se formam na mucosa do intestino grosso e delgado, podendo acarretar em quadros graves de diarreia (JIMÉNEZ-CASTELLS et al., 2017). Por sua vez, *Strongyloides* sp. são endoparasitos que acometem o intestino delgado e que em altos níveis de infecções causam enterite severa (RIBEIRO et al., 2017) (Figura 2).

Figura 2 – Parasitos gastrintestinais recuperados das fezes de caprinos: A - Exemplar de *Oesophagostomum* sp caracterizado por células intestinais pentagonais e cauda longa; B - Exemplar de *Strongyloides* sp com presença das extremidades afiladas e esôfago estreito.



Fonte: Autoria própria

2.2.3 *Haemonchus contortus*

H. contortus é um nematoide hematófago, localizando-se no abomaso de ruminantes, promovendo irritações e quadros graves de anemia (EMERY et al., 2016). O caráter patogênico de *H. contortus* deve-se à sua ação hematófaga. Em decorrência da sua lanceta bucal, age tanto sugando sangue como secretando substâncias anticoagulantes que impedem a formação de fibrina no local de alimentação, o que favorece o surgimento de lesões no abomaso (CHAN-PÉREZ et al., 2017). As lesões causadas na mucosa gástrica provocam quadros de inflamações, diminuição do fluxo de ácido clorídrico e pepsinogênio, com consequentes alterações no pH gástrico (SILVA, 2014).

Em virtude da patogenicidade elevada, existem métodos de controles e tratamento através de drogas químicas (GOOLSBY et al., 2017), sendo os produtos envolvidos pertencentes principalmente aos grupos dos benzimidazóis, imidazóis e avermectinas (COSTA et al., 2011) (Figura 3).

Figura 3 – Larva de terceiro estágio (forma infectante) *Haemonchus contortus*, com cauda da bainha terminada em filamento simples.



Fonte: Autoria própria

2.3 CONTROLE PARASITÁRIO

2.3.1 Controle por métodos químicos

Dentre os vários grupos de anti-helmínticos utilizados visando a sanidade animal, pode-se destacar os benzimidazóis (LANUSSE et al., 2009), imidatiázóis e as lactonas macrocíclicas (COELHO, 2010). Este último grupo contempla a abamectina, doramectina e ivermectina (RATH et al., 2016).

2.3.1.1 Benzimidazóis, imidatiázóis e avermectinas

Benzimidazol surgiu no mercado entre as décadas de 60 e 70 sendo o tiabendazol o primeiro a ser produzido seguido do desenvolvimento dos demais compostos desse grupo como albendazol, febendazol, mebendazol, oxfendazol, oxibendazol atuando especificamente nos processos de divisão celular parasitária (BORGES et al., 2015). Apresenta como mecanismo de ação o estabelecimento de ligação a tubulina, evitando a dimerização com α -tubulina, e conseqüentemente impossibilitando a polimerização dos microtúbulos (LIMA et al., 2010).

Outra maneira pela qual os benzimidazóis agem no controle dos parasitos gastrintestinais é por meio da inibição da enzima fumarato redutase, causando mudanças nos mecanismos energéticos do parasito (MELO et al., 2013). Por sua vez os imidotiazóis, tetramisol e levamisol, provocam uma paralisia espástica nos nematóides, e por meio dos movimentos peristálticos do hospedeiro, o parasita é eliminado do organismo do hospedeiro infectado. (SPRENGER et al., 2013).

As avermectinas são anti-helmínticos amplamente utilizados (BRUHN et al., 2012). Foram desenvolvidas na 70, e são obtidas através de uma combinação de componentes oriundos de processos fermentativos de *Streptomyces avermitilis*, gerando várias drogas, como a abamectina, doramectina e ivermectina (CEZAR et al., 2010).

Este grupo farmacológico foi adotado tanto em terapias da medicina humana quanto na veterinária para o tratamento antiparasitário, e também nas produções agrícolas devido as suas características inseticidas (LIMA et al., 2010). Quando usados em doses corretas, não provocam reações adversas, mas podem ocorrer alterações no sistema nervoso central, reações de hipersensibilidade, agitação, tremores e alterações respiratórias (BORGES et al., 2015).

Entretanto, a aplicação repetida de um único fármaco ou rotações de fármacos sem os devidos cuidados, podem se caracterizar como uso indiscriminado dos produtos químicos antiparasitários (HOLM et al., 2014) Assim ao longo dos anos, ocorreu o surgimento de alelos em nematóides resistentes a esses tratamentos, devido aos erros de manejo, aplicações de super ou subdosagens de anti-helmínticos, pelos produtores. (LEARMOUNT et al., 2018)

2.3.1.2 Resistência Parasitária

Atualmente a resistência encontra-se disseminada em vários países do mundo, se tornando um entrave na criação de pequenos ruminantes. Snyman e Fisher (2019), demonstraram a presença de *H. contortus* resistentes em rebanhos de olhevas sul-africanas. Antanásio-Nhacumbe et al (2019), comprovaram os níveis de resistência das populações *H. contortus* a benzimidazole, em pequenas propriedades rurais no sul de Moçambique, através de detecção molecular que o polimorfismo de nucleotídeos simples, SNP200Y como o mais significativo para o desenvolvimento de resistência na espécie. Em outro estudo, Babják et al (2018), demonstraram uma alta prevalência de parasitas resistentes a aplicações de benzimidazole em rebanhos caprinos de 30 fazendas da Eslováquia. Outro caso foi relatado por Hamer et al (2018), no qual, o composto monepantel perdeu 80% de sua eficácia em

populações de *Trichostrongylus vitrinus*, sendo este, o primeiro relato de resistência a esse composto no Reino Unido.

No Brasil, os primeiros relatos da resistência anti-helmíntica foram na década no Rio Grande do Sul em 1979 (SANTIAGO; COSTA, 1979) e na região Nordeste do Brasil (VIEIRA; CAVALCANTE, 1999; PEREIRA et al., 2008). Posteriormente foram realizados relatos em várias regiões do país (MELO et al., 2003; ALMEIDA et al., 2010; VERISSIMO et al., 2012; SANTOS et al., 2014). Yoshihara et al., (2013) demonstraram a presença de resistência em propriedades do estado de Santa Catarina à ivermectina. Por sua vez, apontaram a ocorrência de genes que apresentaram resistência a esta droga química em *H. contortus* (MOLENTO et al., 2011). Melo et al (2013), relataram a presença de alelos resistente à ivermectina e cloridrato de levamisole em nematóides gastrintestinais.

Pereira et al (2013), observaram que nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes no município de Grossos, Rio Grande do Norte, apresentavam resistência a aplicação de Cloridrato de Levamisole a 10%, tendo como principal parasito resistente *Strongyloides* sp. Obteve, seguido por seguida por, *Oesophagostomun* sp., *Trichostrongylus* sp. e *Haemonchus* sp. Pesquisas realizada por Lima et al (2010), evidenciaram que os parasitos gastrintestinais de rebanhos caprinos da região do Cariri na Paraíba, não eram mais susceptíveis a ação de compostos ativos de albendazole, evamizole e levamisole, além de demonstrar que o gênero *Haemonchus*, foi o helminto menos sensível aos compostos avaliados. Dessa forma, a resistência parasitária torna-se uma grande preocupação entre os produtores, sendo cada vez mais necessária a busca para conhecer de forma mais profunda, a natureza desse fenômeno.

Na resistência os organismos de uma população são capazes de sobreviver após constante utilização de um composto químico (COELHO et al., 2017), e esta é transferida entre gerações, dentro de uma população específica (MACEDO et al., 2015). Desta forma, o mecanismo de instalação da resistência deve-se ao uso frequente e continuado de uma mesma base farmacológica destinada ao controle parasitário, utilização de medicamentos de longa meia vida e incorporação de animais contaminados no rebanho (NOVA et al., 2014). Tal circunstância deve-se ao caráter biológico, onde uma droga perde sua eficácia quando utilizada nas mesmas condições em um longo período (LOPES et al., 2014). Assim o mecanismo de resistência está diretamente ligado a ação dos medicamentos no animal (MOLENTO et al., 2013).

Utilização de compostos químicos capazes de eliminar grandes quantidades de parasitos dos hospedeiros promove a seleção química após a exposição constante a altas doses

dos medicamentos (ROBERTO et al., 2018). Erros de manejo com utilização de rotatividade de princípios ativos aumenta a possibilidade da resistência parasitária com alterações bioquímicas e mudanças no sistemas enzimáticos inviabilizando o medicamento (PEREIRA-JUNIOR et al., 2017).

Avaliando a problemática atribuída à resistência a uma determinada droga, tem-se o fato da mesma acontecer dentro de um prazo que contempla de cinco a oito gerações seguintes a aplicação do princípio ativo. Deste modo basta um intervalo de aproximadamente um ano para que se desenvolva a resistência em uma determinada região (MOLENTO et al., 2013).

A resistência anti-helmíntica pode ser atestada após períodos de constatação de baixa eficácia do fármaco (MOLENTO et al., 2013; NOVA et al., 2014), ou pesquisada por diferentes metodologias como ensaios *in vivo*. Porém estudos *in vitro* vem se tornando mais utilizados em razão da sua praticidade, ausência direta de experimentos com animais, serem de fácil execução e poderem ser realizados em larga escala (CORDEIRO et al., 2010).

2.3.1.2.1 Testes *in vitro*

O desenvolvimento de metodologias capazes de detectar a resistência vem ampliando para um número variável de drogas. Apresentam vantagens por serem rápidos, econômicos e menos laboriosos quando comparados aos testes *in vivo* (FORTES et al., 2013). Outros aspectos vantajosos são a capacidade de evitar a interferência do hospedeiro pela alteração na farmacodinâmica (CHAGAS et al., 2011).

Dentre esses, o teste de eclodibilidade de ovos (TEO), avalia a capacidade de determinadas substâncias de impedir a eclosão larva (NERY et al., 2009). Ocorre a incubação dos ovos em soluções contendo anti-helmíntico e a avaliação do índice de eclodibilidade nas concentrações testadas, de modo que se possa construir uma curva de dose-resposta (FORTES; MOLENTO et al., 2013).

