



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

**ATIVIDADE OVICIDA *in vitro* DE FOLHAS DE *Mentha spicata* L. EM HELMINTOS
GASTROINTESTINAIS DE OVINOS.**

MOSSORÓ-RN,

Agosto, 2020

CRISTINA KARINE DE OLIVEIRA REBOUÇAS

**ATIVIDADE OVICIDA *in vitro* DE FOLHAS DE *Mentha spicata* L. EM HELMINTOS
GASTROINTESTINAIS DE OVINOS.**

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/RN

Agosto, 2020

©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.

R292a Rebouças, Cristina Karine de Oliveira.
 ATIVIDADE OVICIDA in vitro DE FOLHAS DE Mentha
 spicata L. EM HELMINTOS GASTROINTESTINAIS DE
 OVINOS. / Cristina Karine de Oliveira Rebouças. -
 2020.
 54 f. : il.

 Orientador: Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra.
 Coorientador: Michele Dalvina Correia da
 Silva.

 Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
 Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
 Ambiente, Tecnologia e Sociedade, 2020.

 1. Ovinocultura. 2. Parasitose. 3. Anti-
 helmíntico. 4. Fitoterapia. I. Bezerra, Ana Carla
 Diógenes Suassuna, orient. II. Silva, Michele
 Dalvina Correia da , co-orient. III. Título.

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

CRISTINA KARINE DE OLIVEIRA REBOUÇAS

**ATIVIDADE OVICIDA *in vitro* DE FOLHAS DE *Mentha spicata* L. EM HELMINTOS
GASTROINTESTINAIS DE OVINOS.**

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.

Defendida em: 24/ AGOSTO/ 2020.

BANCA EXAMINADORA

Ana Carla Diógenes S. Bezerra

Profa. Dra. Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra – UFERSA
Presidente da banca e orientadora

Michele Dalvina Correia da Silva

Profa. Dra. Michele Dalvina Correia da Silva – UFERSA
Membro externo ao programa

Gardênia Silvana de Oliveira Rodrigues

Profa. Dra. Gardênia Silvana de Oliveira Rodrigues – UFERSA
Membro interno do programa

Cynthia Cavalcanti

Profa. Dra. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque - UERN
Membro externo a instituição

Cristina Karine de Oliveira Rebouças

Cristina Karine de Oliveira Rebouças
Discente

Dedico esta obra a minha família e amigos. Por todo amor, suporte e paciência.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me permitir mais essa oportunidade, por ser minha fonte de força e determinação, por me acompanhar em cada escolha e por colocar pessoas maravilhosas em minha vida.

À minha família, por todo o incentivo a educação, por me mostrarem integridade, humildade e perseverança. Minha dívida será eterna!

Às minhas irmãs, Cristiane e Carol, por todo suporte e incentivo na minha decisão de fazer uma pós-graduação. Sou grata por todo o companheirismo, amor e por acreditarem que eu conseguiria. Amo vocês!

Ao meu namorado Felipe, por ser meu melhor amigo, por enxugar cada lágrima que derramei durante o processo, por me escutar e sempre estar disponível para ajudar a resolver os meus problemas. Obrigada também por me incentivar a crescer ainda mais como profissional, pelo apoio a mim bem como a minha família. Simplesmente obrigada por ser esse ser humano maravilhoso e por acreditar em mim, mesmo quando eu mesma não acredito. Eu amo você!

Aos meus amigos Arthur, Luzia, Gilmar, Gabrielly, Netinho, Luine, Maressa, Lorena e Alana Caroline por serem os melhores amigos que eu poderia ter desde o ensino médio e principalmente por serem as melhores coisas na minha vida. Vocês sempre souberam como me fazer feliz. Amo todos!

Aos meus amigos Flaviano, Letícia, Arturo, Diane, Thayron, Gaby, Patrick, Rafael, Samuel, Gabriel e Laís por todas as risadas e momentos maravilhosos. Agradeço demais por terem me acolhido e construído esse laço de amizade, que não importa a distância será para vida toda. Admiro demais vocês e quero que saibam que vocês fazem parte dessa conquista.

Aos meus amigos e colegas da época de graduação, Diandra, Phellipe, Manu, Evelline, Luciano, Denilsa, Brenna, Renata, Rebecca, Elias e Pablo pelo companheirismo e por compartilharem comigo o conhecimento de vocês e suas amigadas e pelo suporte. A admiração que tenho por cada um de vocês foi a inspiração para que eu conquistasse mais esse título. Obrigada!

Aos meus amigos e companheiros que passaram e aos que ainda estão no LIPAM/LABIP por toda a cumplicidade, por toda a ajuda e momentos juntos. Em especial à Tallyson que foi meu mentor e guia desde a graduação e a Lidia, Sara, Jorge, Arielle, Vivian, Renata e João por cada conhecimento compartilhado e por terem facilitado essa minha jornada.

Aos meus amigos e colegas de mestrado Renata, Suzane, Annyelly, Valéria, Waleska, Janaína, Rafaelly, Hiályson, Maiara, Brenda e Manoel Júnior por terem sido a melhor turma de mestrado que eu poderia pedir. Obrigada por toda cumplicidade, trabalhos e gargalhadas juntos e obrigada por serem o tipo de pessoas que torcem uma pelas outras. A presença de vocês fez toda a diferença!

Um agradecimento especial a minha amiga Renata Macêdo por me acompanhar desde a graduação e pela sua incrível amizade. Obrigada por escolher trilhar essa jornada juntas, pela sua companhia sempre e por me incluir na sua linda família. Só tenho lembranças maravilhosas ao seu lado.

A todos os professores que tive desde a graduação a pós-graduação. O papel e apoio de vocês me guiaram até agora.

A UFRSA por ter me dado essa dádiva que é a educação. Obrigada pela graduação em biotecnologia e pela pós-graduação em ambiente, tecnologia e sociedade.

A banca examinadora, por fazerem parte deste processo e por toda contribuição que deram para o meu trabalho e para mim como profissional.

A CAPES e governo federal pelo investimento na educação e no desenvolvimento de ciência e pelo apoio financeiro do meu projeto de pesquisa.

E um agradecimento gigante à minha orientadora Ana Carla, que continua a ser uma inspiração em minha vida. Obrigada por mais uma vez enxergar meu potencial e por me convencer a fazer o mestrado. Foi uma experiência maravilhosa e que abriu meus olhos e despertou uma nova aptidão, a sala de aula. Graças a senhora percebi que tenho vocação para docência e agora é o meu mais novo objetivo a ser alcançado. Obrigada Carla por me proporcionar a oportunidade de crescer e por ser essa mentora, professora e amiga incrível. Infelizmente, por enquanto isso é um adeus, mas só Deus sabe o que o futuro nos reserva.

Eu levarei a senhora para sempre comigo e cada conquista que virá após essa será sua também. Que Deus lhe abençoe sempre!

- “Há uma força motriz mais poderosa que o vapor, a eletricidade e a energia atômica: a VONTADE”.

Albert Einstein

RESUMO

A ovinocultura é tida no Brasil como uma importante atividade socioeconômica, principalmente na região Nordeste. Contudo, uma das principais limitações para a criação desses pequenos ruminantes seriam as parasitoses, destacando as causadas por helmintos gastrointestinais. Essas infecções provocam diversos prejuízos a esses animais, como perda de peso, quadros de anemia, redução do potencial de produção, podendo ocasionar quedas da taxa de produtividade dos mesmos. Os fitoterápicos surgem como uma alternativa, tanto para o tratamento desses parasitos como para o controle da resistência parasitária causada pelo uso indiscriminado de anti-helmínticos químicos comumente usados no tratamento de ovinos. Dessa forma o objetivo da pesquisa foi avaliar *in vitro* a atividade ovicida das folhas de *Mentha spicata* L. em helmintos gastrointestinais de ovinos. Para tal, folhas de *M. spicata* foram coletadas, secas a temperatura ambiente e processadas para preparo do extrato salino e análise fitoquímica. Quanto à atividade anti-helmíntica foram realizadas coletas em *pool* amostral de 10% do rebanho ovino, no qual realizou-se a contagem de ovos por grama de fezes para comprovação do nível da infecção, seguido pela recuperação dos ovos e pelo Teste de Eclosão de Ovos (TEO). Para efeito toxicológico do extrato foi utilizado bioensaio com *Artemia salina*. O extrato inibiu a eclosão de ovos em 79%, 78%, 40% e 23% para as concentrações de 80 mg/mL, 40 mg/mL, 20 mg/mL e 10 mg/mL, respectivamente. As concentrações com melhor ação ovicida foram 80 mg/mL e 40 mg/mL, entretanto a 80 mg/mL foi considerada tóxica ($CL_{50} = 59.04$ mg/mL), indicando o extrato de 40 mg/mL como a alternativa mais viável. Na análise fitoquímica a presença de fenóis, saponinas, núcleos esteroidais e taninos hidrossolúveis foram identificadas, podendo estar relacionados à atividade ovicida do extrato. Conclui-se que o extrato da *M. spicata* L. apresentou substâncias bioativas, com efeito anti-helmíntico em ovos de helmintos gastrointestinais de ovinos.

Palavras-chave: Ovinocultura; Parasitose; Anti-helmíntico; Fitoterapia.

ABSTRACT

Sheep farming is seen in Brazil as an important socioeconomic activity, mainly in the Northeast region. However, one of the main limitations for the creation of these small ruminants would be parasites, highlighting those caused by gastrointestinal helminths. These infections cause several losses to these animals, such as weight loss, anemia, reduced production potential, which can cause a drop in their productivity rate. Herbal medicines appear as an alternative, both for the treatment of these parasites and for the control of parasitic resistance caused by the indiscriminate use of chemical anthelmintics commonly used in the treatment of sheep. Thus, the objective of the research was to evaluate *in vitro* the ovicidal activity of the leaves of *Mentha spicata* L. in gastrointestinal helminths of sheep. For this, *M. spicata* leaves were collected, dried at room temperature and processed to prepare the salt extract and phytochemical analysis. As for anthelmintic activity, collections were made in a sample pool of 10% of the sheep herd, in which the egg count was counted per gram of feces to prove the level of infection, followed by the recovery of the eggs and the Hatching Test. Eggs (TEO). For the toxicological effect of the extract, a bioassay with *Artemia salina* was used. The extract inhibited the hatching of eggs by 79%, 78%, 40% and 23% for concentrations of 80 mg/mL, 40 mg/mL, 20 mg/mL and 10 mg/mL, respectively. The concentrations with the best ovicidal action were 80 mg/mL and 40 mg/mL, however 80 mg/mL was considered toxic ($LC_{50} = 59.04$ mg/mL), indicating the extract of 40 mg/mL as the most viable alternative. In the phytochemical analysis, the presence of phenols, saponins, steroidal nuclei and water-soluble tannins were identified, which may be related to the ovicidal activity of the extract. It is concluded that the extract of *M. spicata* L. presented bioactive substances, with anthelmintic effect in eggs of gastrointestinal helminths of sheep.

Key-words: Parasitosis; Sheep farming; Anthelmintic; Phytotherapy

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Quantidades de animais de rebanhos caprinos e ovinos por regiões no Brasil segundo o Censo do IBGE do ano 2006 e 2017.....	18
Figura 2: Ciclo Biológico de nematódeo gastrointestinal em ovinos.....	20
Figura 3: Estruturas parasitárias; A – Larva <i>Strongyloides</i> sp; B – Ovo de <i>Strongyloides</i> sp.....	21
Figura 4: Larva e ovos de <i>Haemonchus contortus</i> identificadas através de um novo teste baseado em uma aglutinina de amendoim que se liga aos ovos do parasita sendo visualizada com um microscópio de fluorescência.....	22
Figura 5: Larva na fase infectante de <i>Trichostrongylus colubriformis</i> obtido através de coprocultura de fezes de caprinos.....	23
Figura 6: <i>Oesophagostomum columbianum</i> . A- Visualização da extremidade anterior; B- Visualização da extremidade posterior.....	24
Figura 7: a-d) Larvas infectadas capturadas por fungos nematófagos das espécies <i>Duddingtonia flagrans</i> (AC001 e CG722) e <i>Monacrosporium thaumasium</i> (NF34) (seta branca) em placas de Petri contendo 2% de ágar-água e formação de armadilhas pelos isolados fúngicos (seta preta).....	28
Figura 8: Imagem ilustrativa da espécie <i>Mentha spicata</i> L. (hortelã).....	31

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Proporção de inibição da eclosão de ovos de helmintos gastrintestinais de ovinos após tratamento com extrato salino bruto das folhas de *Mentha spicata* L. nas concentrações de 80 mg/mL (T1), 40 mg/mL (T2), 20 mg/mL (T3) e 10 mg/mL (T4), bem como com um controle negativo (C.Neg: solução salina 0,15 M) e um controle positivo (C.Pos: 3,2 µg/mL de tiabendazol).

