

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
CAMPUS DE DRACENA**

Mateus Oliveira Mena

Médico Veterinário

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA *IN VIVO* DO
EXTRATO DO BAGAÇO DE UVA EM OVINOS COM
INFECÇÃO NATURAL POR NEMATÓIDES
GASTROINTESTINAIS**

Dracena

2022

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
CAMPUS DE DRACENA**

Mateus Oliveira Mena

Médico Veterinário

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA *IN VIVO* DO
EXTRATO DO BAGAÇO DE UVA EM OVINOS COM
INFECÇÃO NATURAL POR NEMATÓIDES
GASTROINTESTINAIS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas – Unesp, Câmpus de Dracena como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Velludo Gomes de Soutello

Co-orientadora: Prof. Dra. Rosangela da Silva Laurentiz

Dracena

2022

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvida pela Seção Técnica de Biblioteca e Documentação
Campus de Dracena

M534a

Mena, Mateus Oliveira.

Avaliação da atividade anti-helmíntica in vivo do extrato do bagaço de uva em ovinos com infecção natural por nematoides gastrointestinais / Mateus Oliveira Mena. -- Dracena: [s.n.], 2022.

45 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp). Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena. Área do conhecimento: Produção Animal, 2022.

Orientador: Ricardo Velludo Gomes de Soutello

Coorientadora: Rosangela da Silva Laurentiz

1. Fitoterapia. 2. Helminto. 3. Parasitismo. 4. Resistência à drogas. I. Título.

Bibliotecário Fábio Sampaio Rosas
CRB 8/6665



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Dracena



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Atividade anti-helmíntica do extrato de bagaço de uva em ovinos naturalmente infectados por nematóides gastrointestinais.

AUTOR: MATEUS OLIVEIRA MENA

ORIENTADOR: RICARDO VELLUDO GOMES DE SOUTELLO

COORIENTADORA: ROSANGELA DA SILVA DE LAURENTIZ

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIA E TECNOLOGIA ANIMAL, área: Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. RICARDO VELLUDO GOMES DE SOUTELLO (Participação Virtual)
Departamento de Produção Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena - UNESP

Prof. Associado PAULO ALEXANDRE MONTEIRO DE FIGUEIREDO (Participação Virtual) Departamento de Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena - UNESP

Profa. Dra. CAROLINE MARÇAL GOMES DAVID (Participação Virtual)
Faculdade do Futuro - Manhuaçu-MG

Dracena, 25 de janeiro de 2022

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Mateus Oliveira Mena, nascido em 18 de janeiro de 1993, na cidade de Dracena/SP. Possui graduação em Medicina Veterinária pelo Centro Universitário de Adamantina (2017). Possui aperfeiçoamento em cirurgia de pequenos animais pela Unesp/ FCAV - Câmpus de Jaboticabal, SP (2018-2019). Atuou como Médico veterinário em Clínica e cirurgia de pequenos animais em Dracena-SP (2018-2019). Atualmente é Pós-graduando em Ciência e Tecnologia Animal pela FCAT (UNESP) Dracena e integrante do EEPPA - Estudo de Extensão e Pesquisa em Parasitologia Animal. Realizou estágio docência no curso de Engenharia Agrônômica, ministrando aulas na disciplina de Morfofisiologia Animal. Foi bolsista (TT-3, FAPESP), Treinamento Técnico no Laboratório de Parasitologia e Sanidade Animal da FCAT/UNESP de Dracena.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Hélio Mena e Edinir Oliveira Mena,
que me educaram e me possibilitaram mais essa conquista,
exemplos de vida fundamentais para a minha vida pessoal
e profissional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida e por nunca me desamparar.

Aos meus pais por sempre me apoiarem em minhas decisões, pela educação que me deram e por me ajudarem a chegar até aqui, e todos meus familiares por sempre estarem do meu lado em todos os momentos.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Animal, juntamente com todos professores e colaboradores da Faculdade de ciências agrárias e tecnologias (FCAT), Unesp de Dracena-SP, pela oportunidade oferecida e por todo suporte.

Meu orientador Prof. Dr. Ricardo Velludo Gomes de Soutello, por todo apoio, aprendizado e bons conselhos. A minha Co-orientadora, Prof. Dra. Rosangela da Silva Laurentiz, por todo auxílio neste trabalho.

A Valeska (irmã da graduação e mestrado) e a Tábata (irmã do mestrado) por estarem sempre comigo nestes dois anos.

Aos meus companheiros de mestrado: Giordani, Isabela e Gabriel, e a todos do EEPPA (Equipe de Extensão e Pesquisa em Parasitologia Animal) por sempre me ajudarem nas coletas no campo e análises no laboratoriais.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pelo apoio ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Animal.