2.4 PRINCIPAIS MÉTODOS ALTERNATIVOS DE CONTROLE PARASITÁRIO

O controle parasitário deve ser abordado dentro de uma ótica que considere os diversos aspectos da produção animal. Além disso, são necessárias novas práticas de controle alternativo onde ocorra a redução do uso de compostos químicos sendo ótimas opções para

barrar a resistência parasitária e conseqüentemente, recuperar a produção animal (NEVES et al., 2012).

Dentre os métodos empregados como forma de controlar o avanço da resistência parasitária, podem ser listados: O uso de controle biológico a partir da aplicação de fungos nematófagos, homeopatia populacional e fitoterapia (MOLENTO et al., 2013).

2.4.1 Fungos nematófagos

Em cada habitat, os nematódeos sofrem influência de uma série de fatores que poderão ser favoráveis ou desfavoráveis a sua população (SILVA, 2014). Tais influências podem agir como inibidores de nematódeos. Por exemplo, fungos nematófagos reduzem populações de larvas infectantes no ambiente (SERRA et al., 2017).

Esses fungos apresentam a capacidade de infectar e se alimentar de nematoides. De acordo com sua maneira de agir, são ordenados em três grupos diferentes. Ovicida, os endoparasitos, que atuam em larvas e adultos, e os predadores, que agem pela formação de estruturas ao longo da hifa especializadas em capturar dos nematóides (SOARES et al., 2018).

Sulfiate et al (2018), comprovaram a ação nematicida de metabólitos oriundos do fungo da espécie *Pleurotus eryngii*, com redução de 53% da viabilidade de ovos de *Meloidogyne javanica*, e predatória sob larvas de *Panagrellus* sp. Por se tratarem de inimigos naturais dos nematóides, estes fungos acabaram por desenvolver técnicas eficazes de infecção dos nematóides, o que torna possível sua utilização como controle (SILVEIRA et al., 2017)

2.4.2 Homeopatia

A homeopatia foi descrita pela primeira vez por Samuel Hahnemann, famoso médico alemão do século XIX, sendo inicialmente considerada uma ciência alternativa para tratamento de algumas enfermidades que acometia seres humanos (LIMA et al., 2012). A homeopatia baseia-se na crença do princípio da cura por similitude, em que se faz a adoção de tratamentos com substâncias capazes de produzir em indivíduos sadios, a mesma sintomatologia causada em indivíduos doentes (FILHO et al., 2014). Vita et al (2015), demonstraram uma redução de 60,33% na contagem de oocistos de *Eimerias* em fezes de

Coturnix japonica como forma de sanar os problemas da criação e desenvolvimento de aves domésticas.

2.4.3 Fitoterapia

As plantas são organismos capazes de sintetizar uma grande variedade de compostos metabólicos, que são empregados em funções básicas para seu desenvolvimento e podem fornecer características específicas que permitem a adaptação aos variados ambientes (RAI et al., 2017).

A utilização de plantas com caráter terapêutico, faz parte da história da humanidade (MONTES et al., 2017). Relatos de aproximadamente sessenta mil anos atrás, já evidenciaram que o homem buscando nesses organismos, o tratamento de suas doenças (FARIA et al., 2017). O Brasil destaca-se mundialmente por sua vasta fauna e flora, cheia de riquezas e recursos naturais, que podem favorecer o desenvolvimento de estudos etnofarmacológicos com plantas medicinais e suas aplicações (BORGES; PAULISTA, 2010).

Para legislação brasileira os fitoterápicos são compostos de origem vegetal, cuja eficácia esteja assegurada através de provas clínicas, ou em dados publicados em material técnico-científico (CACCIA-BAVA et al., 2017). Dessa forma, pesquisas com produção de novas drogas fitoterápicas, representam uma promissora alternativa terapêutica as enfermidades (KAMBLE; GACHE, 2019).

O tratamento é baseado na constituição das drogas, formadas a partir de compostos vegetais químicos complexos que apresentem ações bioativas (ZANG et al., 2018). O interesse na aplicação desses compostos para o bem estar animal é cada vez mais evidente (STUCKI et al., 2018), por apresentarem financeiramente mais atrativos, bons níveis de biocompatibilidade nos organismos (PINTO et al., 2013)

As ações farmacológicas de interesse fitoterapêutico, são derivadas das substâncias bioativas provenientes das reações metabólicas secundárias realizadas por organismos naturais (CUNHA et al., 2016). Desta forma, complexidade dos organismos vegetais exigem técnicas de extração para obtenção dos compostos cada vez mais eficientes e diretamente relacionadas a qualidade e efeitos satisfatórios das drogas vegetais (CARDOSO et al., 2017). O uso da técnica de extração adequada garante a manutenção das propriedades biológicas, atribuídas aos compostos como atividades anti-inflamatórias, antioxidantes (ONDUA, et al.,

2018), imunomoduladoras, biocidas, antimicrobianas e antiparasitárias (ANCIA; ROMÃO, 2016).

As plantas medicinais, extratos, frações ou biomoléculas isoladas, tem apresentado apresentam efeito antiparasitário (SANTOS-LIMA et al., 2016). Espécies vegetais foram descritas por sua ação antiparasitária e utilização na alimentação dos caprinos como *Turneria ulmifolia* L., sementes de *Parkia platy-cephala* Benth. e casca de *Dimorphandra gardneriana* Tul. com eficácia testada através de ensaios *in vitro* de extratos de acetato dessas espécies (OLIVEIRA et al., 2017). Estudos realizados por Jiao et al (2018), comprovaram os efeitos das folhas de *A. annua* na inibição do desenvolvimento de oocistos de *Eimeria*, quando usadas na alimentação.

O gênero *Ziziphus* despertou interesse no desenvolvimento de fitoterápicos com atividade antiparasitária. Extrato metanólico bruto da casca de *Ziziphus numulária* inibiu 84,7% do desenvolvimento dos ovos de parasitos gastrintestinais de caprinos (BACHAYA et al., 2009) tornando-se de interesse para pesquisas mais aprofundadas na parasitologia.

2.4.3.1 *Ziziphus joazeiro* Mart.

A espécie *Ziziphus joazeiro* Mart. é uma planta endêmica da região semiárida do Nordeste brasileiro, com compostos bioativos de interesse para pesquisas no controle ao parasitismo em pequenos ruminantes (GOMES et al., 2016). Conhecido popularmente como juazeiro, é uma espécie típica brasileira encontrada em toda a região nordeste do país, de grande importância por fornecer recursos como água e alimento as espécies animais que habitam as regiões mais áridas (BORIOLLO et al., 2014). É descrita como pertencente a família Rhamnaceae, possuir um porte médio, folhagem cheia, verde e perene por todo ano (SOUSA et al., 2015) (Figura 4).

Figura 4 – Árvore de *Ziziphus joazeiro* Mart em estado adulto, médio porte, copa abundante e perene



Fonte: Autorial própria

Possui folhas simples, pecioladas e trinérveas, e suas flores caracterizadas por inflorescências cimosas (NASCIMENTO et al., 2016). Os frutos desta espécie são ricos em ácido ascórbico, podendo ser consumido *in natura* ou após beneficiamento, e geração de produtos alimentícios como geleias e doces (SILVA et al., 2016) (Figura 5).

Figura 5 – Inflorescência e folhas de *Ziziphus joazeiro* Mart. com detalhe para flores de coloração branco-amarelado e folha apresentando três nervuras bem definidas e não ramificadas.



Fonte: Autorial própria

Z. joazeiro apresenta grande importância econômica, por ser fonte de madeira utilizada para a produção de carvão e lenha na indústria civil, (DIÓGENES et al., 2010). Como cosmético é utilizada na produção de cosméticos, xampus e produtos de higiene bucal, como cremes dentais (SOUSA et al., 2014).

Z. joazeiro tem valor em localidades rurais, pois é empregada na medicina popular. Suas cascas, folhas e raízes, geram medicamentos capazes de tratar sintomas como febre, dor, doenças bacterianas, complicações respiratórias, infecções de gengiva, danos no fígado e coração, pela ação de seus grupos metabólicos e despertam o interesse para pesquisas etnofarmacológicas (BRITO et al., 2015).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL:

- Avaliar a composição, toxicidade e atividade ovicida, do extrato salino das folhas de *Ziziphus joazeiro* Mart. sobre nematódeos gastrointestinais de caprinos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Avaliar *in vitro* sobre nematódeos gastrintestinais de caprinos a atividade a atividade ovicida do extrato salino de *Z. joazeiro* Mart.;
- Definir a composição fitoquímica do extrato salino de *Z. joazeiro* Mart.;
- Avaliar toxicidade aguda do extrato salino de *Z. joazeiro* Mart. sobre a náuplios de *Artemia salina*.

CAPÍTULO 1

**ATIVIDADE OVICIDA *in vitro* DO EXTRATO SALINO DAS FOLHAS DO *Ziziphus*
joazeiro MART. EM NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS DE CAPRINOS**
(Veterinary Parasitology, Qualis A2 - Ciências Ambientais)

ATIVIDADE OVICIDA *in vitro* DO EXTRATO SALINO DAS FOLHAS DO *Ziziphus joazeiro* MART. EM NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS DE CAPRINOS

RESUMO

A caprinocultura apresenta-se como uma prática pecuária de grande importância econômica. Entretanto, o parasitismo por nematóides gastrintestinais ocasiona grandes perdas na produção, associadas ao desenvolvimento da resistência química parasitária que tem se agravado ao longo dos anos. A busca por métodos alternativos que possam controlar essa resistência é de grande importância para a atividade produtiva. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antiparasitária de extrato salino das folhas de *Ziziphus joazeiro* Mart. e toxicidade aguda frente a náuplios de *Artemia salina*. Folhas de *Z. joazeiro* foram coletadas, secas em temperatura ambiente e processadas para preparo do extrato salino e análise fitoquímica. Para os ensaios *in vitro* foram coletadas amostras fecais em caprinos naturalmente infectados, na qual os ovos foram recuperados e processados para realização do teste de eclosão de ovos. Como resultados foi identificado os componentes fitoquímico: saponinas, taninos, flavanoides e alcaloides. O extrato da folha de *Z. joazeiro* apresentou resultados favoráveis nas concentrações 20,288mg/ml, 10,144mg/ml e 5,072mg/ml com inibição de 99,53%, 75,28% e 67,66% respectivamente. A toxicidade frente a *Artemia salina* do extrato de *Z. joazeiro* apresentou um CL50 de 5,197%. O extrato demonstrou potencial para uso em tratamentos antiparasitários *in vitro*.