.....40

Gráfico 2: Representação do efeito toxicológico das concentrações testadas do extrato salino bruto das folhas de *Mentha spicata* L. sobre *A. salina*.....41

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
2.1 A OVINOCULTURA NO BRASIL	18
2.2 CICLO BIOLÓGICO E PRINCIPAIS PARASITOS DE OVINOS	19
2.2.1 <i>Strongyloides</i> sp.	20
2.2.2 <i>Haemonchus</i> sp.	21
2.2.3 <i>Trichostrongylus</i> sp.	22
2.2.4 <i>Oesophagostomum columbianum</i>	23
2.3 CONTROLE QUÍMICO E A RESISTÊNCIA PARASITÁRIA	24
2.4 MÉTODOS ALTERNATIVOS DE CONTROLE	26
2.4.1 Manejo de pastagem e nutrição dos animais	26
2.4.2 Controle biológico	27
2.4.3 Seleção genética de animais resistentes aos nematoides	29
2.4.4 Plantas medicinais com ação antiparasitária (Fitoterapia)	29
3. OBJETIVOS	32
3.1 OBJETIVO GERAL	32
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
Capítulo 1 - ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA <i>in vitro</i> DE HORTELÃ EM OVOS DE HELMINTOS GASTROINTESTINAIS DE OVINOS	33
RESUMO:	34
ABSTRACT:	35
INTRODUÇÃO	35
MATERIAIS E MÉTODOS	37
Área de estudo	37
Obtenção do material vegetal	37
Obtenção do extrato salino bruto	38
Teste de eclosão de ovos (TEO)	38
Análise fitoquímica	39
Teste de toxicidade aguda <i>in vitro</i>	40
Análise de dados	39

RESULTADOS	40
<i>Inibição da Eclosão de Ovos</i>	40
<i>Análise Fitoquímica</i>	41
<i>Toxicidade aguda in vitro</i>	41
DISCUSSÃO	41
CONCLUSÃO.....	43
AGRADECIMENTOS	44
REFERÊNCIAS	44
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
REFERÊNCIAS	49

1. INTRODUÇÃO

As espécies ovinas foram inseridas no Brasil a partir de 1556, sendo umas das primeiras a serem domesticadas pelo homem, com a finalidade de produção de lã, carne e leite (DECKER; FERNANDES; GOMES, 2016). Em 2017, estimou-se em torno de 13 milhões de animais no rebanho ovino no Brasil (IBGE, 2017). A carne ovina vem ganhando espaço no agronegócio brasileiro, com um crescimento de 11,2 % entre o período de 2000-2010 com perspectivas para uma expansão de 32,5% até 2020 (PANZIERA *et al*, 2018).

Para os pequenos ruminantes como os ovinos, o pasto é a opção mais abundante de alimentação devido ao seu menor custo de produção. Entretanto, essa fonte de alimentação, devido a falhas de manejo, proporciona uma maior infecção desses animais por helmintos gastrointestinais (VIEIRA *et al*, 2018). Dentre os principais parasitos gastrointestinais de ovinos pode-se citar os gêneros *Haemonchus* sp., *Trichostrongylus* sp., *Strongyloides* sp. e a espécie *Oesophagostomum columbianum* (AFONSO *et al*, 2013).

O parasitismo por helmintos resulta em queda de produtividade, elevação da taxa de mortalidade, e maior custo com fármacos antiparasitários. Contudo, a utilização indiscriminada desses medicamentos, favoreceu a resistência múltipla parasitária elevando assim a quantidade de uso de fármacos químicos (SCZESNY-MORAES *et al.*, 2010; FORTES; MOLENTO, 2013).

A elevação do uso dos anti-helmínticos químicos acarreta o aumento da contaminação ambiental através dos descartes inadequados de embalagens plásticas e excreção de medicamentos nas fezes, contendo resíduos químicos, que contaminam o ambiente (COOKE; MORGAN; DUNGAIT, 2017) Além de que, o uso exagerado bem como indevido e a falta de respeito dos períodos de carência, podem promover a presença de uma quantidade de resíduos que ultrapassa os limites estabelecidos para alimentos de origem animal, podendo dessa forma, representar um risco para o consumidor (CASELANI, 2014; TARTARINE *et al*, 2018). A ivermectina é um dos anti-helmínticos encontrados com maior frequência na forma de resíduo. No trabalho realizado por Moreno *et al* (2008) foi detectado resíduos de ivermectina acima do valor estabelecido em carnes de ovinos.

Uma alternativa viável para o controle das helmintoses, pode ser a utilização de fitoterápicos com ação antiparasitária (QI *et al*, 2015), nas mais distintas formulações como: extratos vegetais, decoctos e óleos essenciais que podem apresentar efeito anti-helmíntico promissor (RIBEIRO *et al*, 2017; ANDRÉ *et al*, 2018; FERREIRA *et al*, 2019).

A espécie *Mentha spicata* L. popularmente denominada hortelã é pertencente à família Lamiaceae. As plantas desta família são uma rica fonte de polifenóis e, portanto, possui fortes propriedades antioxidantes. A hortelã é nativa do norte da Inglaterra sendo cultivada em áreas com clima variando de tropical à temperado, como América, Europa, China, África do Sul e Brasil. Atualmente, a hortelã é amplamente cultivada em todas as regiões do mundo (KEE; SHORI; BABA, 2017). É relatado que *M. spicata* possui atividade antioxidante devido à presença de ácidos fenólicos, flavonóides, carvona e ácido ascórbico em suas folhas. As atividades biológicas desta também incluem anti-inflamatória, antimicrobiana, antiparasitária, ansiolítica, broncodilatadora e analgésica, sendo estas atribuídas à alta concentração do composto carvona (BISWAS; CHATLI; SAHOO, 2012; MENEZES *et al*, 2012; PAULI *et al*, 2018).

Diante da problemática, o desenvolvimento de novas formas de controle fundamentado na utilização de plantas medicinais como alternativa sustentável e viável se faz necessário para o combate à infecção por helmintos gastrointestinais, bem como controlar a resistência múltipla parasitária em ovinos, redução da contaminação ambiental. Tendo em vista um retorno direto à sociedade, oferecendo segurança no produto para o consumidor. Dessa forma, a pesquisa teve por objetivo avaliar atividade ovicida *in vitro* de folhas de *Mentha spicata* L. em helmintos gastrointestinais de ovinos.

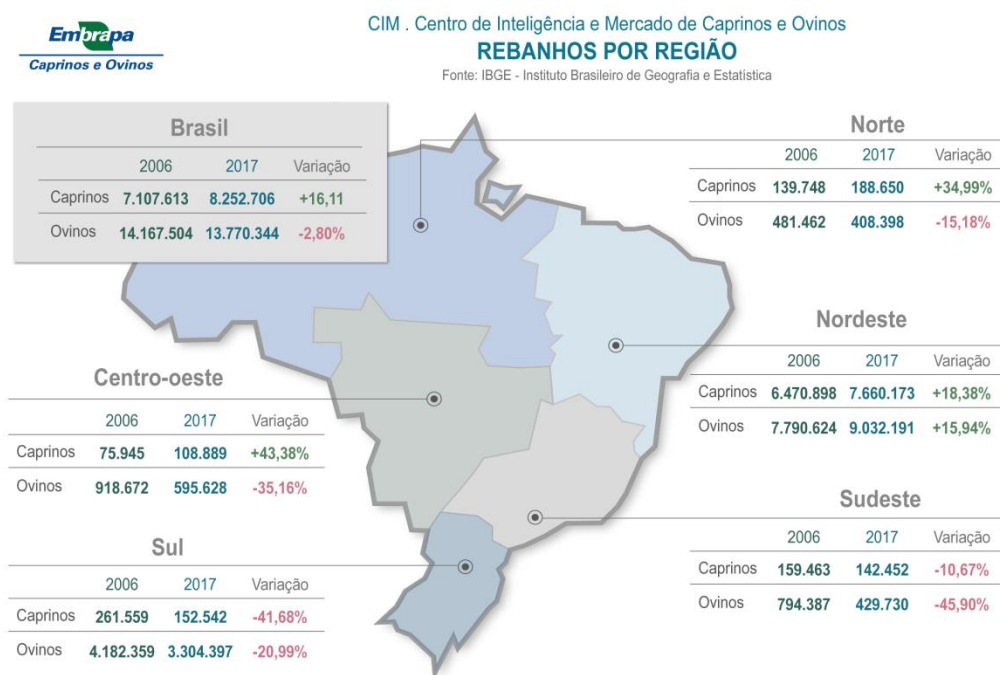
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 A OVINOCULTURA NO BRASIL

A ovinocultura tem importância social e econômica no Brasil, principalmente no Nordeste e Sul, e requer medidas de manejo adequadas para desenvolvimento e consolidação como atividade produtiva de mercado. A carne ovina deixou de ser um produto apreciado apenas no meio rural do dessas duas regiões, se difundindo para consumidores dos centros urbanos e de outras regiões brasileiras (LIMA *et al.* 2010).

No Brasil o número de cabeças no rebanho ovino foi em torno de 13 milhões no ano de 2017, onde a região Nordeste foi a que mais contribuiu para este índice sendo a única região do país a ter crescimento de rebanho entre o censo de 2006 e 2017 passando de 7,8 milhões para 9 milhões, respectivamente, com taxa de crescimento aproximadamente de 15,94%. (IBGE, 2017) (Figura 1).

Figura 1- Quantidades de animais de rebanhos caprinos e ovinos por regiões no Brasil segundo o Censo do IBGE do ano 2006 e 2017.



Fonte: Embrapa

Dentre as principais limitações da criação ovina estão as parasitoses, que podem causar perda de peso, quadros de anemia, diminuição do potencial produtivo e reprodutivo, podendo impactar diretamente na produção animal, associado ao sistema de manejo que influencia diretamente nas enfermidades (LIMA *et al.* 2010).

O tipo de sistema de manejo das pastagens pode influenciar diretamente nessas enfermidades e ser um fator de impacto na produção animal. No sistema de pastejo rotacionado irrigado, a alta lotação animal pode ser um problema para a produção, pois aumenta a incidência das helmintoses gastrintestinais que são difíceis de controlar, principalmente na época da chuva, quando se recomenda, inclusive, a retirada dos ovinos dos piquetes por causa da alta reinfecção parasitária (VOLTOLINI, 2011).

Outro fator que não tem sido avaliado adequadamente é a utilização frequente de anti-helmínticos nos sistemas rotacionados no Brasil, pois sem um manejo correto e sem conhecer a susceptibilidade dos helmintos às diferentes drogas leva-se rapidamente à um quadro de resistência, o que contribui para a inviabilização do sistema (TORRES-ACOSTA *et al.* 2012; RIET-CORREA *et al.* 2013)

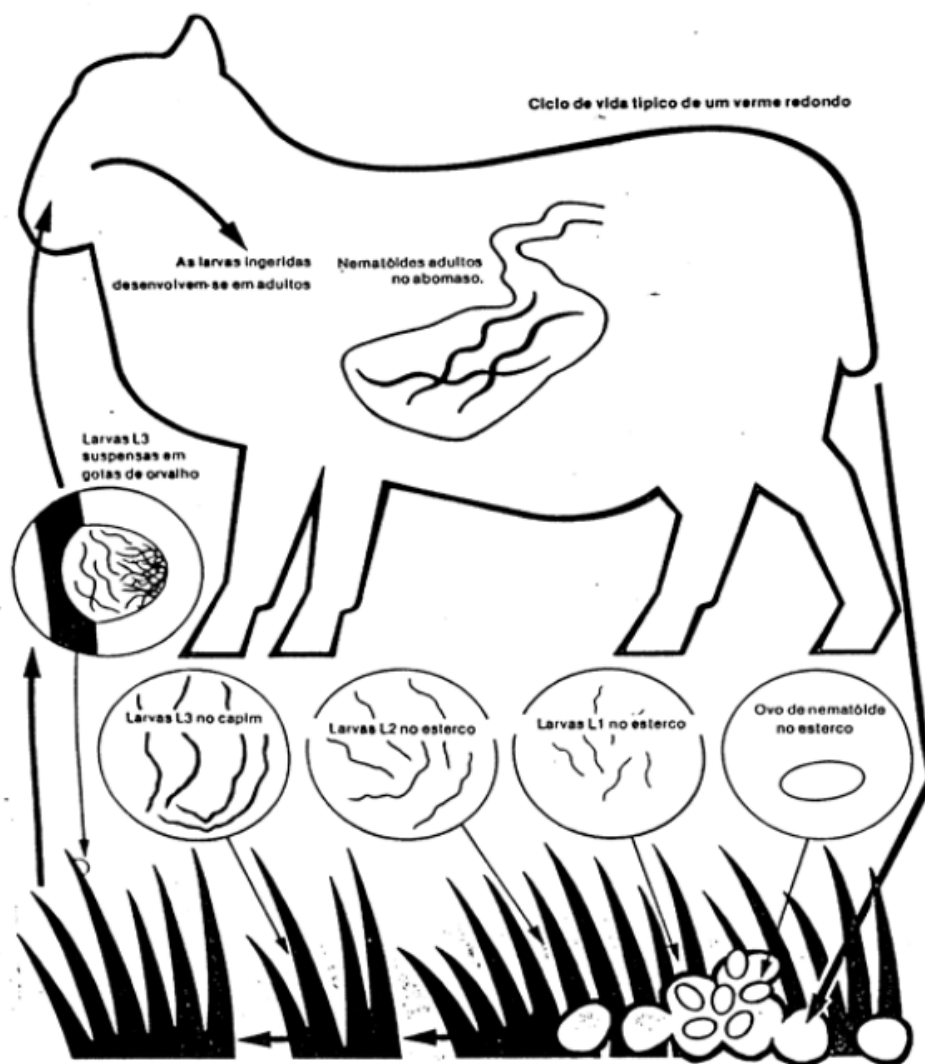
2.2 CICLO BIOLÓGICO E PRINCIPAIS PARASITOS DE OVINOS

O termo “helminto” deriva do grego *helmins* e *helminthos* que significa vermes, sendo o grupo de parasitos mais numeroso em animais. Os helmintos podem ser de vida parasitária, classificados como endoparasitos (NEVES *et al.*, 2016).