RESUMO

Com o presente estudo objetivou-se avaliar a atividade anti-helmíntica do extrato bruto do bagaço de uva contra nematoides gastrointestinais de ovinos naturalmente infectados, criados a pasto, por meio de testes *in vivo*. Foram realizados dois estudos utilizando 30 ovinos em cada estudo, distribuídos em três grupos com 10 animais cada, em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Estudo 1: foi administrado extrato bruto do bagaço de uva na concentração de 184 mg/mL, na dose de 1ml para cada 5kg de peso vivo no D0 e 1mL para cada 1kg de peso vivo no D14; Estudo 2: foi administrado extrato bruto do bagaço de uva, na dose de 1ml para cada 1kg de peso vivo no D0 e D14 na concentração de 494 mg/mL. Nos dois estudos um grupo foi tratado no D0 (início do estudo) com o anti-helmíntico cloridrato de levamisol 5% (RIPERCOL® L Solução) na dose de 5mg/kg de peso vivo; e outro grupo como controle negativo sem tratamento. As amostras fecais foram coletadas individualmente nos dias 0, 7, 14, 21, 28 e 35 no estudo 1 e até o dia 42 no estudo 2, para avaliar o OPG (ovos por grama de fezes) por meio da contagem dos ovos através da câmara de McMaster. O percentual de redução do número de OPG (R-OPG) dos grupos tratados em relação ao grupo controle foi analisado por meio do programa 'Reso' FECRT Analysis Program, version 2.0. Os resultados das contagens de OPG foram analisados por ANOVA e comparados pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) utilizando o programa SAS University Edition (versão 9.4). As análises realizadas demonstraram os seguintes resultados. No estudo 1, o percentual de redução do Levamisol foi de 100% como controle positivo no D7 e 72% de redução do extrato bruto do bagaço de uva após a primeira dose. Sete dias após a segunda dose do extrato, no D21, foi quando o extrato obteve sua maior redução com 89%, indicando uma efetividade anti-helmíntica. O grupo controle permaneceu com médias de OPG crescentes até o D21, (D0, 1680; D7, 2145; D14, 2215 e D21, 3550), aumentando o desafio parasitário em relação aos grupos tratados. No estudo 2, o grupo tratado com extrato mostrou efetividade sete dias após a primeira dose (90,5%), no dia 21 atingiu um percentual de R-OPG de 95,8%, mas sua maior redução foi de 97,7%, 14 dias após a segunda dose do extrato (D28). O grupo tratado com levamisol obteve R-OPG >95% do dia 7 ao 28. Os testes de toxicidade não apresentaram alterações após a administração do extrato. Em relação aos resultados da cultura de fezes e identificação de larvas de terceiro estágio (L3) infectantes, no início do experimento os animais apresentaram uma maior prevalência de *Haemonchus* spp em relação a *Cooperia* spp em ambos os estudos. Pode-se afirmar que o extrato bruto do bagaço de uva, demonstrou ação antiparasitária para nematódeos gastrointestinais de ovinos nas diferentes concentrações estudadas, sendo mais eficaz na concentração de 494 mg/mL e sem apresentar sinais de toxicidade, sendo seguras para administração em ovinos.

Palavras-chave: Fitoterapia. Helminto. Parasitismo. Resistência à drogas.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the anthelmintic activity of the crude extract of grape pomace against gastrointestinal nematodes of naturally infected sheep, raised on pasture, through in vivo tests. Two studies were carried out using 30 sheep in each study, divided into three groups with 10 animals each, in a completely randomized design (DIC). Study 1: raw grape pomace extract was administered at a concentration of 184 mg/mL, at a dose of 1ml for every 5kg of live weight on D0 and 1mL for every 1kg of live weight on D14; Study 2: raw grape pomace extract was administered at a dose of 1ml for each 1kg of live weight on D0 and D14 at a concentration of 494 mg/mL. In both studies, one group was treated on D0 (beginning of the study) with the anthelmintic levamisole hydrochloride 5% (RIPERCOL® L Solution) at a dose of 5mg/kg body weight; and another group as negative control without treatment. Fecal samples were collected individually on days 0, 7, 14, 21, 28 and 35 in study 1 and until day 42 in study 2, to assess OPG (eggs per gram of feces) by counting eggs through McMaster chamber. The percentage of reduction in the number of OPG (R-OPG) of the treated groups in relation to the control group was analyzed using the 'Reso' FECRT Analysis Program, version 2.0. The results of OPG counts were analyzed by ANOVA and compared by Tukey's test ($P < 0.05$) using the SAS University Edition program (version 9.4). The analyzes performed showed the following results. In study 1, the percentage of Levamisole reduction was 100% as a positive control on D7 and 72% reduction in the crude extract of grape pomace after the first dose. Seven days after the second dose of the extract, on D21, the extract achieved its greatest reduction with 89%, indicating an anthelmintic effectiveness. The control group remained with increasing means of OPG until D21, (D0, 1680; D7, 2145; D14, 2215 and D21, 3550), increasing the parasite challenge in relation to the treated groups. In study 2, the extract-treated group showed effectiveness seven days after the first dose (90.5%), on day 21 it reached an R-OPG percentage of 95.8%, but its greatest reduction was 97.7%, 14 days after the second dose of the extract (D28). The group treated with levamisole obtained R-OPG >95% from day 7 to 28. The toxicity tests showed no changes after the administration of the extract. Regarding the results of feces culture and identification of infective third stage larvae (L3), at the beginning of the experiment the animals showed a higher prevalence of *Haemonchus* spp in relation to *Cooperia* spp in both studies. It can be said that the crude extract of grape pomace showed antiparasitic action for gastrointestinal nematodes of sheep at the different concentrations studied, being more effective at a concentration of 494 mg/mL and without showing signs of toxicity, being safe for administration in sheep.