Palavras Chaves: Caprinocultura, Parasitos, Fitoterápicos.

1. Introdução

A criação caprina desempenha um importante papel no desenvolvimento socioeconômico nos mais diferentes lugares do mundo (DASKIRAN et al., 2018). Esta cultura atingiu um crescimento mundial de aproximadamente 1 bilhão de indivíduos em sua população (AMILLS et al., 2017). A criação de cabras possui destaque pelas suas funções associadas à produção de leite, carne e derivados, além de desempenhar um grande papel social para as famílias que residem em propriedades rurais (MHLANGA et al., 2018). Mesmo com o crescimento e importância da caprinocultura, ainda existem dificuldades para o desenvolvimento de seus sistemas de produção (RODRIGUES et al., 2016).

A parasitose gastrointestinal é uma das causas de perdas econômicas significativas, problemas de saúde e desempenho animal (FTHENAKIS; PAPADOPOULOS, 2018), devido à perda de peso, redução na produção e crescimento retardado dos rebanhos (TRESIA et al., 2016). Sendo as condições sanitárias em associação aos fatores climáticos e ambientais um dos principais responsáveis pela infecção por endoparasitos gastrointestinais (FERREIRA et al., 2017). Uma das formas mais empregadas ao controle dos parasitos gastrointestinais se dá pela aplicação de anti-helmínticos (AGUERRE et al., 2018). No entanto, observou-se que o uso de tais compostos, muitas vezes de forma inadequada, favoreceu a resistência parasitária (MANIKKAVASAGAN et al., 2015).

Neste contexto, a fitoterapia se apresenta como uma estratégia promissora na busca por novas moléculas que podem ser utilizadas para o tratamento de infecções parasitárias, tendo em vista os metabólitos secundários com ação antiparasitária (JAMOUS et al., 2017). Esses bioativos podem interagir com os parasitos em suas diferentes fases de desenvolvimento, atuando desde os ovos, até as larvas infectantes, promovendo o controle da população (ANDRÉ et al., 2018).

Dentre as espécies de plantas com potencial fitoterápico, destaca-se *Ziziphus joazeiro* Mart., conhecida popularmente como juazeiro. Espécie endêmica do Bioma Caatinga, empregada na alimentação de animais, produção de lenha (GOMES et al., 2016) e com atividades biológicas já conhecidas pela população, como ações antibacterianas e antifúngicas (DANTAS et al., 2014). O interesse de estudos farmacológicos sobre essa espécie tornou-se crescente (BRITO et al., 2015), possibilitando o desenvolvimento de tratamento alternativos aos produtos químicos oriundos de fontes naturais (BASTOS et al., 2018). O objetivo deste estudo foi (i) realizar a análise fitoquímica do extrato salino obtido a partir das folhas de *Z. joazeiro*, (ii) avaliar sua atividade ovicida contra parasitas gastrintestinais de caprinos e (iii) toxicidade aguda frente a náuplios de *Artemia salina*.

2. Material e métodos

2.1. Obtenção do extrato salino e análise fitoquímica

As folhas de *Z. joazeiro* foram coletadas no interior da cidade de Mossoró, Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil, coordenadas de latitude de 5°11'15", coordenadas longitudinais 37°20'39", a uma altitude de 16m em um clima predominantemente semiárido, a temperatura média é de 27,4 °C região endêmica da planta, com identificação realizada pelo Herbário Dárdano de Andrade Lima, da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, com exsicata tombada no registro MOSS14879.

Para obtenção do extrato bruto, as folhas foram lavadas, submetidas a secagem natural, e em seguida trituradas para obtenção do pó. O pó foi submetido à extração em solução de NaCl 0,15M, na proporção de 1:10, e após isto foi submetido a centrifugação (8.000 g por 20 min a 4 °C) (NELSON: COX, 2014) e posteriormente liofilização (SUBLIMATE 5) durante 24 horas. Ao final, realizou-se a pesagem do pó obtido para

determinar as concentrações de 20,288 mg/ml, 10,144mg/ml, 5,072mg/ml e 2,536mg/ml a serem testadas. Denominadas de tratamento 1, 2, 3 e 4 (T1, T2, T3 e T4), respectivamente.

A análise da composição química do extrato foi realizada seguindo a metodologia de Matos (2008) na qual os constituintes foram categorizados por classes metabólicas, através da submissão do pó obtido das folhas de *Z. joazeiro* à tratamento térmico com diferentes reagentes químicos específicos. A observação de reações de precipitação, colorimétricas e de fluorescência serviu para a identificação da presença dos metabólitos secundários.

2.2. Recuperação dos ovos e teste de eclosão

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (número 23091.009318 / 2016-40). Todos os experimentos foram realizados pelos procedimentos recomendados pela Comissão de Ética no Uso de Animais. (CEUA).

Amostras fecais foram coletadas diretamente da ampola retal dos caprinos, e a contagem de ovos por grama de fezes (OPG) foi realizada mediante amostra de 4 g de fezes (GORDON: WHITLOCK, 1939; CHAGAS et al, 2011). A recuperação dos ovos foi realizada de acordo com a metodologia de Hubert e Kerboeuf (1992). As fezes passaram por uma sequência de peneiras contendo aberturas de 0,15, 0,10, 0,036 e 0,02 mm, para retenção dos ovos. Após isto, o líquido recuperado foi submetido a uma centrifugação por 5 minutos a 4.000rpm, em seguida o sobrenadante foi desprezado e o pellet homogeneizado com solução hipersaturada de NaCl, sendo encaminhada a uma nova centrifugação por 5 minutos a 4.000rpm. Ao final desta etapa, o sobrenadante foi posto em peneira com abertura de 0,02mm e lavado com água destilada para remoção do excesso de solução hipersaturada.

O teste de eclosão de ovos (TEO) foi realizado como descrito por Coles et al. (2006), na qual se utilizou 100 ovos/poço em placas de 24 poços incubados com os controles e

tratamentos. Foi utilizada uma placa para os controles: negativo (contendo os ovos em solução de NaCl a 0,15 M) e positivo (contendo os ovos e tiiabendazol 32 µl/ml) e outra contendo os ovos e extrato salino nas concentrações correspondentes aos tratamentos T1, T2, T3 e T4. Todos os ensaios foram realizados independentemente em cinco repetições. As placas foram incubadas a 27 °C por 24 h. Após este período, foi adicionada solução de lugol aos poços e realizada a contagem dos ovos e das larvas no estágio 1 de desenvolvimento (L1). A percentagem de inibição da eclosão dos ovos foi determinada de acordo com a fórmula:

$$\text{Percentual de inibição da eclosão dos ovos} = \frac{\text{Ovos não eclodidos} \times 100}{\text{Ovos não eclodidos} + \text{L1}}$$

2.3. Teste de toxicidade

A avaliação da toxicidade do extrato salino de *Z. joazeiro* foi realizada seguindo o protocolo de Rodriguez et al., (2012). A eclosão dos ovos de *Artemia salina* foi realizada em uma solução de cultivo contendo 18 g de NaCl e 5 g de NaHCO₃, sob iluminação e aeração constante, incubadas por 48 horas. Dez nauplios eclodidos foram separados e transferidos para placas de 24 poços contendo 100 µl de solução de cultivo de *Artemia salina* e 400 µl das concentrações referentes aos tratamentos T1, T2, T3 e T4 do extrato salino de *Z. joazeiro*, por poço. O bioensaio foi realizado em triplicata.

2.4. Análise estatística

Os dados obtidos no estudo foram tabulados e normalizados em planilha eletrônica, e em seguida, submetidos ao teste paramétrico de Tukey ($p > 0,05$) para verificar a diferença entre os grupos analisados. A concentração efetiva capaz de inibir 50% (CE50) da eclosão dos ovos dos parasitas gastrintestinais, e a concentração letal de 50% (CL50) no ensaio toxicológico

com *A. salina* foram calculadas através de regressão não linear utilizando o programa GraphPad Prism 6.0. O logaritmo para igualar a distância existente entre os quatro pontos correspondentes às doses testadas foi utilizado.

3. Resultados

3.1. Análises fitoquímicas

Para o extrato salino das folhas de *Z. joazeiro*, foi obtido a presença de alcaloides, fenóis, flavonoides, núcleos esteroidais, núcleos triterpênicos, taninos (condensados e hidrossolúveis) e saponinas (Tabela 1).

3.2. Atividade ovicida

As concentrações testadas foram capazes de inibir o desenvolvimento dos ovos dos parasitos gastrintestinais de forma dose-dependente. A concentração de 20,28 mg/ml inibiu a eclosão dos ovos em 99,53% quando comparado ao controle negativo, não demonstrando diferença estatística do controle positivo tratado com tiabendazol (96,51% de inibição). As concentrações 10,14 mg/ml, 5,07 mg/ml e 2,53 mg/ml inibiram em 75,28%, 67,66% e 15,07% respectivamente. Porém, a concentração 2,53mg/ml não demonstrou diferença significativa do controle negativo com NaCl (Figura 1). A concentração efetiva capaz de inibir 50% (CE50) da eclosão dos ovos foi estabelecida em 2,17 mg/ml.