Os nematoides gastrintestinais têm seu ciclo biológico constituído de uma fase de vida livre, ocorrendo no ambiente, e uma fase de vida parasitária que se desenvolve no interior do animal. A primeira fase inicia-se com a eliminação de ovos nas fezes. No ambiente (pastagem), os ovos tornam-se embrionados eclodindo a L1 (larva de primeiro estágio). Esta por sua vez, transforma-se em L2 e evolui para L3, a forma infectante. De acordo com as condições ambientais (umidade e temperatura), o período desde a liberação do ovo até L3 leva em torno de 5-10 dias. A forma infectante migra das fezes para a pastagem, onde acaba sendo ingerida pelos animais, iniciando-se a fase parasitária. As larvas alcançam o abomaso ou o intestino onde se desenvolvem para o L4. Em seguida, atingem o estágio adulto no órgão parasitado e, após a reprodução, as fêmeas iniciam a ovipostura (YOSHIHARA; MINHO; YAMAMURA, 2013) (Figura 2).

Dentre os nematoides gastrointestinais, os gêneros *Haemonchus* sp., *Trichostrongylus* sp., *Strongyloides* sp. e a espécie *Oesophagostomum columbianum* são os mais prevalentes em pequenos ruminantes (AMARANTE *et al.*, 2014).

Figura 2: Ciclo Biológico de nematódeo gastrointestinal em ovinos.



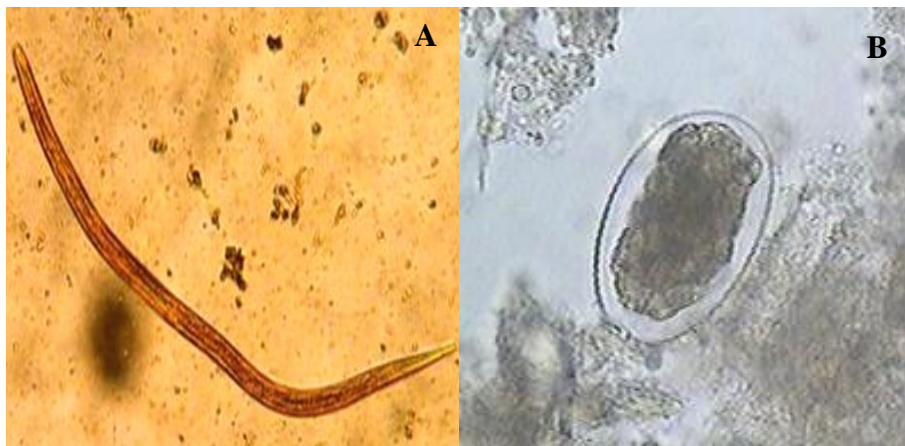
Fonte: ROBERTO *et al.*, 2018.

2.2.1 *Strongyloides* sp.

Strongyloides sp. são pequenos parasitos intestinais que pertencem a classe Nematoda com aproximadamente 60 espécies. Parasitam principalmente a região do duodeno de mamíferos, incluindo o ser humano e animais domésticos, como cães, gatos, gado, ovelhas, cabras e cavalos (CARDIA *et al.*, 2016). Somente as fêmeas são parasitos e em sua fase adulta produzem ovos pelo processo de partenogênese. Inseridas na mucosa intestinal do duodeno, estas causam distúrbios gastrointestinais aos hospedeiros como cólicas e diarreias. A infecção ocorre principalmente por penetração

ativa de larvas, no estágio infeccioso, na pele, presentes no meio ambiente ou pela ingestão de alimentos contaminados com seus ovos e larvas (Figura 3) (TAYLOR *et al.*, 2010; THAMSBORG *et al.*, 2016).

Figura 3: Estruturas parasitárias; A – Larva *Strongyloides* sp; B – Ovo de *Strongyloides* sp.



Fonte: Atlas de parasitologia

2.2.2 *Haemonchus* sp.

O nematódeo do gênero *Haemonchus* sp. tem como habitat o abomaso de pequenos ruminantes, apresentando 1-2,5 cm de comprimento. Este parasito pertence ao Filo Nematelminthes, Classe Nematoda, ordem Strongylida, Família Trichostrongylidae, tendo como espécie principal *Haemonchus contortus* (Figura 4) (CLIMENI *et al.*, 2008). *Haemonchus* sp. causa uma patologia parasitária importante, a hemoncose, com grande susceptibilidade em caprinos e ovinos. Este parasito é hematófago e os sintomas característicos que seus hospedeiros apresentam são anemia e hipoproteinemia, que podem resultar na morte dos mesmos (ENDO *et al.*, 2014).

A espécie *Haemonchus contortus* é considerada como o principal parasito gastrointestinal de ovinos, com alto grau de patogenicidade, acarretando sérios prejuízos econômicos na ovinocultura mundial (AFONSO *et al.*, 2013). Além disso, esse helminto pode parasitar todas as faixas etárias do animal, comprometendo não apenas o desenvolvimento corporal, mas também interferindo na qualidade de seus produtos e subprodutos (DIAS *et al.*, 2018).

Figura 4: Larva e ovos de *Haemonchus contortus* identificadas através de um novo teste baseado em uma aglutinina de amendoim que se liga aos ovos do parasita sendo visualizada com um microscópio de fluorescência.



Fonte: Oregon State University

2.2.3 *Trichostrongylus* sp.

Gênero pertence à Classe Nematoda, frequente e patogênico em animais de pastoreio. As espécies *Trichostrongylus axei* e *Trichostrongylus colubriformis* (Figura 5) se encontram nas regiões do abomaso e do intestino delgado, respectivamente, sendo as causas mais importantes de enterite parasitária e provocando diarreia prolongada, fraqueza, podendo levar à queda de produção e morte, dependendo do nível de parasitismo (OLOUNLADÉ *et al*, 2017).

Este nematoide se encontra presente em, basicamente, todos os sistemas de produção de pequenos ruminantes. Quando comparado com o gênero *Haemonchus* sp., os que se encontram na fase de vida livre tendem a ser mais resistentes a dessecação e ao frio, dificultando o controle ambiental do mesmo (ROBERTO *et al*, 2018).

Figura 5: Larva na fase infectante de *Trichostrongylus colubriformis* obtido através de coprocultura de fezes de caprinos.

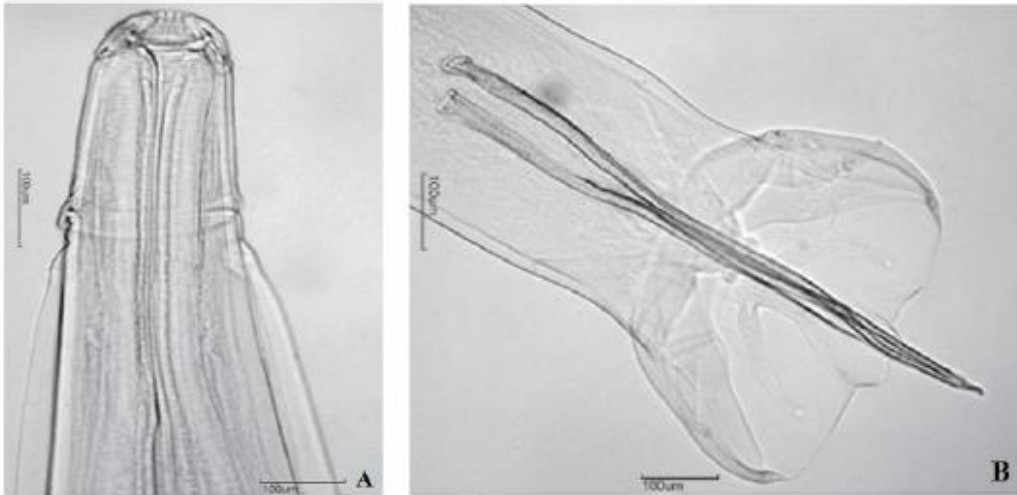


Fonte: BARBOSA, 2019

2.2.4 *Oesophagostomum columbianum*

O parasito *Oesophagostomum columbianum* (Figura 6) está incluso na classe Nematoda, sendo o seu habitat o intestino delgado e grosso de pequenos ruminantes. Sua presença ocasiona resposta inflamatória com formação de nódulos visíveis a olho nu, sendo estes contaminados por bactérias, deixando o intestino impróprio para comercialização e processamento, como pele de linguiça e material cirúrgico para sutura. Outros sinais clínicos observados são úlceras na mucosa, diarreias intensas e esverdeadas, chegando a ser sanguinolentas, bem como apatia e anorexia, prostração e até mesmo morte em animais jovens. Essas enfermidades podem levar a um quadro crônico causando efeitos negativos sobre a produção de carne e lã (NWOSU *et al*, 2011; ENDO *et al*, 2014; ROBERTO, *et al* 2018).

Figura 6: *Oesophagostomum columbianum*. A- Visualização da extremidade anterior; B- Visualização da extremidade posterior.



Fonte: AMARANTE, 2014

2.3 CONTROLE QUÍMICO E A RESISTÊNCIA PARASITÁRIA

Nematoides gastrointestinais (GINs) estão relacionados com o comprometimento do bem-estar e da sanidade animal gerando perdas econômicas para a produção, sendo o seu controle realizado convencionalmente com anti-helmínticos sintéticos e semissintéticos há vários anos. No Brasil, a comercialização desses fármacos gira em torno de 600 milhões de dólares (MELO *et al.*, 2015). Dentre os princípios ativos utilizados, pode-se citar os benzimidazóis, avermectinas e imidazotiazóis. (GAUDIN *et al.*, 2016).

Os benzimidazóis estão disponíveis no mercado desde 1961, considerados de amplo espectro, eficazes e seguros, que tem como alvo as larvas e adultos de parasitos em diferentes mamíferos domésticos (CHASSAING *et al.*, 2008). Seu mecanismo de ação baseia-se em causar lesões às células parasitárias impedindo a dimerização com a α -tubulina afetando os microtúbulos e interrompendo a distribuição de vesículas na célula (LIMA *et al.*, 2010). Além disso, atua inibindo a enzima fumarato redutase, que por sua vez, altera o mecanismo de produção de energia para o metabolismo do parasito (MELO *et al.*, 2015). O Albendazol e Fenbendazol são exemplos de medicamentos à base de benzimidazóis utilizados no tratamento de pequenos ruminantes. Atualmente, o

Albendazol é aprovado apenas para uso em GINs de ovinos, enquanto que o Fenbendazol é aprovado apenas para cabras (ZAJAC; GARZA, 2020).

As avermectinas estão no mercado desde os anos 70 e são produzidas através do processo de fermentação realizado pela bactéria *Streptomyces avermitilis* (CEZAR *et al.*, 2010). Apresentam ação sobre parasitos adultos e imaturos gastrintestinais e pulmonares de ruminantes, equinos, suínos e caninos, sendo a Ivermectina o principal fármaco utilizado no tratamento de ovinos. Seu mecanismo de ação consiste em potencializar a ação inibidora neuronal no cordão nervoso ventral dos parasitos. Estes medicamentos atuam como agonista de alta afinidade sobre a subunidade α de canais iônicos seletivos ao cloro presentes no parasito. Nos invertebrados, o ligante a estes canais iônicos é o glutamato, sendo os receptores denominados GluCl. O canal de cloro é aberto, elevando a condução intracelular do neurotransmissor, alterando a membrana do neurônio, hiperpolarizando-a, resultando na paralisia motora do tipo flácida e eliminação do parasito. Os compostos desta classe podem interagir com canais de Cl⁻ mediados por outros neurotransmissores, como o ácido gama-aminobutírico (GABA) (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2011; LIFSCHITZ; LANUSSE; ALVAREZ, 2017).

Os imidazotiazóis penetram no parasito através da cutícula, atuando seletivamente como agonistas colinérgicos sobre os receptores nicotínicos sinápticos e extrassinápticos das membranas das células musculares dos nematóides. Isto induz a abertura dos canais iônicos, elevando a condução de sódio e a despolarização da membrana, gerando a contração muscular e paralisia espástica dos parasitos, que por sua vez, são eliminados do pulmão por meio do muco brônquico e do trato intestinal junto com as fezes, em torno de 24 a 36 h após o tratamento. Os fármacos desse grupo aprovados para uso em pequenos ruminantes incluem levamisol e morantel. O levamisol possui ação sobre estágios adultos e imaturos em desenvolvimento de nematódeos gastrintestinais e pulmonares de ruminantes, suínos, equinos e aves, não sendo ovicida (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2011; SPRENGER *et al.*, 2013; ZAJAC; GARZA, 2020).