3.3. Atividade toxicológica

Os resultados do ensaio de toxicidade sobre *A. salina* estão demonstrados na Figura 2. O extrato de *Z. joazeiro* apresentou um CL50 de 10.14 mg/ml $R^2 = 0.91$, que é superior ao EC50 de 4,40 mg/ml estabelecido no estudo para inibir 50% da eclosão dos ovos.

4. Discussão

A análise fitoquímica do extrato estudado confirmou que o processo de extração utilizado não prejudicou a obtenção final dos metabólitos secundários presentes nas folhas de *Z. joazeiro*. Uma vez que, os metabólitos identificados no estudo, como alcaloides, fenóis, flavanóides, saponina e taninos, estão de encontro com os componentes anteriormente descritos com extratos de folhas do gênero *Zizyphus* (GUPTA; SING, 2013; GOYAL; SASMAL, 2014).

Quanto ao efeito ovicida do extrato estudado pode ser explicado pela ação dos metabólitos secundários citados. A atividade ovicida das saponinas pode ser atribuída a sua capacidade de ligação permanente na membrana do parasito, ocasionando uma permeabilidade na membrana celular (DOLIGALSKA, et al., 2017), provocando o processo de formação de vacúolos citoplasmáticos (POOLPERM; JIRAUNGKOORSKUL, 2017) e impedindo assim a continuação do desenvolvimento parasitário (GOMES et al., 2016). A atividade ovicida das saponinas foi descrita em frações de saponinas obtidas da casca *Z. joazeiro* com efeito de inibição de 100% (GOMES et al., 2016).

Quanto aos taninos infere-se que seu mecanismo de ação provavelmente esteja relacionado à sua capacidade interativa com proteínas livres, agindo sobre a cutícula do parasito e levando-o a morte (CALA et al., 2012). Trabalhos com testes *in vitro*, demonstraram a eficácia de frações contendo taninos, nas quais verificaram a interrupção do desenvolvimento de nematóides gastrointestinais (GIN) em diferentes estágios de desenvolvimento (HOSTE et al., 2006).

Brunnet e colaboradores (2008), ao avaliarem o efeito antiparasitário do extrato de *Onobrychis viciifolia* rico em taninos, encontraram efeito antiparasitário de 76,93% contra ovos de GIN. Assim, sugere-se que plantas ricas em taninos poderia atuar no controle

antiparasitário por meio da nutrição dos animais, tendo como base alimentar o uso de forragens para pequenos ruminantes (ALONSO-DÍAZ et al., 2012).

Os flavanóides possuem ação relacionada à sua capacidade de interagir com enzimas, provocando mudanças nas mesmas e modificando processos metabólicos essenciais (BOTURA et al., 2013). Os alcaloides por sua vez, são descritos como metabólitos alcalinos sintetizados pelos organismos vegetais, com amplo espectro de ação biológica, entre eles, efeito antimicrobiano (BRAQUEHAIS et al., 2016). Através de sua atividade anti-inflamatória e antioxidante (CARNEVALLI; ARAÚJO, 2013).

Compostos alcaloides, demonstraram possuir efeito ovicida em estudos realizados com os extratos metanólicos, acetato de etila e clorofórmico de *Annona squamosa* e *Chenopodium* em que foram capazes de inibir em 100% a eclosão de ovos (SANCHA et al., 2013). Além disso, se pode prospectar sobre as possíveis interações dos demais compostos identificados no extrato do presente estudo com possível capacidade de interação com estruturas dos parasitos, possibilitando assim a interrupção do desenvolvimento parasitário.

Trabalhos desenvolvidos por Bachaya et al (2009), mostraram um efeito similar de ação anti-helmíntica de extrato metanólico bruto obtido da casca de *Ziziphus numulária*, promovendo uma inibição de ovos de 84,7%. Corroborando com os resultados do estudo, apresentando o Gênero *Ziziphus*, como planta medicinal para tratamento das parasitoses gastrintestinais de caprinos.

No entanto, a concentração determinada como CE50 (2,17 mg/ml) que o extrato salino de *Z. joazeiro* poderia ser usado contra os GIN em doses inferiores, mas por um período de tempo superior, em um regime de tratamento mais longo.

Atualmente, a utilização de organismos bioindicadores e/ou bioensaios na verificação da atividade biológica de extratos naturais, como forma complementar as análises fitoquímicas, é algo crescente e com bons índices de aceitação na comunidade científica (CANSIAN et al., 2015). Além de ser considerado um ensaio bastante útil para verificação de toxicidade de compostos bioativos, ainda possui simplicidade em sua execução, o que torna sua aplicação mais viável (KRISHNARAJU et al., 2005). Entretanto, por mais que modelos de ensaios agudos de toxicidade *in vitro* sejam aceitos, avaliações crônicas de toxicidade *in vitro* e *in vivo* são necessárias para definir a confiança dos resultados.

No contexto toxicológico do presente estudo, muito embora a concentração mais efetiva do extrato de *Z. juazeiro* no ensaio *in vitro* contra os ovos de GIN tenha apresentado toxicidade frente à *A. salina*, o mesmo necessita passar por testes complementares, uma vez que a composição de um extrato é complexa e que os compostos responsáveis pela toxicidade sobre *A. salina* não necessariamente são responsáveis pela ação antiparasitária contra os helmintos. Os resultados obtidos neste estudo indicam a possibilidade de uma associação promissora entre o uso da fitoterapia para o controle parasitário.

5. Conclusão

O extrato salino bruto de *Ziziphus joazeiro* Mart. apresentou em sua composição substâncias tais como alcaloides, fenóis, flavonoides, saponina, taninos condensados e taninos hidrossolúveis, estas consideradas bioativas. O extrato demonstrou potencial atividade inibitória nas concentrações de 20,28mg/ml, 10,14mg/ml e 5,07mg/ml sob ovos de parasitos gastrintestinais de caprinos. Uma vez que o teste toxicológico realizado em *Artemia salina* apontaram que as concentrações de 10,14mg/ml e 5,07mg/ml não apresentaram toxicidade, estas poderiam vir a compor esquemas de tratamento contra esse tipo de parasitismo.

Tabela 1. Identificação das classes de metabólitos secundários obtidos do extrato salino das folhas de *Ziziphus joazeiro* Mart.

Classe de metabólitos secundários	Método de identificação	Resultado
	Dragendorff	+
Alcaloides	Mayer	+
	Bertand	+
Antraquinonas	Borträger	-
Cumarinas	Teste de Fluorescência	-
Fenóis	Reação de cloreto Férrico	+
Flavanoides	Reação de Cianidina ou Shinoda	+
Núcleos esteroidais	Liebermann-Burchard	+
Núcleos triterpênicos	Salkoswsky	+
Saponina	Agitação vigorosa	+
Taninos Condensados	Stiasny	+
Taninos Hidrossolúveis	Stiasny	+
Taninos livres	Precipitação por gelatina	-

Legenda: + presença de composto após reação; - ausência do composto após reação.

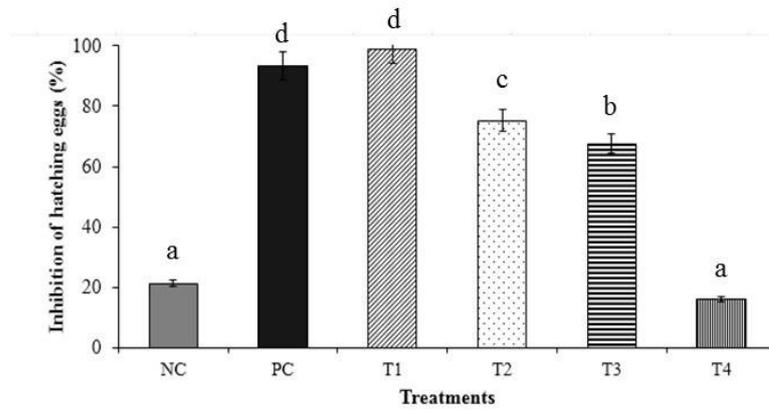


Gráfico 1. Percentual de inibição da eclosão de ovos de nematóides gastrintestinais tratados com extrato de *Ziziphus joazeiro*. NC = controle negativo com NaCl; PC = controle positivo com tiabendazol; T1 = 20,28 mg / ml; T2 = 10,14 mg / ml; T3 = 5,07 mg / ml; T4 = 2,53 mg / ml. a, b, c, d Letras diferentes indicam diferença significativa ($P > 0,05$)

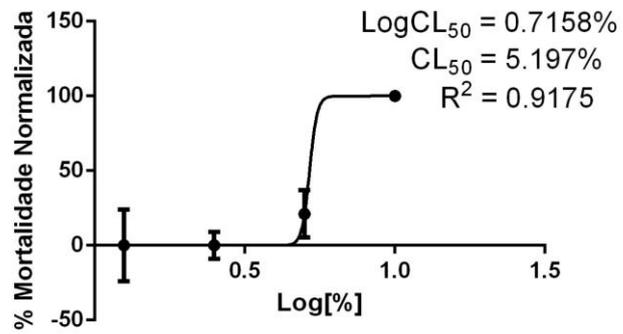


Gráfico 2. Efeito toxicológico de quatro concentrações de extrato salino de *Z. juazeiro* Mart. sobre *A. salina*.

REFERÊNCIAS

- AGUERRE, S. JACQUIET, P.; BRODIER, H.; BOURNAZEL, J. P.; GRISEZ, C.; PRÉVOT, F.; MICHOT, L.; FIDELLE, F.; ASTRUC, J. M.; MORENO, C. R. Resistance to gastrointestinal nematodes in dairy sheep : Genetic variability and relevance of artificial infection of nucleus rams to select for resistant ewes on farms. **Veterinary Parasitology**, v. 256, p. 16–23, 2018.
- ALONSO-DÍAZ, M. A.; TORRES-COSTA, J. F. J.; SANDOVAL-CASTRO, C. A.; CAPETILLO-LEAL, C. M.; Amino acid profile of the protein from whole saliva of goats and sheep and its interaction with tannic acid and tannis extracted from the fodder of tropical plants. **Small Ruminant Research**, v. 103, p. 69-74, 2012.
- AMILLS, M.; CAPOTE, J.; TOSSER-KLOPP, G. Goat domestication and breeding: a jigsaw of historical, biological and molecular data with missing pieces. **Stichting International Foundation for Animal Genetics**, n. 48, p. 631–644, 2017.
- ANDRÉ, W. P. P.; RIBEIRO, W. L. C.; OLIVEIRA, L. M. B.; MACEDO, I. T. F.; RONDON, F. C. M.; BEVILAQUA, C. M. L. Óleos essenciais e seus compostos bioativos no controle de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 46, 2018.
- BACHAYA, H.; IQBAL, Z.; KHAN, .et al. Anthelmintic activity of *ziziphus nummularia* (bark) and *acacia nilotica* (fruit) against *trichostrongylid nematodes* of sheep **Journal of Ethnopharmacology**, v.123, n. 2, p. 325-329, 2009.
- BASTOS, J. A. R.; PINTO, R.; FAUSTO, G. C.; PONTES, K. C. S.; NONATO, I. A.; CARVALHO, C. A.; Tratamento antiparasitário em bovinos com ervas de macaé (*Leonurus sibiricus*) e pau jacaré (*Piptadenia gonoacatha*) – Uma alternativa terapêutica. **Revista UniScientiae**, v.1, n.2, p.74-84, 2018.
- BOTURA, M. B.; SANTOS, J. D. G.; SILVA, G. D.; LIMA, H. G.; OLIVEIRA, J. V. A.; ALMEIDA, M. A. O.; BATATINHA, M. J. M. *In Vitro* ovicidal and larvicidal activity of *Agave sisalana* Perr. (sisal) on gastrointestinal nematodes of goats. **Veterinary Parasitology**, v.192, p.211-217, 2013.
- BRAQUEHAIS, I. D.; VASCONCELOS, F. R.; RIBEIRO, A. R. C.; DA SILVA, A. R. A.; FRANCA, M. G. A.; DE LIMA, D. R.; DE PAIVA, C. F.; GUEDES, M. I. F.; MAGALHÃES, F. E. A. Estudo preliminar toxicológico, antibacteriano e fitoquímico do extrato etanólico das folhas de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. (pinhão-bravo, Euphorbiaceae), coletada no Município de Tauá, Ceará, Nordeste Brasileiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.18, n.2, supl. I, p.582-587, 2016.
- BRITO, S. M. O.; COUTINHO, H. D. M.; TALVANI, A.; CORONEL, C.; BARBOSA, A. G. R.; VEGA, C.; FIGUEIREDO, F. G.; TINTINO, S. R.; LIMA, L. F.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; MENEZES, I. R. A. Analysis of bioactivities and chemical composition of *Ziziphus joazeiro* Mart . using HPLC – DAD. **Food Chemistry**, v. 186, p. 185–191, 2015.

- BRUNET, S.; JACKSON, F.; HOSTE, H. Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) extract and monomers of condensed tannin on the association of abomasal nematode larvae with fundic explants. **International Journal for Parasitology**, v.38, p.783-790, 2008.
- CALA, A. C.; CHAGAS, A. C. S.; OLIVEIRA, M. C. S.; MATOS, A. P.; BORGES, L. M. F.; SOUSA, L. A. D.; SOUZA, F. A.; OLIVEIRA, G. P. *In vitro* Anthelmintic effect of *Melia azedarach* L. and *Trichilia clausenu* C. against sheep gastrointestinal nematodes. **Experimental Parasitology**, v.130, p.98-102, 2012.
- CANSIAN, R. L.; VANIN, A. B.; ORLANDO, T.; PIAZZA, S. P.; PUTON, B. M. S.; CARDOSO, R. I.; GONÇALVES, I. L.; HONAISSER, T. C.; PAROUL, N.; OLIVEIRA, D. Toxicity of clove essential oil and its ester eugenyl acetate against *Artemia salina*. **Brazil Journal Biology**, v.77, n.1, p.155-161, 2017.
- CARNEVALLI, D. B.; ARAÚJO, A. P. S. Biological Activity of Black Pepper (*Piper nigrum* L.): Literature Review **UNICIÊNCIAS**, v. 17, n. 1, p. 41-46, 2013.
- CHAGAS, A. C. S.; NICIURA, S. C. M.; MOLENTO, M. B. **Manual Prático: metodologias de diagnóstico da resistência e de detecção de substâncias ativas em parasitas de ruminantes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 153p. 2011.
- COLES, G. C.; JACKSON, F. P. WE.; PRICHARD, R. K.; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA G.; SILVESTRE, A. et al. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v.136, n.3-4, p.167-185, 2006.
- DANTAS, F. C. P.; TAVARES, M. L. R.; TARGINO, M. S.; COSTA, A. P.; DANTAS, F. O. *Ziziphus joazeiro* Mart. - Rhamnaceae : características biogeoquímicas e importância no bioma Caatinga. **Revista Principal**, p. 51–57, 2014.
- DASKIRAN, I.; SAVAS, T.; JOUYUNCU, M.; KOLUMAN, N.; KESKIN, M.; ESENBUGA, N.; KONYALI, A.; CEMAL, I.; GUL, S.; ELMAZ, O.; KOSUM, N.; DELLA, G.; BINGOL, M. Goate productions system of Tirkey: Nomadic to industrial. **Small Ruminant Research**, v. 163, p. 15-20, 2018.
- DOLIGALSKA, M.; JÓZWICKA, K.; DONSKOW-LYSONIEWSKA, K.; KALINOWSKA, M. The antiparasitic activity of avenacosides against intestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v.241, p.5-13, 2017.
- FERREIRA, J. B.; BEZERRA, A. C. D. S.; GUILHERMINO, M. M.; LEITE, J. H. G. M.; SILVA, W. E.; PAIVA, R. D. M.; BARBOSA, T. N.; SOUSA, J. E. R.; FAÇANHA, D. A. E. Performance, endoparasitary control and blood values of ewes locally adapted in semiarid region. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 52, p. 23–29, 2017.
- FORTES, F. S.; MOLENTO, M. B. Resistência anti-helmíntica em nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes: avanços e limitações para seu diagnóstico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.12, p.1391-1402, 2013.
- FTHENAKIS, G. C.; PAPADOPOULOS, E. Impact of parasitism in goat production. **Small Ruminant Research**, v. 163, n. April 2017, p. 21–23, 2018.

- GOMES, D. C.; LIMA, H. G.; VAZ, A. V.; SANTOS, N. S.; SANTOS, F. O.; DIAS, Ê. R.; BOTURA, M. B.; BRANCO, A.; BATATINHA, M. J. M.. In vitro anthelmintic activity of the *Ziziphus joazeiro* bark against gastrointestinal nematodes of goats and its cytotoxicity on Vero cells. **Veterinary Parasitology**, v. 226, p. 10–16, 2016.
- GORDON, H. M.; WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **J Councc Sci Ind Res** v.12, n.1, p.50-62, 1939.
- GOYAL, M.; SASMAL, D. CNS depressant and anticonvulsant activities of the alcoholic extract of leaves of *Ziziphus nummularia*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.151, p.536-542, 2014.
- GUPTA, M. K.; SINGH, R. K. *In-vitro* antioxidant activity of the successive extracts of *Ziziphus mauritiana* leaves. **International journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v.4, n.2, p.788-791, 2013.
- HOSTE, H.; JACKSON, F.; ATHANASIADOU, S.; THAMSBORG, S. M.; HOSKIN, S. O. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. **TRENDS in Parasitology** v.22, n.6, 2006.
- HUBERT, J.; KERBOEUF, D. A microlarval development assay for the detection of anthelmintic resistance in sheep nematodes. **Vet Rec** v.130, n.20, 1992.
- JAMOUS, R. M.; ALI-SHTAYEH, S.; ABU-ZAITOUN, S. Y.; MARKOVICS, A.; AZAIZEH, H. Effects of selected Palestinian plants on the in vitro excystation of the third stage larvae of gastrointestinal nematodes. **BMC Veterinary Research**, v. 13, n. 1, p. 1–11, 2017.
- KRISHNARAJU, A. V.; RAO, T. V. N.; SUNDARARAJU, D. S.; VANISREE, M.; TSAY, H.; SUBBARAJU, G. V. Assessment of Bioactivity of Indian Medicinal Plants Using Brine Shrimp (*Artemia salina*) Lethality Assay. **International Journal of Applied Science and Engineering**, V.3, N.2, P. 125-134, 2005.
- MANIKKAVASAGAN, I.; BINOSUNDAR, S. T.; RAMAN, M. Survey on anthelmintic resistance to gastrointestinal nematodes in unorganized goat farms of Tamil Nadu. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 39, p. 258–261, 2015.
- MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. ed. da Universidade Federal do Ceara, p.148, Fortaleza, 2008.
- MHLANGA, T. T.; MUTIBVU, T.; MBIRIRI, D. T. Goat flock productivity under smallholder farmer management in Zimbabwe. **Small Ruminant Research**, v.164, p. 105-109, 2018.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Artmed editora LTDA, Porto Alegre, 2014.

POOLPERM S.; JIRAUNGKOORSKUL W. Uma revisão de atualização sobre a atividade anti-helmíntico de cabaço amargo, *Momordica charantia*. **Phcognosy Review**. v.11, p.31-4, 2017.

RODRIGUES, B. R.; COELHO, M. C. S. C.; COELHO, M. I. S. Aspectos sanitários e de manejo em criações de caprinos Leiteiros produzidos na comunidade de Caroá, Distrito de Rajada, Petrolina-Pe. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v.6, n.2, p.9-18, 2016.

RODRIGUEZ, A. G. et al. Bioensaio Com Ar Temia Salin a Para Detecção De Toxinas Em Alimentos Vegetais Armando. **Estudos**, v. 36, n. 5/6, p. 795–808, 2012.