Contudo, o uso inadequado dessas drogas favoreceu a seleção de populações de helmintos resistentes e multirresistentes em diferentes regiões do mundo (KOTZE; PRICHARD, 2016). Segundo Coles *et al* (2006) a resistência anti-helmíntica é verificada quando um determinado princípio ativo, que apresentava redução da carga parasitária acima de 95 %, tem seu efeito diminuído para níveis inferiores a este valor

no combate ao mesmo organismo após determinado período de uso. Isto ocorre devido ao uso contínuo e indiscriminado de um determinado princípio ativo que acaba por selecionar, na população alvo, indivíduos resistentes que conseguem sobreviver ao tratamento e, ao reproduzirem-se, geram descendentes resistentes. Quando esses indivíduos se tornam mais numerosos na população alvo, o medicamento começa a perder a eficácia e por consequência não consegue atingir a mortalidade esperada (FORTES; MOLENTO, 2013; IDRIS; WINTOLA; AFOLAYAN, 2019)

A dispersão da resistência anti-helmíntica e o desenvolvimento de novas moléculas com ação antiparasitária culminaram na busca por alternativas de controle que sejam sustentáveis e ecologicamente corretas. Como exemplos dessas alternativas de controle salienta-se o manejo de pastagem e nutrição com suplementação de minerais e vitaminas, controle biológico, seleção genética de animais resistentes aos nematoides e a fitoterapia (BESIER *et al.*, 2016; GAÍNZA *et al.*, 2016).

2.4 MÉTODOS ALTERNATIVOS DE CONTROLE

2.4.1 Manejo de pastagem e nutrição dos animais

Estudos comprovam que em um rebanho de ovinos, menos de 5% da população parasitária encontra-se no trato gastrointestinal dos animais, enquanto o mais de 95% encontra-se ainda nas pastagens. Essa ocorrência apresenta efeitos negativos, aumentando os custos de produção, por exigir maior número de vermifugação por anti-helmínticos químicos, gerando por consequência a produção de carcaças com maior nível de resíduos químicos (DAVI *et al.*, 2007).

Visando esta problemática, se torna necessária à adoção da união de práticas de manejo em um sistema de produção de pequenos ruminantes como a aplicação de um sistema de pastejo rotacionado, que consiste na divisão da área de pastagem em piquetes que recebem elevada densidade animal por curtos períodos, descontaminação prévia das pastagens e pastejo com alternância de categorias (faixas etárias) e/ou espécies de hospedeiros, onde há a competição entre jovens e adultos pela ingestão de larvas infectantes, diminuindo assim o nível de infecção para cada e o fato de que os adultos que já se encontram expostos à mais tempo aos parasitos apresentam maior imunidade, eliminando altos volumes fecais com baixa contagem de Ovos por Gramas (OPG), o que por consequência reduz a concentração de larvas na pastagem. Porém, a adoção desses métodos pode atrapalhar o desenvolvimento da resposta imunológica,

principalmente nos grupos mais susceptíveis, devido a falta de contato suficiente com os agentes infecciosos (CEZAR; CATTO; BIANCHIN, 2008).

A nutrição dos animais é de grande importância tendo relação de proporcionalidade entre a qualidade da dieta e a imunidade dos animais aos nematoides gastrintestinais. Uma alimentação de maior qualidade e níveis proteicos acrescentados na dieta reflete no nível de infecção de nematoides, bem como na apresentação de sintomas por parte do hospedeiro. Animais bem nutridos, ainda que portadores de helmintos, podem não apresentar sinais clínicos e diminuição significativa do peso (DORIGON; GAI, 2016).

Em trabalho realizado por Veloso *et al* (2004) foi demonstrado que o grupo de ovinos não vermifugados, com uma suplementação com alto teor de proteína (APn) composta por 30 % de farelo de soja, 20 % de farelo de trigo, 46 % de milho e 4 % de minerais e vitaminas, inseridas em sua dieta, teve como resultado, valores inferiores de OPG quando comparados aos do grupo com suplementação de baixo teor de proteína (BPn). Durante a estação chuvosa o grupo com APn apresentou valores de OPG inferiores a 400, consideravelmente baixo.

Contudo, o gerenciamento do equilíbrio nutricional da dieta pode ser dificultado, principalmente pelas condições ambientais locais como durante o período anual de seca, onde a qualidade e quantidade disponíveis de forragem apresentam-se limitadas (VELOSO *et al*, 2004).

2.4.2 Controle biológico

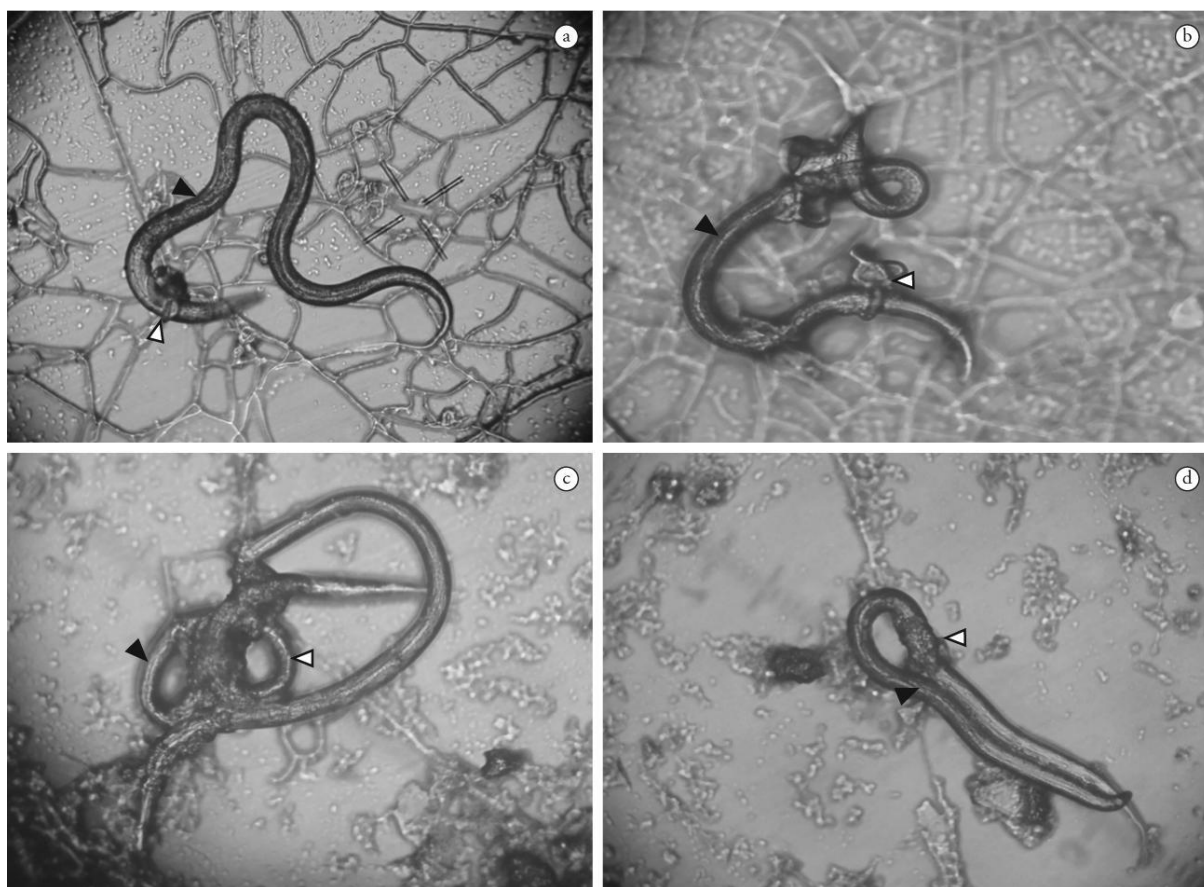
O controle biológico incide no uso de antagonistas naturais que irão atuar sobre os helmintos, com o intuito de manter a infecção animal em nível aceitável economicamente. Comumente, sua ação principal ocorre pela diminuição da fonte de infecção, nesse caso a diminuição de larvas L3 nas pastagens. Alguns controles visam à diminuição do estabelecimento da infecção parasitária no animal hospedeiro (SERRA, *et al* 2017).

Os fungos nematófagos predadores como as espécies *Duddingtonia flagrans* e o *Monacrosporium thaumasium*, destacam-se entre os controles biológicos em desenvolvimento no Brasil. A ação desses agentes biológicos tem como foco principal o ambiente fecal combatendo as larvas nele presentes (Figura 7). O *D. flagrans* é a espécie mais pesquisada e com potencial para utilização em controle alternativo de

nematóides gastrintestinais de ovinos (SILVA *et al*, 2013). Segundo Silva *et al*. (2009) a espécie *D. flagrans* foi utilizada e avaliada em forma peletizada em matriz de alginato de sódio sendo administrado em ovinos na dosagem de 2 g/10 kg de peso vivo, duas vezes por semana, durante cinco meses, obtendo redução de 71,6% no número de OPG dos animais tratados.

Contudo, se torna necessária a garantia da ausência de efeitos nocivos para permitir a comercialização destes fungos, sendo estes isentos de impactos ambientais, por exemplo, aos nematódeos de solo e invertebrados não patogênicos. Mesmo que o emprego dos fungos nematófagos seja viável em sistemas comerciais dirigidos por fazendeiros, a forma de administração, sendo em curtos intervalos por via oral, atrapalha o manejo em sistemas de produção que não prevejam suplementação alimentar diária dos animais (CEZAR; CATTO; BIANCHIN, 2008).

Figura 7: a-d) Larvas infectadas capturadas por fungos nematófagos das espécies *Duddingtonia flagrans* (AC001 e CG722) e *Monacrosporium thaumasium* (NF34) (seta branca) em placas de Petri contendo 2% de ágar-água e formação de armadilhas pelos isolados fúngicos (seta preta).



Fonte: SILVA *et al*, 2013.

2.4.3 Seleção genética de animais resistentes aos nematoides

A seleção genética tende a ser uma prática promissora para o controle de nematoides gastrintestinais de ovinos. Esta tem como finalidade a escolha de animais que possuem características fenotípicas desejadas, visando modificar a genética de populações posteriores, passando a diante essas características (ASSENZA, 2014). A efetivação da escolha para seleção, bem como cruzamentos bem-sucedidos desses animais realmente pode ser uma alternativa eficaz para se adquirir uma resistência aos nematoides (MPETILE; DZAMA; CLOETE, 2017).

O desenvolvimento da resistência contra os nematódeos tem sido associado com a resposta mediada por linfócitos Th2, o aumento do número de mastócitos na mucosa, o eosinófilo, a presença de substância inibidoras no muco e o aumento de sua produção e a produção de anticorpos específicos. Essa resistência limita o estabelecimento de larvas infectantes, o desenvolvimento e a fecundidade dos nematódeos ou, até mesmo, a eliminação dos parasitos já instalados no aparelho digestivo (ALLEN; MAIZELS, 2011).

A seleção para resistência demanda, sobretudo, da relação da contagem de Ovos por Grama (OPG) como uma medida indireta para seu sucesso. Contudo, tal metodologia apresenta uma desvantagem associada a irregularidade da passagem de ovos pelo trato digestório, ocasionando, diversas vezes, as amostras de fezes apresentarem-se negativas para ovos, quando na verdade o animal está altamente parasitado. Por isso, na tentativa de evitar este inconveniente, devem ser realizadas mais de uma amostragem e mais de uma análise de OPG por animal para cada coleta, sendo estas dependentes de condições ambientais (AMARILHO-SILVEIRA, *et al* 2015).

2.4.4 Plantas medicinais com ação antiparasitária (Fitoterapia)

O tratamento de doenças a partir da utilização de plantas medicinais ocorre desde a antiguidade. No Brasil, os africanos associavam as plantas medicinais como cerimônia religiosa, já os índios utilizavam-nas em seus rituais para a obtenção da cura e, por meio dos colonizadores europeus e pelos imigrantes chineses e japoneses, houve a disseminação desse costume (PIRES *et al*, 2014; ANDRADE *et al*, 2018).

Estudos etnobotânicos têm sido realizados em várias regiões no Brasil, uma vez que seu território possui uma das floras mais ricas e diversas do planeta. Nesse contexto,

o bioma Caatinga destaca-se tanto por ser constituído de um rico ecossistema com uma vasta variedade de espécies nativas, como também por possuir características que possibilitam a introdução de diversas outras espécies de plantas (GOMES; BANDEIRA, 2012; CORDEIRO; FELIX, 2013), no caso da Hortelã (*Mentha spicata* L.).

Dentre as aplicações das plantas medicinais, as que possuem atividade antiparasitária apresentam-se bastante frequente na população como método de combate e tratamento ao parasitismo. Isso ocorre, pela utilização dessas plantas por parte da comunidade de baixa renda, visto que é mais acessível financeiramente em relação aos antiparasitários comerciais, além apresenta melhor eficácia contra os parasitos resistentes e produzir menores efeitos colaterais (SANTOS-LIMA *et al*, 2016).

Diversas espécies de plantas são conhecidas popularmente pelo seu uso em tratamentos relacionados a parasitos, como a hortelã (*Mentha spicata* L.), hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.), babosa (*Aloe vera* L.), mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.), alecrim (*Lippia thymoides* Mart. & Schauer), capim santo (*Cymbopogon citratus*) e mamona (*Ricinus communis* L.). Essas plantas são comumente citadas em estados do nordeste como Rio Grande do Norte, Bahia, Paraíba, Piauí e Maranhão (VIEIRA; SOUSA; LEMOS, 2015; COELHO *et al* 2016; COSTA; MARINHO, 2016; SANTOS-LIMA *et al* 2016).

As substâncias bioativas dessas plantas são provenientes do que conhecemos como metabolismo secundário. Esses metabólitos são conhecidos por desempenharem uma ação importante na adaptação das plantas aos seus determinados ambientes e também representam uma fonte potencial de substâncias farmacologicamente ativas. Podem-se citar como as principais classes de metabólitos secundários presentes em espécies vegetais os compostos fenólicos ou fenóis, compostos nitrogenados e terpenos ou terpenóides. Dentre os vários metabólicos secundários presentes em plantas, inúmeros resultados de pesquisas sugerem que os taninos são compostos com potencial ação anti-helmíntica (FUMAGALI *et al*, 2008; CUNHA *et al.*, 2016; SANTOS-LIMA *et al* 2016).

2.4.4.1 Hortelã (*Mentha spicata* L.)

Mentha spicata L. é comumente conhecida como hortelã ou hortelã-verde, sendo uma planta aromática pertencente ao gênero *Mentha* sp. e à família Lamiaceae, consumida popularmente sob a forma de chá e adicionada à várias preparações como intensificador de sabor (Figura 8). A *M. spicata* é uma das espécies de hortelã mais

cultivadas no Brasil por ser bem adaptada ao clima subtropical, além de contribuir muito para a economia devido ao seu uso extensivo em alimentos, perfumaria, confeitaria, goma de mascar, pasta de dente, indústria farmacêutica e na produção de óleo essencial (OE). (FEITOSA et al, 2014; CHRYSARGYRIS *et al*, 2017).

Na medicina popular ou terapia médica alternativa a planta é incluída em tratamentos para distúrbios biliares, constipação, cólicas intestinais e espasmos do ducto biliar, da vesícula biliar e do trato gastrointestinal (GI). Dentre suas atividades biológicas pode-se citar atividade antioxidante, antimicrobiana, antiparasitária, ansiolítica, broncodilatadora e analgésica (BISWAS; CHATLI; SAHOO, 2012; MENEZES *et al*, 2012; CHRYSARGYRIS *et al*, 2017; PAULI *et al*, 2018).

As ações bioativas da *M. spicata* podem está relacionada com a presença de metabólicos secundários produzidos pela mesma. A composição fitoquímica do óleo essencial (OE) da hortelã é principalmente constituída por monoterpenos (a classe C10 de isoprenoides) sendo produzidos e armazenados nos tricomas glandulares da folha. Os principais componentes do OE de hortelã são carvona, limoneno, 1,8-cineol (eucaliptol). ANDRÉ *et al*, 2018; NIKŠIĆ *et al*, 2018).

Figura 8: Imagem ilustrativa da espécie *Mentha spicata* L. (hortelã).



Fonte: Google images

Observando o potencial bioativo da Hortelã e levando em consideração sua origem natural, a mesma torna-se alvo de pesquisas visando testar *in vitro* sua ação anti-helmíntica em nematoides de ovinos. O sucesso de sua atividade biológica contra esses agentes infecciosos proporciona redução no uso de medicamentos químicos e por consequência gera controle da resistência parasitária bem como diminuição de impactos ambientais.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar *in vitro* a atividade ovicida do extrato salino bruto das folhas da *Mentha spicata* L. em helmintos gastrointestinais de ovinos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar *in vitro* a atividade ovicida do extrato salino bruto das folhas da espécie *Mentha spicata* L.;
- Avaliar a composição fitoquímica do extrato salino bruto das folhas da espécie *Mentha spicata* L.;
- Avaliar a toxicidade do extrato salino bruto das folhas da espécie *Mentha spicata* L. em bioensaio com *Artemia salina*;

CAPÍTULO 1

**ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA *in vitro* DE HORTELÃ EM OVOS DE
HELMINTOS GASTROINTESTINAIS DE OVINOS.
(Submetido a revista Pesquisa Agropecuária Brasileira – B1 em Ciências
Ambientais)**

**Atividade antiparasitária *in vitro* de Hortelã em ovos de helmintos
gastrointestinais de ovinos.**

***In vitro* antiparasitic activity of Mint in the eggs of gastrointestinal
helminth parasites of sheep.**

Cristina Karine de Oliveira Rebouças^{1*}; José Carlos da Silveira Pereira²; Renata
Cristinne da Silva Felix¹; Tallyson Nogueira Barbosa³; Lidia Mayara da Costa Cruz¹;
João Inácio Lopes Batista¹; Michele Dalvina Correia da Silva¹; Ana Carla Diógenes
Suassuna Bezerra¹.

¹ Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA);

² Universidade do Estado do Rio Grande do Norte – Programa Multicêntrico de Pós-
graduação em Bioquímica e Biologia Molecular.

³ Programa de Pós-graduação em Biotecnologia – UFPel – Pelotas - RS

*Programa de Pós-graduação em Ambiente, Tecnologia e Sociedade pela Universidade
Federal Rural do Semi-árido (mestrado).

RESUMO:

O objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* a atividade anti-helmíntica do extrato salino bruto das folhas de *Mentha spicata* L. em ovos de helmintos gastrintestinais de ovinos. As folhas foram coletadas para preparação do extrato e análise fitoquímica. Para testes *in vitro*, amostras fecais foram coletadas de um pool de 10% de um rebanho ovino naturalmente infectado. Os ovos por grama de fezes foram contados para determinar o nível de infecção, os ovos foram recuperados e o teste de eclosão foi realizado. Para determinar o efeito toxicológico do extrato, foi realizado um bioensaio com *Artemia salina*. O extrato inibiu a eclosão dos ovos em 79%, 78%, 40% e 23% nas concentrações de 80 mg/mL, 40 mg/mL, 20 mg/mL e 10 mg/mL, respectivamente. As concentrações com a melhor atividade ovicida foram de 80 mg/mL e 40 mg/mL, embora 80 mg/mL ser considerada tóxica com uma concentração letal mediana de 59,04 mg/mL, indicando que 40 mg/mL é a concentração mais viável. A análise fitoquímica mostrou que *M. spicata*. contém fenóis, saponinas, esteróides e taninos hidrolisáveis, o que poderia explicar sua atividade ovicida. O uso de *M. spicata*. mostra potencial para o controle de helmintos em ovinos.

Palavras-chave: *Mentha spicata* L.; Ovinocultura; Parasitose; Anti-helmíntico; Fitoterapia.

ABSTRACT:

The objective of this study was to evaluate *in vitro* the anthelmintic activity of the crude saline extract of the leaves of *Mentha spicata* L. in eggs of gastrointestinal helminth parasites of sheep. Leaves were collected for extract preparation and phytochemical analysis. For *in vitro* tests, fecal samples were collected from a sample pool of 10% of a naturally infected sheep herd. The eggs per gram of feces were counted to determine the level of infection, eggs were recovered, and the egg hatch test was carried out. To determine the toxicological effect of the extract, a bioassay with *Artemia salina* was conducted. The extract inhibited the hatching of eggs by 79%, 78%, 40%, and 23% at concentrations of 80 mg/mL, 40 mg/mL, 20 mg/mL, and 10 mg/mL, respectively. The concentrations with the best ovicidal activity were 80 mg/mL and 40 mg/mL, although 80 mg/mL was considered toxic, with a median lethal concentration of 59.04 mg/mL, indicating that 40 mg/mL is the most viable concentration. The phytochemical analysis showed that *M. spicata* contains phenols, saponins, steroids, and hydrolyzable tannins, which could explain its ovicidal activity. The use of *M. spicata* shows potential for the control of helminths in sheep..

Key-words: *Mentha spicata* L.; Sheep farming; Parasitosis; Anthelmintic; Phytotherapy.

INTRODUÇÃO

A ovinocultura tem importância social e econômica no Brasil, principalmente nas regiões Nordeste e Sul. Segundo IBGE (2017) o número de cabeças no rebanho ovino apresenta de aproximadamente 13 milhões, com a região Nordeste em destaque pelo maior crescimento, de 7,8 milhões (2006) para pouco mais de 9 milhões (2017) com taxa de crescimento de 15,94% (IBGE, 2017).

Contudo, o desenvolvimento desses animais pode ser limitado pela presença de parasitos gastrointestinais, que podem ocasionar perda de peso, quadros de anemia, diminuição do potencial produtivo e reprodutivo, com impacto na produção animal (VIEIRA *et al*, 2018). Dentre os principais parasitos gastrointestinais de ovinos pode-se citar os gêneros *Haemonchus* sp., *Trichostrongylus* sp., *Strongyloides* sp. e a espécie *Oesophagostomum columbianum* (AFONSO *et al*, 2013).

Os tratamentos desses parasitos utilizando anti-helmínticos químicos têm apresentado redução em suas taxas de eficiência ao longo dos anos, devido ao seu uso indiscriminado, o que acelera o processo de seleção e resistência dos parasitos a estes quimioterápicos tradicionais (SNYMAN; FISHER, 2019). O controle de helmintos realizado por fármacos químicos possui outras desvantagens, como a possibilidade de ocorrência de resíduos químicos no ambiente, tendo em vista que os anti-helmínticos,

normalmente, não são metabolizados completamente no animal hospedeiro e os resíduos da droga acabam sendo excretados no esterco (COOKE; MORGAN; DUNGAIT, 2017).

Outro fator a ser considerado é a presença de resíduos químicos nos subprodutos derivados desses animais como leite, carne e outros. Isto ocorre devido à falta de orientação na administração de super ou subdoses desses medicamentos, não havendo respeito ao período residual antes do abate, podendo causar problemas de saúde aos consumidores (GIANNETTI *et al.*, 2011; CASELANI, 2014).

Por sua vez, a fitoterapia surge como uma alternativa no controle dos helmintos gastrointestinais de pequenos ruminantes, visando combater os problemas ocasionados pelo uso dos fármacos químicos. Contudo, pesquisas científicas relacionadas à fitoterápicos antiparasitários são escassas, e necessitam que suas atividades sejam cientificamente comprovadas (ANDRADE *et al.*, 2018, FONSECA *et al.*, 2019). Para tanto, existe os testes *in vitro* que permitem comprovação das propriedades antiparasitárias do material vegetal, constituindo uma etapa antecedente à caracterização de compostos ativos presentes, com possibilidade de alternativas para o controle das helmintoses (COSTA *et al.*, 2002; NERY; DUARTE; MARTINS, 2009), validando cientificamente o uso dos fitoterápicos (ROSSATO *et al.*, 2012).

Existe uma diversidade de plantas medicinais conhecidas popularmente por possuírem atividade anti-helmíntica. Entretanto, a eficácia deve ser avaliada, analisando suas disponibilidades regionais e seus prováveis efeitos tóxicos para os animais (SANTOS-LIMA *et al.*, 2016).

A hortelã (*Mentha spicata* L.), pertencente à família Lamiaceae e ao gênero *Mentha* é uma planta aromática e está entre as ervas mais conhecidas para uso na forma de chás, com o propósito de tratar enfermidades como distúrbios gastrointestinais e respiratórios e dores de cabeça (JAIN *et al.*, 2011). Esta espécie é utilizada principalmente para a obtenção de óleo essencial, sendo amplamente empregada como flavorizante, tempero em alimentos, aditivos de produtos de higiene bucal e em formulações farmacêuticas (SANTOS; BREZAN; SERRA, 2013; NIKŠIĆ *et al.*, 2018). Como propriedades científicas da *M. spicata*, pode-se citar: atividade antioxidante, antimicrobiana, antiparasitária, ansiolítica, broncodilatadora e analgésica (BISWAS; CHATLI; SAHOO, 2012; MENEZES *et al.*, 2012; CHRYSARGYRIS *et al.*, 2017; PAULI *et al.*, 2018). No entanto, existem poucos dados sobre os efeitos que *M. spicata* tem sobre os parasitas gastrointestinais em pequenos ruminantes.

Considerando os fatos, se torna necessário a pesquisa de novos métodos de controle baseando-se na utilização de plantas medicinais como alternativa sustentável e viável para controlar a resistência múltipla parasitária em pequenos ruminantes, redução da contaminação ambiental, com intuito de proporcionar um retorno direto a sociedade, oferecendo um produto de consumo mais seguro. Dessa forma, a pesquisa teve por objetivo avaliar atividade antiparasitária *in vitro* de folhas de Hortelã. em ovos de helmintos gastrointestinais de ovinos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Procedimentos experimentais

Todos os procedimentos experimentais foram realizados no Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Doenças Infeccto-Parasitárias da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, na cidade de Mossoró, Brasil. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (número 23091.009318 / 2016-40). Com os experimentos realizados pelos procedimentos recomendados da Comissão de Ética no Uso de Animais. (CEUA).

Área de estudo

O estudo foi realizado no município de Mossoró estado do Rio Grande do Norte, região Nordeste do Brasil, localizado à 05°11'16,8" de latitude sul e 37°20'38,4" de longitude oeste abrangendo uma área de 2.100 km² (Figura 1). O clima da região é tido como semiárido, com duas fases climáticas: uma seca entre junho e janeiro, e uma chuvosa, de fevereiro a maio. A umidade relativa do ar é em torno de 70% e a temperatura média anual de 27,4°C (ARAUJO *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2018). (UFERSA).