SACHAN, A.; SHANKER, D.; JAISWAL, A. K.; SUDAN, V. *In vitro* ovicidal assessment of methanol, ethyl acetate and chloroform extracts of *Annona squamosa* and *Chenopodium album* against caprine gastrointestinal nematodiosis. **Journal of Parasitic Diseases**, v.39, n.1, p.62-66, 2013.

TRESIA, G. E.; EVVYERNIE, D.; TIURIA, R. Phytochemical Screening and in Vitro Ovicidal , Larvacidal , and Nematicidal Effects of *Murraya paniculata* (L .) Jack Extract on Gastrointestinal Parasites of Goats. **Journal of Animal Science and Technology** v. 39, p. 173–179, 2016.

4. CONCLUSÃO

O extrato salino bruto de *Ziziphus joazeiro* Mart. apresentou em sua composição substâncias tais como alcaloides, fenóis, flavonoides, saponina, taninos condensados e taninos hidrossolúveis, estas consideradas bioativas. O extrato demonstrou potencial atividade inibitória nas concentrações de 20,28 mg/ml, 10,14 mg/ml e 5,07 mg/ml sob ovos de parasitos gastrintestinais de caprinos. Uma vez que o teste toxicológico realizado em *Artemia salina* apontaram que as concentrações de 10,14 mg/ml e 5,07 mg/ml não apresentaram toxicidade, estas poderiam vir a compor esquemas de tratamento contra esse tipo de parasitismo.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M.A.O.; BOTURA, M.B.; SANTOS, M.M.; et al.. 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.125-9, 2003.
- ANCIA, J. P.; ROMÃO, N. F.; Análise da atividade citotóxica e mutagênica do extrato aquoso das partes aéreas de *IUncaria tomentosa* em teste de *Allium cepa*. **Journal of Basic Education**, v. 3, n.2, p.16-26, 2016.
- ANTANÁSIO-NHACUMBE, A. LAMBERT, S. M.; SOUZA, B. M. P. et al. Molecular detection of benzimidazole resistance levels associated with F167Y and F200Y polymorphisms in *Haemonchus contortus* of goats from Mozambique. **Parasitology Research**, v. 118, p. 245-253, 2019.
- AQUINO, R. S.; LEMO, C. G.; ALENCAR, C. A.; et al. A realidade da caprinocultura e ovinocultura no semiárido brasileiro: um retrato do sertão do Araripe, Pernambuco. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 10, n. 4,p.271-281, 2016.
- ARROYO-LOPEZ, C.; MANOLARAKI, F.; SARATSI, A. et al. Anthelmintic effect of carob pods and sainfoin hay when fed to lambs after experimental trickle infections with *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis*. **Parasite**, v.21, n71 p123-132, 2014.
- BABJÁK, M.; KONIGOVÁ, A.; DOLINSKÁ, U. et al. Anthelmintic resistance in goat herds—In vivo versus in vitro detection methods. **Veterinary Parasitology**, v. 254, p. 10-14, 2018.
- BACHAYA, H.; IQBAL, Z.; KHAN, .et al. Anthelmintic activity of *ziziphus nummularia* (bark) and *acacia nilotica* (fruit) against *trichostrongylid nematodes* of sheep **Journal of Ethnopharmacology**, v.123, n. 2, p. 325-329, 2009.
- BATISTA, J. F.; CAMPELO, J. E. G.; MORAIS, M. F. et al. Endoparasitismo gastrintestinal em cabras da raça Anglonubiana. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, v.15, n.2, p.318-326, 2014.
- BATISTA, L. F.; RAMOS, L. F.; BRITO, S. N. et al. Resistência anti-helmíntica em nematóides gastrintestinais de ovinos. **Revista Pubvet**, v. 11, n.12, p.1245-1249, 2017.
- BORGES, K. N.; PAUTISTA, H. Etnobotânica de plantas medicinais na Comunidade de Cordoaria, Litoral Norte do Estado da Bahia, Brasil. **Plurais**, v. 1, n. 2, p. 153-174, 2010.
- BORGES, L. S.; ROCHA, F. S. B. Variáveis fisiológicas de caprinos sem padrão racial definido criados em sistema extensivo. **Revista Eletrônica de Veterinária**, v. 18, n. 11, 2017.
- BORGES, S. L.; OLIVEIRA, A. A.; MENDONÇA, L. R. et al. Resistência anti-helmíntica em rebanhos caprinos nos biomas Caatinga e Mata Atlântica. **Pesquisa Veterinária**

Brasileira, v. 35, n. 7, p. 643-648, 2015.

BORIOLLO, M. F. G.; RESENDE, M. R.; SILVA, T. A. et al. Evaluation of the mutagenicity and antimutagenicity of *Ziziphus joazeiro* Mart. Bark in the micronucleus assay. **Genetics and Molecular Biology**, v. 37, n. 2, p. 428-438, 2014.

BRITO, S. M. O.; COUTINHO, H. D. M.; TALVANI, A. et al. Analysis of bioactivities and chemical composition of *Ziziphus joazeiro* Mart. Using HPLC-DAD. **Food Chemistry**, v. 186, p. 185-191, 2015.

BRUHN, F. R. P. ; LOPES, M. A. ; PERAZZA, C. A. ; DEMEU, F. A. ; SANTOS, G.; NETO, A. F. ; ZEVIANI, W. M. ; GUIMARÃES, A. M. Eficiência técnica e econômica da aplicação de diferentes anti-helmínticos em fêmeas da raça holandesa na fase de recria durante o outono-inverno de 2009. **Acta Tecnológica**, v.7, n. 2, 2012.

BRUNET, S.; JACKSON, F.; HOSTE, H. Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) extract and monomers of condensed tannins on the association of abomasal nematode larvae with fundic explants. **International Journal for Parasitology**, v.38, p.783-790, 2008.

CABARDO JR, D. E.; PORTUGALIZA, H. P. Anthelmintic activity of *Moringa oleifera* seed aqueous and ethanolic extracts against *Haemonchus contortus* eggs and third stage larvae. **International Journal of Veterinary Science and Medicine**, v.5, p. 30-34, 2017.

CACCIA-BAVA, M. C. G.; BERTONI, B. W.; PEREIRA, A. M. S. et al. Availability of herbal medicines and medicinal plants in the primary health facilities of the state of São Paulo, Southeast Brazil: results from the National Program for Access and Quality Improvement in Primary Care. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, n. 5, p. 1651-1659, 2017.

CAMPOS, A. P.; MIRANDA, D. F. H.; RODRIGUES, H. W. S. et al. Seroprevalence and risk factors for leptospirosis in cattle, sheep, and goats at consorted rearing from the State of Piauí, northeastern Brazil. **Tropical Animal Health Production**, v. 49, p. 899-907, 2017.

CARDOSO, I. C.; PEREIRA, H. M. G.; TAPPIN, M. R. R. et al. Influência da técnica de extração e do tamanho de partícula do material vegetal no teor de compostos fenólicos totais da tintura das folhas de *Alpinia zerumbet* . **Revista Fitos**, v. 1, p. 126, 2017.

CEZAR A.S.; VOGEL F.S.F.; SANGIONI L.A. et al. Ação anti-helmíntica de diferentes formulações de lactonas macrocíclicas em cepas resistentes de nematódeos de bovinos. **Pesquisa veterinária brasileira**. v.30, n.7, p.523-528, 2010.

CHAN-PÉREZ, P. I.; TORRES-COSTA, J. F. J.; SANDOVAL-CASTRO, C. A.; CASTAÑEDA-RAMÍREZ, G. S. et al.. Susceptibility of the *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.

CHIKWETO, A.; TIWARI, K.; BHAIYAT, M. I. et al. Gastrointestinal parasites in small ruminants from Grenada, West Indies: A coprological survey and a review of necropsy cases. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 13, p. 130-134, 2018.

- COELHO, W. A. A.; AHID, S. M. M.; VIEIRA, L. S.; FONSECA, et al. Resistência anti-helmíntica em caprinos no município de Mossoró, RN. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 3, p. 589-599, 2010.
- COELHO, M. D. G.; XAVIER, T. B.; COSTA, J. F. et al. Avaliação do uso de extratos vegetais para controle da hemoncose em ovinos naturalmente infectados. **Revista Ambiente e Água** v. 12, n. 2, 2017.
- CORDEIRO, L. N.; ATHAYDE, A. C. R.; VILELA, V. L. R. et al. Efeito *in vitro* do extrato etanólico das folhas do melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v.12, n.4, p.421-426, 2010.
- COSTA, V. M. M.; SIMÕES, S. V. D.; RIET-CORREA, F. Controle das parasitoses gastrintestinais em ovinos e caprinos na região semiárida do Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.1, p.65-71, 2011.
- COSTA, P. T.; VAZ, R. Z.; COTA, R. T. et al. Eficácia do albendazole, cloridrato de levamisol, moxidectina e nitroxinil no controle parasitário de cordeiras. **Revista Científica Rural**, n. 20, n. 1, 2018.
- CUNHA, A. L.; MOURA, K. S.; BARBOSA, J. C. et al. Os metabólitos secundários e sua importância para o organismo. **Diverista Journal**, v. 1, n. 2, p. 175-181, 2016.
- DANTAS, F. C. P.; TAVARES, M. L. R.; TARGINO, MI. S.; COSTA, A. P.; DANTAS, F. O. *Ziziphus joazeiro* Mart. - Rhamnaceae : características biogeoquímicas e importância no bioma Caatinga. **Revista Principal**, p. 51–57, 2014.
- DEVER, M. I.; KAHN, L. P.; DOYLE, S. W. et al. Immune-mediated responses account for the majority of production loss for grazing meat-breed lambs during *Trichostrongylus colubriformis* infection. **Veterinary Parasitology**, v. 216, p. 23-32, 2016.
- DIÓGENES, F.E.P.; OLIVEIRA, A.K.; COELHO, M.F.B. et al. Pré-tratamento com ácido sulfúrico na germinação de sementes de *Ziziphus joazeiro* Mart. – Rhamnaceae. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v.12, n.2, p.188-194, 2010.
- EL-SHERBINI, G. T. Anthelmintic activity of unripe *Mangifera indica* L. (Mango) against *Strongyloides stercoralis*. **International Journal of Medicinal Plant and Alternative Medicine**. v. 1, n.4, p. 73-79, 2013.
- EMERY, D. L.; HUNT, P. W.; JAMBRE, L. F. L. *Haemonchus contortus*: the then and now, and where to from here? **International Journal for Parasitology**, v.46, p. 755-769, 2016.
- FARIA, A. M. B.; VALIATTI, T. B.; OLIVEIRA, A. A. et al. A fitoterapia entre acadêmicos das ciências da vida. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 11, n. 9, 2017.
- FARIAS, A. E. M.; ALVES, J. R. A.; ALVES, F. S. F. et al. Seroepidemiological characterization and risk factors associated with seroconversion to *Corynebacterium*

pseudotuberculosis in goats from Northeastern Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, 2018.