Obtenção do material vegetal

A Hortelã (*Mentha spicata* L.) foi adquirida comercialmente em estabelecimentos comerciais do município de Mossoró, estado do Rio Grande do Norte, seguida de transporte para laboratório, onde foram submetidas à metodologia de preparação de extrato. A identificação taxonômica da espécie foi realizada pelo Herbário Dárdano de Andrade-Lima, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA, onde obteve-se uma exsicata número 15.001 MOSS.

Obtenção do extrato salino bruto

As folhas da planta foram lavadas e submetidas à secagem, por meio de estufa a uma temperatura ambiente (35°C) e posteriormente trituradas para obtenção do pó. Em seguida o material obtido foi submetido à extração a 10% (p/v) em solução de NaCl 0,15M, por meio de agitação à 16 horas, filtrado e centrifugado a 8.000 rpm, por 20 minutos a 4°C para obtenção do extrato salino bruto. Ao final foram preparadas a partir do extrato bruto, diluições seriadas para obtenção das concentrações de 10% (80 mg/mL), 5% (40 mg/mL), 2,5% (20 mg/mL) e 1,25% (10 mg/mL) (NELSON; COX, 2014).

Teste de eclosão de ovos (TEO)

As coletas das amostras fecais foram realizadas em rebanhos sem utilização de antiparasitário totalizando mensalmente cinco coletas. Inicialmente realizou-se a contagem de ovos por grama de fezes para verificar a infecção parasitária (GORDON; WHITLOCK, 1939). As culturas fecais foram incubadas por sete dias para isolar os nematóides e identificá-los ao nível de gênero (UENO & GONÇALVES, 1998). Os gêneros identificados foram *Haemonchus*, *Trichostrongylus* e *Strongyloides*. Após a verificação da infecção parasitária foi realizada a recuperação de ovos de acordo com a metodologia de Hubert e Kerboeuf (1992), onde as fezes passaram por uma sequência de peneiras contendo aberturas de 0,15, 0,10, 0,036 e 0,02 milímetro para retenção dos ovos. O líquido obtido ao final deste processo foi distribuído em tubos de falcon, centrifugado (4.000 rpm por 5 minutos), com o sobrenadante desprezado, e ao precipitado adicionado solução hipersaturada salina, seguido de centrifugação nas mesmas condições e peneira de 0,02 mm.

Os ovos recuperados foram utilizados para avaliação da atividade antiparasitária do extrato salino bruto da *M. spicata* L. pelo Teste de Eclosão de Ovos (TEO) segundo a metodologia de Coles e colaboradores (2006). Foram utilizadas placas de 24 poços contendo em média 100 ovos/poço inoculadas com o controle negativo (solução salina 0,15M), controle positivo (Thiabendazol 3,2 µg/mL) e as seguintes concentrações do extrato de *M. spicata*: T1 (80 mg/mL), T2 (40 mg/mL) T3 (20 mg/mL) e o T4 (10 mg/mL). Todos os ensaios *in vitro* foram realizados independentemente em cinco repetições. As placas foram incubadas em B.O.D (Incubadora de Demanda Biológica de Oxigênio) a 25°C por 48 horas.

Análise fitoquímica

A análise da composição fitoquímica do pó de folhas da *M. spicata* L., foi executada segundo a metodologia de Matos (2008), em que os constituintes foram identificados por classes metabólicas. A identificação das classes presentes nas folhas foi realizada pela observação das reações de precipitação, colorimétricas e de fluorescência, indicando a presença ou ausência dos mesmos. Para tanto, foram realizadas as reações para identificação de cumarinas (Teste de Fluorescência), fenóis (Reação de Cloreto Férrico), flavonoides (Reação de Cianidina ou Shinoda), antraquinonas (Borträger) núcleos esteroidais (Teste de Liebermann-Burchard), núcleos triterpênicos (Teste de Salkowski), saponinas (Teste de espuma – agitação vigorosa), taninos condensados e taninos hidrolisáveis (Teste de Stiasny), taninos livres (Teste de precipitação por gelatina).

Teste de toxicidade aguda in vitro

A avaliação da toxicidade do extrato salino bruto das folhas da *M. spicata* L. foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Rodriguez *et al* (2012). A eclosão dos ovos de *Artemia salina* ocorreu em uma solução de cultivo contendo 18g de NaCl e 5g NaHCO₃, sob iluminação e aeração constante, incubadas por 48 horas. Dez nauplios eclodidos foram separados e transferidos para placas de 24 poços contendo 100µl de solução de cultivo de *A. salina* e 400µl das concentrações do extrato salino bruto das folhas de *M. spicata* (80 mg/mL, 40 mg/mL, 20 mg/mL, and 10 mg/mL) por poço em quintuplicada. Em seguida, as placas foram incubadas em caixa isotérmica a temperatura ambiente por 24h, sob iluminação e posteriormente realizada a contagem dos nauplios para verificar os mortos e os vivos.

Análise de dados

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Todos os dados da pesquisa foram tabulados em planilha Excel. Para cada grupo experimental, a inibição proporcional da eclosão dos ovos foi determinada pela seguinte fórmula:

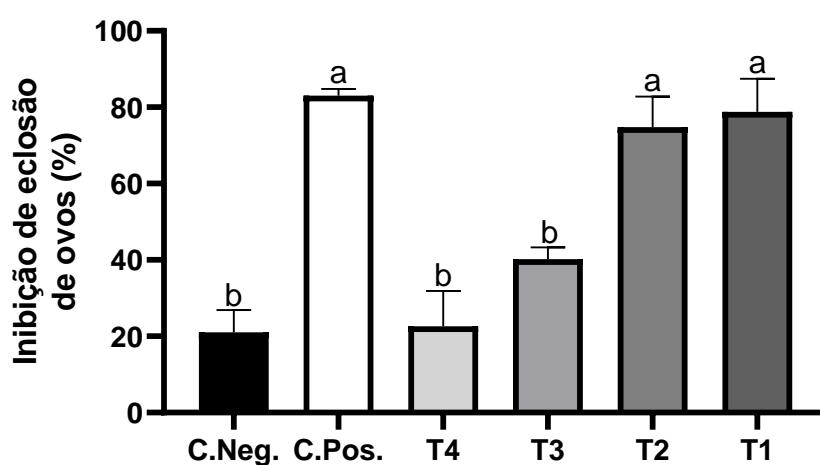
$$\textit{number of first stage larvae} / (\textit{number of eggs} + \textit{number of first stage larvae}) \times 100$$

O teste de Shapiro-Wilk foi aplicado para verificar a normalidade, e a análise de variância seguida do teste de Tukey foi usada para identificar diferenças significativas entre os grupos experimentais. O nível de significância adotado para todos os testes foi de 5%. A concentração letal mediana (CL₅₀) no ensaio toxicológico de *A. salina* foi calculada por regressão não linear. As análises estatísticas foram realizadas com GraphPad Prism, versão 8.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA, EUA, www.graphpad.com).

RESULTADOS

Inibição da Eclosão de Ovos

Os resultados do Teste de Eclosão de Ovos utilizando frações do extrato (80 mg/mL, 40 mg/mL, 20 mg/mL, and 10 mg/mL) de *M. spicata* são demonstrados no gráfico 1. O anti-helmíntico químico Thiabendazol, usado como controle positivo, inibiu a eclosão em 83%, em comparação com 21% para o controle negativo. Para o extrato de *M. spicata*, as taxas de inibição foram mais altas nas concentrações de 80 mg/mL (79%) e 40 mg/mL (78%), que por sua vez, não foram estatisticamente diferentes daquelas observadas para o controle positivo. Porém, os resultados obtidos para as concentrações de 20 mg/mL e 10 mg/mL não apresentaram diferença estatística em comparação com os obtidos para o controle negativo.



* a, b, c, d - Letras diferentes indicam diferença significativa (P < 0,05)

Fonte: Autor da pesquisa

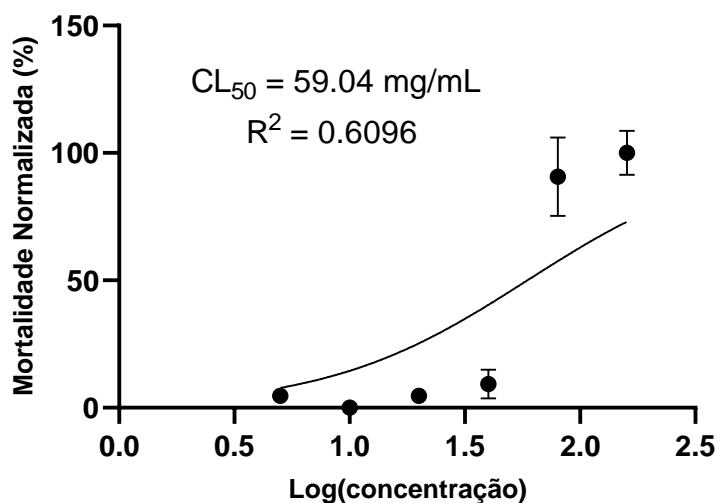
Gráfico 1- Proporção de inibição da eclosão de ovos de helmintos gastrintestinais de ovinos após tratamento com extrato salino bruto das folhas de *Mentha spicata* L. nas concentrações de 80 mg/mL (T1), 40 mg/mL (T2), 20 mg/mL (T3) e 10 mg/mL (T4), bem como com um controle negativo (C.Neg: solução salina 0,15 M) e um controle positivo (C.Pos: 3,2 µg/mL de tiabendazol).

Análise Fitoquímica

Com relação à análise da composição fitoquímica do extrato salino bruto das folhas de *M. spicata* L. verificou-se a presença de fenóis, saponinas, núcleos esteroidais e taninos hidrossolúveis.

Toxicidade aguda in vitro

Os resultados do ensaio de toxicidade com *A. salina* foram demonstrados no Gráfico 2. O extrato salino bruto das folhas de *M. spicata* L. apresentou um CL50 de 59,04 mg/mL ($R^2 = 0.6096$).



Fonte: Autor da pesquisa

Gráfico 2- Representação do efeito toxicológico das concentrações testadas do extrato salino bruto das folhas de *M. spicata* sobre *A. salina*.

DISCUSSÃO

Com relação ao teste de eclosão de ovos, o controle realizado pelo thiabendazol (3,2 µg /mL) apresentou 83% de inibição nos ovos de helmintos de ovinos, o que mostra

um quadro de resistência química parasitária. Segundo estudo realizado por Coles *et al* (2006), sugere-se que uma dose de 0,1 µg/ml de thiabendazol impedirá a eclosão de 99% de ovos das espécies susceptíveis de *H. contortus*, *T. circumcincta* e *Trichostrongylus colubriformis*. Com isso, a pesquisa em questão mostra a redução na eficácia do anti-helmíntico químico após mais de dez anos, mesmo com o aumento da dose administrada.

Os helmintos têm muitas características biológicas e genéticas que favorecem o desenvolvimento de resistência a fármacos, como ciclos de vida curtos, altas taxas de reprodução e tamanhos populacionais extremamente grandes, que combinados permitem aos vermes parasitas um nível excepcionalmente alto de diversidade genética (IDRIS; WINTOLA; AFOLAYAN, 2019; KAPLAN, 2020).

Quanto ao extrato salino bruto das folhas de *Mentha spicata* L. as concentrações de 80 mg/mL e 40 mg/mL apresentaram porcentagens de inibição próximas a do Thiabendazol, podendo ser considerado uma alternativa para o controle de helmintos gastrointestinais e seu uso pode retardar o desenvolvimento de resistência parasitária ao reduzir o uso de anti-helmínticos.

Estudo etnobotânico realizado por Andrade *et al* (2018) mostra que tanto folhas como flores do gênero *Mentha* sp. foram utilizadas no tratamento de verminoses. Já Pauli *et al* (2018) mostra que *Mentha spicata* L. é utilizada comumente pela população no tratamento de parasitoses, bem como outras enfermidades. Almeida *et al* (2007) verificaram que o extrato aquoso de folhas de *M. piperita* L. (115,9 mg/mL⁻¹) apresentou redução superior a 95% do número de larvas infectantes (*in vitro*) de *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus* sp. em caprinos (FENALTI *et al*, 2016). Contudo, é escasso os trabalhos que relatem cientificamente a ação anti-helmíntica da *Mentha spicata* L., principalmente em parasitos de ovinos.

A ação ovicida comprovada na pesquisa pode está relacionada à apresentação de metabólitos secundários: fenóis, saponinas, núcleos esteroidais e taninos hidrossolúveis. Plantas com propriedades anti-helmínticas que possuem metabólitos secundários, como compostos fenólicos (taninos, flavonoides e saponina) são promissoras no combate dos nematóides gastrointestinais, além de atuar como suplemento alimentar com potencial valor nutritivo (SILVA *et al*, 2016).

Taninos são considerados uma extensa fonte natural de compostos fenólicos sendo classificados de forma geral em taninos condensados e taninos hidrossolúveis (LAURICHESSE; AVÉROUS, 2014). O mecanismo de ação pode estar relacionado à

sua afinidade em se ligar às proteínas do parasito, causando alterações nas cutículas, bem como degeneração da musculatura e das células intestinais. Tais injúrias podem reduzir a motilidade do nematóide, devido às alterações metabólicas decorrentes da ruptura estrutural da cutícula. A liberação de ovos pelas fêmeas também pode ser prejudicada pela destruição do seu apêndice reprodutivo (BORGES; BORGES, 2016). Segundo Alonso-Díaz *et al* (2012), o efeito anti-helmíntico dos taninos foi confirmado através do extrato de *Onobrychis viciifolia*, onde verificou inibição de 76,93% da eclosão dos ovos de parasitos gastrintestinais.

As saponinas atuam na integridade da membrana dos helmintos, modificando sua permeabilidade e promovendo a entrada de moléculas por diferença de osmolaridade, ocasionando o processo de formação de vacúolos citoplasmáticos, gerando uma desintegração do tegumento (POOLPERM; JIRAUNGKOORSKUL, 2017) e consequentemente impedindo o desenvolvimento parasitário (GOMES *et al.*, 2016).

O efeito toxicológico das concentrações do extrato foi determinado por meio da Concentração Letal Média (CL₅₀), com valor calculado de (9,04 mg/mL, demonstrando que a concentração de 10% (80 mg/mL) do extrato salino bruto das folhas de *M. spicata*, apresentou-se tóxica para metade da população exposta, enquanto que a concentração de 5% (40 mg/mL) apresentou resultado abaixo do valor da CL₅₀ calculada, sendo a concentração ideal para uso.

Assim, este estudo revelou que *M. spicata* é uma espécie-alvo para o desenvolvimento de uma nova formulação que possui características benéficas, sendo um produto à base de plantas contra nematóides gastrointestinais em ovinos. O extrato apresentou uma concentração eficiente e não tóxica. Contudo, mesmo que modelos de ensaios agudos de toxicidade *in vitro* sejam aceitos e bem vistos, avaliações crônicas de toxicidade tanto *in vitro* como *in vivo* se fazem necessárias para determinar a confiança dos resultados.

CONCLUSÃO

O extrato salino das folhas de *M. spicata* parece inibir a eclosão de ovos de helmintos gastrointestinais em ovinos. Isso torna a planta uma possível fonte de tratamento alternativo para o controle de helmintos gastrointestinais. Seu uso pode reduzir a resistência do parasito aos medicamentos, bem como evitar os impactos ambientais do uso de anti-helmínticos.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho teve apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) durante toda a sua execução. Para tanto, nossos sinceros agradecimentos.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, V. A. C. *et al.* Supplementation with protected fat to manage gastrointestinal nematode infection in Santa Ines sheep. **Semina. Ciências Agrárias**, v.34, n.3, p.1227-1238. 2013.
- ALMEIDA, M.A.O et al. Efeitos dos extratos aquosos de folhas de *Mentha piperita* L. e de *Chenopodium ambrosoides* L. sobre cultivos de larvas infectantes de nematóides gastrintestinais de caprinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.16, n.1, p.57-59, 2007
- ALONSO-DÍAZ, M. A *et al.* 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.
- ANDRADE, I.C. *et al.* Etnofarmacologia e etnobotânica de plantas medicinais com ação antiparasitária. **Revista Saúde Viva Multidisciplinar da Ajes**, S.l, v. 1, n. 1, p.48-71, 2018.
- ARAÚJO, D.R *et al.* Estudo da área de preservação permanente do rio Mossoró no sítio urbano de Mossoró-RN por meio de técnicas de geoprocessamento. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 2, p. 177-183, 2012.
- BENITEZ, L.B; SILVA, C.M; ALVARES, L.C. Utilização da hortelã-pimenta como agente no controle de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS). **Scientia Plena**, v.12, n.12, p.1-9. 2016.
- BISWAS, A.K.; CHATLI, M.K.; SAHOO, J. Antioxidant potential of curry (*Murraya koenigii* L.) and mint (*Mentha spicata*) leaf extracts and their effect on colour and oxidative stability of raw ground pork meat during refrigeration storage. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 133, n. 2, p.467-472, jul. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.073>.
- BORGES, D.G.L; BORGES, F.A. Plants and their medicinal potential for controlling gastrointestinal nematodes in ruminants. **Nematoda**, v. 3, n. 1, p.1-12, 2016. Editora Cubo. <http://dx.doi.org/10.4322/nematoda.00916>.
- CANSIAN, R. L. *et al.* Toxicity of clove essential oil and its ester eugenyl acetate against *Artemia salina*. **Brazil Journal Biology**, v.77, n.1, p.155-161, 2017.
- CASELANI, K. Resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, Umuarama, v. 17, n. 3, p. 189-197, 2014.

- COOKE, A.S.; MORGAN, E.R.; DUNGAIT, J.A.J. Modelling the impact of targeted anthelmintic treatment of cattle on dung fauna. **Environmental Toxicology And Pharmacology**, v. 55, p.94-98, 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2017.07.012>.
- COLES, G.C. *et al.* The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v.136, p.167-85, 2006.
- COSTA, C.T.C. *et al.* Efeito ovicida de extratos de sementes de *Mangifera indica* L. sobre *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.11, n.2, p.57-60, 2002.
- CHRYSARGYRIS, A *et al.* Antioxidant and antibacterial activities, mineral and essential oil composition of spearmint (*Mentha spicata* L.) affected by the potassium levels. **Industrial Crops & Products**, v. 103, n. 0, p.202-212, abr. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.04.010>
- FENALTI, J.M *et al.* Diversidade das plantas brasileiras com potencial anti-helmíntico. **Vitalle – Revista de Ciências da Saúde**, v.28, p.39-48, 2016.
- FONSECA, R.S. *et al.* Efeitos da torta de neem no controle alternativo de nematoides gastrintestinais em ovinos: Revisão. **PUBVET**, v.13, n.4, a304, p.1-12. 2019.
- GIANNETTI, L. *et al.* Validation study on avermectine residues in foodstuffs. **Analytica Chimica Acta**, [s.l.], v. 700, n. 1-2, p.11-15, 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2010.12.035>.
- GOMES, D. C. *et al.*. *In vitro* anthelmintic activity of the *Zizyphus 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. **Journal of the council for Scientific and Industrial Research**, v.12, n. 1, p. 50-52, 1939.
- HUBERT, J.; KERBOEUF, D. A microlarval development assay for the detection of anthelmintic resistance in sheep nematodes. **Veterinary Record**, v.130, n. 20, p. 442-446, 1992.
- IBGE. 2017. Novo Censo Agropecuário mostra crescimento de efetivo de caprinos e ovinos no Nordeste. Disponível em <<http://www.brasil.gov.br/noticias/economia-e-financas/2018/08/censo-agropecuário-rebanho-caprino-aumentou-16-no-brasil>> Acesso em 20 de Março de 2019.
- IDRIS, O. A.; WINTOLA, O. A.; AFOLAYAN, A. J. Helminthiases; prevalence, transmission, host-parasite interactions, resistance to common synthetic drugs and treatment. **Heliyon**, v. 5, ed. 1, p. 1-29, 2019.
- JAIN, D. *et al.* Evaluation of cytotoxicity and anticarcinogenic potential of *Mentha* leaf extracts. **International Journal of Toxicology**, v. 30, n. 2, p. 225-236. 2011.

KAPLAN, R.M. Biology, Epidemiology, Diagnosis, and Management of Anthelmintic Resistance in Gastrointestinal Nematodes of Livestock. **Veterinary Clinics Of North America: Food Animal Practice**, v. 36, n. 1, p.17-30, 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.12.001>.

LAURICHESSE, S.; AVÉROUS, L. Chemical modification of lignins: towards biobased polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 39, n. 7, p. 1266-1290, 2014.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceara, 2008, p.148.

MENEZES, V.A *et al.* Terapêutica com Plantas Medicinais: Percepção de Profissionais da Estratégia de Saúde da Família de um Município do Agreste Pernambucano. **Odonto**, v.20, n.39, p.111-122, 2012.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed editora LTDA, 2014, 1.250p.

NERY, P.S; DUARTE, E.R; MARTINS, E.R. Eficácia de plantas para o controle de nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes: revisão de estudos publicados. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.11, n.3, p.330-338, 2009.

NIKŠIĆ, H.A *et al.* Chemical characterization, antimicrobial and antioxidant properties of *Mentha spicata* L. (Lamiaceae) essential oil. **Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina**, v.50, p.43-48, 2018.

PAULI, P.T. *et al.* Estudo etnobotânico de plantas medicinais em bairros de Juína, Mato Grosso, Brasil. **Revista Saúde Viva Multidisciplinar da AJES**, v.1, n.1, p.117-156, 2018.

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.

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.

ROSSATO, A.E. (org.) *et al.* **Fitoterapia Racional: aspectos taxonômicos, agroecológicos, etnobotânicos e terapêuticos**. Florianópolis: DIOESC, 2012. 211 p.

SANTOS, G.F; BRENZAN, M.A; SERRA, L.Z. Influência do cultivo na produção de biomassa, teor e composição do óleo essencial de *Mentha spicata*. **SaBios: Revista Saúde e Biologia**, v.8, n.3 p.19-25, 2013

SANTOS-LIMA, T.M. *et al.* Plantas medicinais com ação antiparasitária: conhecimento tradicional na etnia Kantaruré, aldeia Baixa das Pedras, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s.l.], v. 18, n. 11, p.240-247, 2016.

SILVA, J.L *et al.* Forragens taniníferas na produção de caprinos e ovinos. **Revista Archivos de Zootecnia**, v.65, n.252, p.605–614, 2016.

SILVA, M.T.O *et al.* Anthelmintic effect of *Cassia fistula* and *Combretum leprosum* protein fractions against goat gastrointestinal nematodes. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.27, n.2, p.237-241, 2018.

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.

UENO, H; GONÇALVES, P.C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. Tóquio: JICA, 1998. 143 p.

URIBE, E *et al.* Assessment of vacuum-dried peppermint (*Mentha piperita* L.) as a source of natural antioxidants. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 190, p.559-565, 2016.

VIEIRA, V.D. *et al.* Controle de parasitas gastrintestinais em ovinos e análise financeira de uma fazenda com sistema de pastejo rotacionado irrigado no semiárido nordestino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.38, n.5, p.913-919. 2018.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato salino bruto de *M. spicata* apresentou em sua formulação compostos tais como fenóis, saponinas, núcleos esteroidais e taninos hidrossolúveis, sendo considerados bioativos. O extrato apresentou potencial atividade ovicida nas concentrações de 80 mg/ml e 40 mg/ml para helmintos gastrintestinais de ovinos. O teste toxicológico realizado em *Artemia salina* apontou que a concentração de 40 mg/ml não apresentou toxicidade, podendo vir a compor o quadro de tratamentos contra esse tipo de parasitismo.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, V.A.C *et al.* Supplementation with protected fat to manage gastro-intestinal nematode infections in Santa Ines sheep. **Semina: Ciências Agrárias**, v.34, n.3, p.1227-1238. 2013.
- ALLEN, J.E.; MAIZELS, R.M. Diversity and dialogue in immunity to helminths. **Nature Reviews Immunology**, v.11, p.375-388, 2011.
- AMARANTE, A.F.T. **Os Parasitas de ovinos**. São Paulo: Editora UNESP, 263p, 2014.
- ANDRADE, I.C. *et al.* Etnofarmacologia e etnobotânica de plantas medicinais com ação antiparasitária. **Revista Saúde Viva Multidisciplinar da Ajes**, S.1, v. 1, n. 1, p.48-71, 2018.
- ANDRÉ, W.P.P *et al.* Essential Oils and Their Bioactive Compounds in the Control of Gastrointestinal Nematodes of Small Ruminants. **Acta Scientiae Veterinariae**, [s.l.], v. 46, n. 1, p.1-15, 2018.
- ASSENZA, M. F. **Modelling Genetic Selection for Gastrintestinal Parasites Resistance in Small Ruminants**. 2014. 125 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Ecológicas, Veterinárias, Agrícolas e de Bioengenharia (sevab), INP Toulouse, Université de Toulouse, Toulouse, França, 2014.
- BESIER, R.B. *et al.* The pathophysiology, ecology and epidemiology of *Haemonchus contortus* infection in small ruminants. **Advances in Parasitology**. v.93: p.2-39, 2016.
- BISWAS, A.K.; CHATLI, M.K.; SAHOO, J. Antioxidant potential of curry (*Murraya koenigii* L.) and mint (*Mentha spicata*) leaf extracts and their effect on colour and oxidative stability of raw ground pork meat during refrigeration storage. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 133, n. 2, p.467-472, 2012.
- CARDIA, D. F. F. *et al.* First report of *Strongyloides* sp. (Nematoda, Strongyloididae) in *Lutreolina crassicaudata* (Didelphimorphia: Didelphidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 4, p. 884-887, 2016 .
- CEZAR, A.S *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.
- CHARLES, T.P. Seasonal prevalence of gastrointestinal nematodes of goats in Pernambuco state, Brazil, **Veterinary Parasitology**, n. 30, p.335-343,1989.
- CHASSAING, C. *et al.* Highly water-soluble prodrugs of anthelmintic benzimidazole carbamates: synthesis, pharmacodynamics, and pharmacokinetics. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.51, p. 1111-1114, 2008.
- CHRYSARGYRIS, A *et al.* Antioxidant and antibacterial activities, mineral and essential oil composition of spearmint (*Mentha spicata* L.) affected by the potassium levels. **Industrial Crops & Products**, v. 103, n. 0, p.202-212, abr. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.04.010>

CLIMENI, B.S.O *et al.* Hemoncose ovina. **Revista Científica Eletônica de Medicina Veterinária**, v.7, n.11, p.1-7. 2008.