FARIAS, J. L. S.; ARAÚJO, M. R. A.; LIMA, A. R.; et al. Análise socioeconômica de produtores familiares de caprinos e ovinos no Semiárido Cearense, Brasil. **Revista Archivos de Zootecnia**, v.63, n.241, p.13-24, 2014.

FILHO, L. C. C.; QUEIROZ, V. L. D.; SOUZA, M. F. A. Homeopatia aplicada à reprodução animal. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, v. 17, n. 1, p. 63-68, 2014.

GAMARRA-ROJAS, G.; SILVA, N. C. G.; VIDAL, M. S. C. Contexto, (agri)cultura e interação no agroecossistema familiar do caju no semiárido brasileiro. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 34, n. 3, p. 315-338, 2017.

GOMES, D. C.; LIMA, H. G.; VAZ, A. V.; SANTOS, N. S.; SANTOS, F. O.; DIAS, Ê. R.; BOTURA, M. B.; BRANCO, A.; BATATINHA, M. J. M.. In vitro anthelmintic activity of the *Ziziphus joazeiro* bark against gastrointestinal nematodes of goats and its cytotoxicity on Vero cells. **Veterinary Parasitology**, v. 226, p. 10–16, 2016.

GOOLSBY, M. K.; LEITE-BROWNING, M. L.; BROWNING JR, R. Evaluation of parasite resistance to commonly used commercial anthelmintics in meat goats on humid subtropical pasture. **Small Ruminant Research**, V. 146, P. 37-40, 2017.

HAMER, K. BARTLEY, D.; JENNINGS, A. et al. Lack of efficacy of monepantel against trichostrongyle nematodes in a UK sheep flock. **Veterinary Parasitology**, v. 257, p. 48-53, 2018.

HOLM, S. A.; SORENSEN, C. R. L.; THAMSBORG, S. M. et al. Gastrointestinal nematodes and anthelmintic resistance in Danish goat herds. **Parasite**, v. 21, n. 37, 2014.

HUPP, B. N. L.; NOVAES, M. T.; MARTINS, M. S. et al. CLINICAL AND LABORATORIAL ALTERATIONS AS INDICATORS FOR ANTI-HELMINTIC TREATMENT IN SHEEP EXPERIMENTALLY INFECTED WITH *Haemonchus contortus*. **Ciencia animal brasileira**, v. 19, p. 1-10, 2018.

JIAO, J. Y.; YANG, Y. Q.; LIU, M. J.; LI, J. G. Artemisinin and *Artemisia annua* leaves alleviate *Eimeria tenella* infection by facilitating apoptosis of host cells and suppressing inflammatory response. **Veterinary Parasitology**, V. 254, P. 172-177, 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2017. Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal 2017. Rio de Janeiro: IBGE. IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2017.

JIMÉNEZ-CASTELLS, C.; VANBESELARE, J.; KOHLUBER, S.; RUTTKOWSKI, B.; JOACHHIM, A.; PASCHINGER, K. Gender and developmental specific N-glycomes of the porcine parasite *Oesophagostomum dentatum*, **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)** – v.1861, p. 418-439, 2017.

KAMBLE, S. S.; GACCHE, R. N. "Evaluation of anti-breast cancer, anti-angiogenic and antioxidant properties of selected medicinal plants". **European Journal of Integrative Medicine**, v. 25, p. 13-19, 2019.

KLONGSIRIWET, C.; QUIJADA, J.; WILLIMS, A. R. et al. Synergistic inhibition of *Haemonchus contortus* exsheathment by flavonoid monomers and condensed tannins. **International journal for parasitology**, v.5, p. 127-134, 2015.

LANUSSE, C.E.; ALVARES, L.I.; LIFSCHITZ, A.L. **Princípios farmacológicos da terapia anti-helmíntica**. In: CAVALTANTE, A.C.R.; VIEIRA, L.S.; CHAGAS, A.C.S.; MOLENTO, M.B. (Org.). Doenças parasitárias de caprinos e ovinos: epidemiologia e controle. Brasília: Embrapa, 2009. cap. 22, p. 549-595.

LEAL, G. S.; SAMPAIO, D. O.; BESSEGATO, L. F. Avaliação econômico-financeiro de produção de leite caprino na zona da mata mineira. **Revista das faculdades integradas Vianna Júnior**, v. 9, n. 1, 2018.

LEARMOUNT, J.; GLOVER, M. J.; TAYLOR, M. A. Resistance delaying strategies on UK sheep farms: A cost benefit analysis. **Veterinary Parasitology**, v. 254, p. 64-71, 2018.

LIMA, L. D. S. C.; LUZ, M. L. G. S.; LUZ, C. A. S.; GADOTTI, G. I. Viabilidade técnica e econômica da implantação de uma Agroindústria de extrato vegetal. **Revista Brasileira de Engenharia e Sustentabilidade**, v. 4, n. 2, p. 48-53, 2017.

LIMA, L. F.; ALVES, A. M. C. V.; ROCHA, R. M, P. et al. A homeopatia como alternativa no tratamento de distúrbios Reprodutivos . **Ciência animal**, v. 22, n. 2, p. 25-43, 2012.

LIMA, W. C.; ATHAYDE, A. C. R.; MEDEIROS, G. R. et al. Nematóides resistentes a alguns anti-helmínticos em rebanhos caprinos no Cariri Paraibano. **Pesquisa veterinária Brasileira**, v. 30, n. 12, p. 1003-1009, 2010.

LOPES, W. D. Z.; FELIPPELLI, G.; TEIXEIRA, W. F. et al. Resistência de *Haemonchus placei*, *Cooperia punctata* e *Oesophagostomum radiatum* à ivermectina pour-on a 500mcgkg-1 em rebanhos bovinos no Brasil. **Ciência Rural**, v. 44, n. 5, p. 847-853, 2014.

MACEDO, F. A. F.; LOURENÇO, F. J.; SANTELLO, G. A. et al. Parasitose gastrointestinal e valor do hematócrito em fêmeas ovinas alimentadas com diferentes níveis de proteína bruta. **Revista de Ciências Agroambientais**, v. 13, n. 2, p. 65-73, 2015.

MARROQUÍN-TUN, M. E.; HIGUERA-PIEDRAHITA, R. I.; LÓPEZ-ARELLANO, M. E. et al. In vitro effect of the hydroalcoholic and ethanolic extracts of *papaya seeds* (*Carica papaya*) against *Haemonchus contortus*. **Revista Ciencia y Agricultura**, v. 15, n. 1, p. 53-59, 2018.

MEDEIROS, M. L. S.; MOURA, M. C.; NAPOLEÃO, T. H. et al. Nematicidal activity of a water soluble lectin from seeds of *Moringa oleífera*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 782-789, 2018.

MELO, A. C. F. L. Nematodeos resistentes a anti-helmíntico em rebanhos de ovinos e caprinos do estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, v. 33, n. 2, p. 339-344, 2003.

MELO, L. R. B.; VILELA, V. L. R.; FEITOSA, T. F. et al. Resistência anti-helmíntica em pequenos ruminantes do Semiárido da paraíba, Brasil. **Revista ARS Veterinaria**, v. 29, n.2, p. 104-108, 2013.

MINHO, A. P. Endoparasitoses de ovinos: conhecer para combater. **Circular técnico. Bagé: Embrapa**. p. 02-19, 2014.

MOLENTO, M. B., FORTES, F. S., PONDELEK, D. A. S. et al.. Challenges of nematode control in ruminants: Focus on Latin America. **Veterinary Parasitology** , v.180, p. 126– 132, 2011.

MOLENTO, M. B.; VERÍSSIMO, C. J.; AMARANTE, A. T. et al. A. Alternativas para o controle de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.80, n.2, p.253-263, 2013.

MONTEIRO, M. H. D. A.; FRAGA, S. A. P. M. Fitoterapia na odontologia: levantamento dos principais produtos de origem vegetal para saúde bucal. **Revista Fitos**, v. 9, n. 4, p. 2536-303, 2015.

MONTES, R. A.; SOUZA, R. O. L.; MORAES, S. R. et al. Qualidade microbiológica de drogas vegetais utilizadas na fitoterapia popular. **Revista Espacios**, v. 38, n. 11, 2017.

NASCIMENTO, A. M.; TORRES, J. C.; MARQUES, C. A. Morphological and anatomical description and phytochemical tests in samples of *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae). **Revista Fitos**, v. 10, n. 4, p. 375-547, 2016.

NERY, P. S.; DUARTE, E. R.; MARTINS, E. R. Eficácia de plantas para o controle de nematódeos gastrintestinais de pequenos ruminantes: revisão de estudos publicados. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.11, p. 330-338, 2009.

NEVES, H. H.; HOTZEL, M. J.; HONORATO, L. A.; FONSECA, C. E. M. et al. Control of gastrointestinal worms in goats using homeopathy. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 7, n. 1, p. 145-151, 2012.

NOVA, L. E. V.; COSTA, M. E.; MELO, P. G. C. F. et al. Resistência de nematoides aos anti-helmínticos nitroxinil 34% e ivermectina 1% em rebanho ovino no município de São João do Ivaí, Paraná. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 8, n.1, p. 159 – 171, 2014.