COELHO, M. F. B *et al.* Levantamento etnobotânico das espécies vegetais em quintais de bairro na cidade de Mossoró, Rio Grande do Norte. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, [s.l.], v. 11, n. 4, p.154-162, 2016.

COLES, G.C. *et al.* The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v.136, p.167-85, 2006.

COOKE, A.S.; MORGAN, E.R.; DUNGAIT, J.A.J. Modelling the impact of targeted anthelmintic treatment of cattle on dung fauna. **Environmental Toxicology And Pharmacology**, v. 55, p.94-98, 2017. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2017.07.012>.

CORDEIRO, J.M.P.; FÉLIX, L.P. Conhecimento botânico medicinal sobre espécies vegetais nativas da caatinga e plantas espontâneas no agreste da Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.16, n.3, p.685-692, 2013.

COSTA, J.C.; MARINHO, M.G.V. Etnobotânica de plantas medicinais em duas comunidades do município de Picuí, Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.18, n.1, p.125-134, 2016.

CUNHA, A. L. *et al.* Os metabólitos secundários e sua importância para o organismo. **Diversitas Journal**, v. 1, n. 2, p. 175-181, 2016.

DECKER, S.R.F; FERNANDES, D.A.C; GOMES, M.C. Gestão competitiva na produção de ovinos. **Revista Agropampa**, S.l, v. 1, n. 1, p.113-122, 2016.

DIAS, G.F *et al.* Parasitos gastrintestinais em ovinos de uma propriedade rural do estado do Piauí. **Pubvet**, [s.l.], v. 12, n. 8, p.1-6, 2018.

DORIGON, S; GAI, V.F. Torta de crambe na alimentação de ovinos para o controle de parasitas gastrintestinais. **Revista Cultivando o Saber**, v.9, n.3, p.265-274, 2016.

ENDO, V.T *et al.* Prevalência dos helmintos *Haemonchus contortus* e *Oesophagostomum columbianum* em pequenos ruminantes atendidos no setor de Anatomia Patológica – UEM. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v.1, n.2, p.112-118. 2014.

FEITOSA, R.M. *et al.* Influência do método de extração no teor de óleo essencial de hortelã (*Mentha spicata* L.). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v 9. , n. 4, p. 238 - 241, 2014.

FERREIRA, P. *et al.* *Mentha piperita* essential oil induces apoptosis in yeast associated with both cytosolic and mitochondrial ROS-mediated damage. **FEMS Yeast Research**, v.14, n.7, p. 1006-1014, 2014.

FERREIRA, E.T *et al.* A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos: uma revisão integrativa sobre a atuação do enfermeiro. **Brazilian Journal of health Review**, v. 2, n. 3, p. 1511-1523, 2019.

- 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.
- FUMAGALI, E. et al . Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 627-641, 2008
- GAÍNZA Y.A. et al. *Piper aduncum* against *Haemonchus contortus* isolates: cross resistance and the research of natural bioactive compounds. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.25, n 4, p. 383-393, 2016.
- GAUDIN, E. et al. Efficacy of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) pellets against multi resistant *Haemonchus contortus* and interaction with oral ivermectin: Implications for on-farm control. **Veterinary Parasitology**. v.227: p.122-129, 2016.
- GOMES, T.B.; BANDEIRA, F.P.S.F. Uso e diversidade de plantas em uma comunidade quilombola no Raso da Catarina, Bahia. **Acta Botânica Brasilica**, v.26, n.4, p. 796-809, 2012.
- HASHIMOTO, G. S.O et al. Essential oils of *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* against monogenean parasites and their influence on the hematology of Nile tilapia. **Aquaculture**, [s.l.], v. 450, p.182-186, 2016.
- IBGE. 2017. Novo Censo Agropecuário mostra crescimento de efetivo de caprinos e ovinos no Nordeste. Disponível em <<http://www.brasil.gov.br/noticias/economia-e-financas/2018/08/censo-agropecuario-rebanho-caprino-aumentou-16-no-brasil>> Acesso em 20 de Março de 2019.
- IDRIS, O. A.; WINTOLA, O. A.; AFOLAYAN, A. J. Helminthiasis; prevalence, transmission, host-parasite interactions, resistance to common synthetic drugs and treatment. **Heliyon**, v. 5, ed. 1, p. 1-29, 2019.
- JAIN, D. et al. Evaluation of cytotoxicity and anticarcinogenic potential of *Mentha* leaf extracts. **International Journal of Toxicology**, v. 30, n. 2, p. 225-236. 2011.
- KOTZE A.C. & PRICHARD R.K. Anthelmintic Resistance in *Haemonchus contortus*: History, Mechanisms and Diagnosis. **Advances in Parasitology**. v.93: p.398-420, 2016.
- LIMA, W.C. et al. Nematóides resistentes a alguns anti-helmínticos em rebanhos caprinos no cariri paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.12, p.1002-1009. 2010.
- LIMA, M. M. et al. Eficácia da moxidectina, ivermectina e albendazole contra helmintos gastrintestinais em propriedades de criação caprina e ovina no estado de Pernambuco. **Ciência Animal Brasileira**, v.11, n.1, p. 94-100, 2010.
- LIFSCHITZ, A; LANUSSE, C; ALVAREZ, L. Host pharmacokinetics and drug accumulation of anthelmintics within target helminth parasites of ruminants. **New Zealand Veterinary Journal**, [s.l.], v. 65, n. 4, p.176-184, 26 abr. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/00480169.2017.1317222>.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental. Fortaleza:** Universidade Federal do Ceara, 2008, p.148.

MELO, V.F.P *et al.* Manejo de anti-helmínticos no controle de infecções gastrintestinais em cabras. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, [s.l.], v. 16, n. 4, p.916-924, 2015.

MENEZES, V.A *et al.* Terapêutica com Plantas Medicinais: Percepção de Profissionais da Estratégia de Saúde da Família de um Município do Agreste Pernambucano. **Odonto**, v.20, n.39, p.111-122, 2012.

MORENO, L. et al. Pattern of ivermectin (sheep) and doramectin (cattle) residues in muscular tissue from various anatomical locations. **Food Additives and Contaminants, London**, v. 25, n. 4, p. 406-412, 2008.

MPETILE, Z.; DZAMA, K.; CLOETE, S.W.P. Genetic variation in and relationships among faecal worm eggs recorded in different seasons of the year at the Tygerhoek farm in South Africa. **Journal Of The South African Veterinary Association**, v.88, p. 1-7, 2017. doi: 10.4102/jsava.v88i0.1484

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed editora LTDA, 2014, 1.250p.

NEVES, D.P.; MELO, A.L.; LINARDI, P.M.; VITOR, R.W.A. **Parasitologia Humana**, 13ª Ed., Rio de Janeiro: Atheneu, 2016, 264p.

NIKŠIĆ, H.A et al. Chemical characterization, antimicrobial and antioxidant properties of *Mentha spicata* L. (Lamiaceae) essential oil. **Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina**, v.50, p.43-48, 2018.

NWOSU, C. O. E. D. *et al.* Infection of *Oesophagostomum columbianum* in small ruminants of the Nigerian Sahel Region and its economic importance. **Nigerian Veterinary Journal**, v.32, n.3, p.162-168, 2011.

OLOUNLADÉ, P.A *et al.* *In vitro* study on the role of the tannins of *Newbouldia laevis* and *Zanthoxylum zanthoxyloides* on infective larvae of *Trichostrongylus colubriformis*. **African Journal of Agricultural Research**, v.12, n.50, p.3513-3519. 2017.

PANZIERA, W. *et al.* Caracterização das lesões parasitárias de ovinos observadas na linha de abate. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.38, n.8, p.1491-1504, 2018. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-5549

PAULI, P.T. et al. Estudo etnobotânico de plantas medicinais em bairros de Juína, Mato Grosso, Brasil. **Revista Saúde Viva Multidisciplinar da AJES**, v.1, n.1, p.117-156, 2018.

PIRES, I.F.B. *et al.* Plantas medicinais como opção terapêutica em comunidade de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai.**, v. 16, n.2, supl. I, p.426-433, 2014.

PRICHARD, R.K., ROULET, A. ABC transporters and β -tubulin in macrocyclic lactone resistance: prospect for marker development. **Parasitology**. v.134, p.1123-1132. 2007.

QI, H; WANG, W.X; DAI J.L; ZHU, L. *In vitro* *Zanthoxylum simulans* essential oil against *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**. 211(3-4): p. 223-227. 2015.

RAJKUMAR, V *et al.* Toxicity, antifeedant and biochemical efficacy of *Mentha piperita* L. essential oil and their major constituents against stored grain pest. **Pesticide Biochemistry And Physiology**, [s.l.], v. 156, p.138-144, 2019.

REGO, N.A. M; ROCHA, T.A.L.C.G; REIS, L.M.M. Avaliação da sustentabilidade do município de Ipanguaçu-RN sob a ótica do Índice de Desenvolvimento Sustentável Municipal (IDSM). **COLÓQUIO – Revista do Desenvolvimento Regional - Faccat - Taquara/RS** - v. 14, n. 2, 2017.

RIBEIRO W.L.C *et al* Effects of *Spigelia anthelmia* decoction on sheep gastrointestinal nematodes. **Small Ruminant Research**. 153: p.146-152. 2017.

RIET-CORREA, B. *et al.* Sistemas produtivos de caprinocultura leiteira no semiárido paraibano: caracterização, principais limitantes e avaliação de estratégias de intervenção. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s.l.], v. 33, n. 3, p.345-352, 2013.

ROBERTO, F.F.S. *et al.* Nematoides gastrintestinais na ovinocultura de corte sob regime de pastejo. **Pubvet**, [s.l.], v. 12, n. 4, p.1-12, abr. 2018. Editora MV Valero. <http://dx.doi.org/10.22256/pubvet.v12n4a65.1-12>.

SANTOS-LIMA, T.M. *et al.* Plantas medicinais com ação antiparasitária: conhecimento tradicional na etnia Kantaruré, aldeia Baixa das Pedras, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s.l.], v. 18, n. 11, p.240-247, 2016.

SCZESNY-MORAES, E.A.; BIANCHIN, I.; SILVA, K.F.; CATTO, J.B.; HONER, M.R.; PAIVA, F. Resistência anti-helmíntica de nematóides gastrintestinais em ovinos, Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.3, p.229-236, 2010.

SILVA, M.E. *et al* . Control of infective larvae of gastrointestinal nematodes in heifers using different isolates of nematophagous fungi. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 1, p. 78-83, 2013. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612013005000012>.

SILVA *et al.* Caracterização zootécnica e econômica dos criadores de caprinos em área de assentamento rural no estado do Maranhão. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v.5, n.1., p.1-11, 2015.

SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 5ª Edição. Guanabara Koogan, 2011.

SPRENGER , L. K. *et al.* Eficácia do fosfato de levamisol em nematódeos. **Archives of Veterinary Science**, v.18, n.1, p.29-39, 2013.

TARTARINE, N *et al.* Avaliação de dois diferentes métodos de armazenagem e preparo de amostras de fígado bovino para análise quantitativa de ivermectina, utilizados por um

frigorífico do estado de Minas Gerais. **Revista de Saúde e Biologia**, v.13, n.2, p.1-9, 2018.

TAYLOR, M.A.; COOP, R.L.; WALL, R.L., 2010. **Parasitologia veterinária**. 3rd ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 742 p.

TORRES-ACOSTA J.F.J *et al.* Nutritional manipulation of sheep and goats for the control of gastrointestinal nematodes under hot humid and subhumid tropical conditions. **Small Ruminant Research**, v.103, n.1, p.28-40. 2012.

THAMSBORG, S.M. *et al.* *Strongyloides* spp. infections of veterinary importance. **Parasitology**, v.144, p.274–284, 2017.

VELOSO, C.F.M. *et al.* Efeitos da suplementação proteica no controle da verminose e nas características de carcaça de ovinos Santa Inês. **Ciência Animal Brasileira**, v.5, n.3, p.131-139, 2004.

VIEIRA, L. S; SOUSA, R. S.; LEMOS, J. R. Plantas medicinais conhecidas por especialistas locais de uma comunidade rural maranhense. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 43, p.1061-1068, 2015.

VIEIRA, V.D. *et al.* Controle de parasitas gastrintestinais em ovinos e análise financeira de uma fazenda com sistema de pastejo rotacionado irrigado no semiárido nordestino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Belém do São Francisco, v. 38, n. 5, p.913-919, 2018.

VOLTOLINI, T.V. 2011. **Produção de caprinos e ovinos no semiárido**. Embrapa Semi-Árido, Petrolina, PE. 553p.

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

ZAJAC, A.M.; GARZA, J. Biology, Epidemiology, and Control of Gastrointestinal Nematodes of Small Ruminants. **Veterinary Clinics Of North America: Food Animal Practice**, [s.l.], v. 36, n. 1, p.73-87, mar. 2020. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.12.005>.