OLIVEIRA, A. F.; JUNIOR, L. M. C.; LIMA, A. S. et al. Anthelmintic activity of plant extracts from Brazilian savanna. **Veterinary Parasitology**, v. 236, p. 121-127, 2017.

OLIVEIRA, V. B.; ZUCHETTO, M.; OLIVEIRA, C. F. et al. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clae-dad

de *dicksonia sellowiana* (presl.). Hook, dicksoniaceae. **Revista brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, p. 230-239, 2016.

ONDUÁ, M.; NJOYA, E. M.; ABDALLA, M. A. et al. Anti-inflammatory and antioxidant properties of leaf extracts of eleven South African medicinal plants used traditionally to treat inflammation. **Journal of Ethnopharmacology**, 2018.

PEREIRA, J. S.; OLIVEIRA, S. V. F.; COELHO, W, A. C. et al. Resistência ao anti-helmíntico levamisole em caprinos no Município de Grossos, Rio Grande do Norte, Brasil. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 7, n. 19, 2013.

PEREIRA-JUNIOR, R. A.; SOUSA, S. A. P.; VELOSO, F. P. F. S. et al. Eficácia de ivermectina e albendazol contra nematódeos gastrintestinais em rebanho ovino naturalmente infectado no município de Palmas-to, Brasil. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, n. 28, 2017.

PERIASAMY, K.; VAHIDI, S. M. F.; SILVA, P. et al. Mapping molecular diversity of indigenous goat genetic resources of Asia. *Small Ruminant Research*, v.148, p. 2-10, 2017.

PINTO, A. T. M.; SILVA, D. J.; RIBEIRO, A. C.; PEIXOTO, I. T. A. Antimicrobial Activity of Phytotherapeutic Toothpastes against *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus*. **Revista Científica de Biologia e Saúde**, v. 15, n. 4, p. 259-263, 2013.

RAI, A. SAITO, K. YAMAZAKI, M. Integrated omics analysis of specialized metabolism in medicinal plants. **The Plant Journal**, v. 90, p. 764-787, 2017.

RATH, S.; SCHRODER, C. H. K.; SILVA, C. R. et al. Avermectinas no agronegócio brasileiro: uma solução ou um problema? **Veterinária e zootecnia**, v.23, n.1, p.8-24, 2016.

RIBEIRO, V. M. F.; FAINO, A. L.; PERUQUETTI, R. C. et al. Avaliação da eficiência de cal virgem na inativação de ovos de nematóides (*Strongyloides* sp.) parasitos de pacas (*Cuniculus paca*) criadas em cativeiro. **Arquivo brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 4, p. 989-996, 2017.

ROBERTO, F. F. S.; JUNIOR, V. L.; GURGEL, A. L. C. et al. Avaliação de resistência e susceptibilidade a nematódeos gastrintestinais em ovelhas a pasto. **Boletim de Indústria Animal**, v. 75, n. 1, p. 44-51, 2018.

ROCHA, S. F.; OTTATI, A. M. A. A.; CAMPOS, R. T. Produção de Caprinos e suínos nos municípios de São Luís, Paço do Lumiar e São José de Ribamar. **Revista de Política Agrícola**, n. 1, 2018.

SANTIAGO, M.A.M., COSTA, U.C. Resistencia de *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriforme* e *Ostertagia* spp. ao levamisol. **Ciência Rural.**, v.9, p.315-318, 1979.

SANTOS, J. M. L.; MONTEIRO, J. P.; RIBEIRO, W. L. C. et al. High levels of benzimidazole resistance and β -tubulin isotype 1 SNP F167Y in *Haemonchus*

- contortus* populations from Ceará State, Brazil. **Small Ruminant Research**, v.146, p. 48-52, 2017.
- SANTOS, J.M.L.; MONTEIRO, J.P.; RIBEIRO, W.L.C. et al. Identification and quantification of benzimidazole resistance polymorphisms in *Haemonchus contortus* isolated in Northeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**.199: 160–164. 2014.
- SANTOS-LIMA, T.M.; SANTOS, D.R.V.; SOUZA, R.M. et al. Plantas medicinais com ação antiparasitária: conhecimento tradicional na etnia Kantaruré, aldeia Baixa das Pedras, Bahia, Brasil. **Revista brasileira plantas medicinais.**, Campinas, v.18, n.1, supl. I, p.240-247, 2016.
- SERRA, E. F.; SILVA, A. L.; RIPOLL, M. K. et al. Fungos predadores de nematoides em amostras de solo do município de alegre-rs. **Science and animal health**, v. 5, p. 21-34, 2017.
- SILVA, H. M. Nematodioses gastrintestinais de caprinos: uma revisão. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 13, n. 2, p. 199-208, 2014.
- SILVA, J. L.; COSTA, F. B.; NASCIMENTO, A. M. et al. Avaliação física e físico-química de frutos de juazeiro (*Zizyphus joazeiro* Mart.) em diferentes estádios de maturação. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 11, n. 5, p. 177-181, 2016.
- SILVA, M. T. O.; MAIA, M. A, C.; SILVA, M. D. C. et al. Anthelmintic effect of *Cassia fistula* and *Combretum leprosum* protein fractions against goat gastrointestinal nematodes. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 27, n. 2, p. 237-241, 2018.
- SILVEIRA, W. F.; OLIVEIRA, G. D.; BRAGA, F. R. et al. Predation rate of nematophagous fungi after passing through the gastrointestinal tract of goats. **Small Ruminant Research**, v. 147, p. 101-105, 2017.
- SNYMAN, M. A.; FISHER, A. D. Genetic parameters for traits associated with resistance to *Haemonchus contortus* in a South African Dohne Merino sheep flock. **Small Ruminant Research**, 2019.
- SOARES, F. E. F.; SUFIATE, B. L.; QUEIROZ, J. H. Nematophagous fungi: Far beyond the endoparasite, predator and ovicidal groups. **Agriculture and Natural Resources**, v. 52, p. 1-8, 2018.
- SOUSA, F. C.; MARTINS, J. J. A.; ROCHA, A. P. T. et al. Predição de modelos sobre a cinética de secagem de folhas de *Zizyphus joazeiro* Mart. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 2, p. 195-200, 2015.
- SOUSA, F. C.; ROCHA, A. P. T.; GOMES, J. P. et al. Isotermas de dessecção de folhas *in natura* de juazeiro e mororó. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 44, n. 3, p. 304-310, 2014.
- SOUSA, I. R.; MASCARENA, V. M.; SILVA, J. F.; SOUSA, F. C. Características andrológicas de caprinos Anglonubiano submetidos ao semiárido. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 11, n. 5, p. 532-537, 2017.

SPRENGER , L. K.; AMARAL , C. H. do; FILHO, R.V. L.; AGUIAR , T. N.; MOLENTO, M. B. EFICÁCIA DO FOSFATO DE LEVAMISOL EM NEMATÓDEOS. **Archives of Veterinary Science** v.18, n.1, p.29-39, 2013.

STUCKI, K. CERO, M. D.; VOLG, C. R. et al. Ethnoveterinary contemporary knowledge of farmers in pre-alpine and alpine regions of the Swiss cantons of Bern and Lucerne compared to ancient and recent literature – is there a tradition?. **Journal of Ethnopharmacology**, 2018.

SUFIAATE, B. L.; SOARES, F. E. F.; MOREIRA, S. S. et al. Nematicidal action of *Pleurotus eryngii* metabolites. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 12, p. 216-219, 2017.

TRESIA, G. E.; EVVYERNIE, D. TIURIA, R. Phytochemical Screening and *in Vitro* Ovicidal, Larvacidal, and Nematicidal Effects of *Murraya paniculata* (L.) Jack Extract on Gastrointestinal Parasites of Goats. **Media Peternakan**, v. 39, n. 3, p.173-179, 2016.

VERÍSSIMO, C.J.; NICIURA, S.C.M.; ALBERTI, A.L.L. et al. Multidrug and multispecies resistance in sheep flocks from São Paulo state. Brazil. **Veterinary Parasitology**. v.187, p. 209–216, 2012.

VIEIRA, L.S.; CAVALCANTE, A.C.R. Resistência anti-helmíntica em rebanhos caprinos no Estado do Ceará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 19, p. 99-103. 1999.

VIEIRA, M. M. M.; FURTADO, F. M. V.; CÂNDIDO, M. J. D. et al. Aspectos fisiológicos e bioclimáticos de caprinos nas regiões semiáridas. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 10, n. 5, p. 356-369, 2016.

VITA, G. F.; FERREIRA, I.; PEREIRA, M. A. V. C. et al. Eficácia de *Chenopodium ambrosioides* (erva-de-santa-maria) no controle de endoparasitos de *Coturnix japonica* (codorna japonesa). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 5, p. 424-430, 2015.

WESTERS, T.; JONES-BITTON, A.; MENZIES, P. et al. Efficacy of closantel against ivermectin- and fenbendazole-resistant *Haemonchus* sp. in sheep in Ontario, Canada. **Veterinary Parasitology**, v. 228, p. 30-41, 2016.

YOSHIHARA, E.; MINHO, A. P. ; YAMAMURA , M. H. Efeito anti-helmíntico de taninos condensados em nematódeos gastrintestinais de ovinos (*Ovis aries*). **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, suplemento 2, p. 3935-3950, 2013.

XAVIER, S. R.; ERASMO, J. O.; MOTA, E. S. et al. Avaliação da qualidade de amostras comerciais de chás na cidade de Vitória da Conquista-Bahia. **Revista Fitos**, v. 12, n. 1, p. 8-17, 2018.

ZHANG, Y.; YU, J.; ZHANG, W. et al. **An integrated evidence-based targeting strategy for determining combinatorial bioactive ingredients of a compound herbal medicine Qishen Yiqi dripping pills.** **Journal of Ethnopharmacology**, v. 219, p. 288-298, 2018.