Keywords: Phytotherapy. Helminth. Parasitism. Drug resistance.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Dinâmica da contagem de ovos por gramas de fezes dos três grupos durante 35 dias | 26 |
| Figura 2. Dinâmica da contagem de ovos por gramas de fezes dos três grupos durante 42 dias..... | 29 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1. Médias aritméticas das contagens de OPG dos grupos tratados e percentual de redução do OPG de cada grupo..... | 25 |
| Tabela 2. Porcentagem de larvas de helmintos gastrointestinais de ovinos observadas durante as coletas, através da coprocultura dos tratamentos com Cloridrato de Levamisol 5% na dose de 5 mg/kg de peso vivo, extrato bruto do bagaço de uva na concentração de 184mg/mL de peso vivo e controle | 27 |
| Tabela 3. Médias aritméticas das contagens de OPG dos grupos tratados e percentual de redução do OPG de cada grupo..... | 28 |
| Tabela 4. Porcentagem de larvas de helmintos gastrointestinais de ovinos observadas durante as coletas, através da coprocultura dos tratamentos com Cloridrato de Levamisol 5% na dose de 5 mg/kg de peso vivo, extrato bruto do bagaço de uva na concentração de 494mg/mL de peso vivo e controle..... | 30 |
| Tabela 5 - Parâmetros bioquímicos em ovinos tratados com o extrato bruto do bagaço de uva a 494 mg/mL..... | 31 |

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a.C.: Antes de Cristo

ANOVA: Análise de variância

ANUALPEC: Anuário da pecuária brasileira

CEUA: Comitê de Ética e Uso de Animais

CI50: Concentração letal para matar 50%

DIC: Delineamento inteiramente casualizado

FECRT: Faecal egg count reduction test/ Teste de redução da contagem de ovos fecais.

Kg: Quilograma

L: Larva

mg: Miligrama

mL: Mililitro

OMS: Organização mundial da saúde

OPG: Ovos por grama de fezes

OPGc: OPG do controle

OPGt: OPG do tratamento

R-OPG: Redução de ovos por grama de fezes

SAS: Statistical Analysis System / Sistema de Análises Estatísticas

WAAVP: World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology / Associação Mundial para o Avanço da Parasitologia Veterinária

SUMÁRIO

| | |
|-------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 13 |
| 2 OBJETIVOS | 14 |
| 2.1 Objetivo Geral | 14 |
| 2.2 Objetivo Específico | 14 |
| 3 REVISÃO DA LITERATURA | 15 |
| 3.1 Helmintos Gastrointestinais em Ovinos | 15 |
| 3.2 Desenvolvimento da Resistência Anti-helmíntica | 16 |
| 3.3 Fitoterápicos e Fitoconstituintes no Controle Anti-Helmíntico | 16 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS | 20 |
| 4.1 Preparo dos Extratos | 20 |
| 4.2.1 Estudo 1: coleta de fezes e exames coprológicos | 21 |
| 4.2.2 Estudo 2: coleta de fezes e exames coprológicos | 22 |
| 4.3 Análise dos Parâmetros Bioquímicos | 23 |
| 4.4 Análise Estatística | 23 |
| 5 RESULTADOS | 24 |
| 5.1 Estudo 1: Extrato na Concentração de 184 mg/mL | 24 |
| 5.2 Estudo 2: Extrato na Concentração de 494 mg/mL | 27 |
| 5.2.1 Análise dos parâmetros bioquímicos | 30 |
| 6 DISCUSSÃO | 31 |
| 6.1 Estudo 1: Extrato na Concentração de 184 mg/mL | 31 |
| 6.2 Estudo 2: Extrato na Concentração de 494 mg/mL | 34 |
| 6.2.1 Análise dos parâmetros bioquímicos | 35 |
| 7 CONCLUSÃO | 35 |
| REFERÊNCIAS | 37 |

1 INTRODUÇÃO

A produção de ovinos (*Ovis aries*) é uma atividade praticada mundialmente, no Brasil, são aproximadamente 19.715.587 de cabeças, das quais 69% concentram-se na região Nordeste. Respectivamente, Bahia, Rio Grande do Sul, Pernambuco, Ceará, Piauí, e Rio Grande do Norte são os estados com maior representatividade dessa atividade no país (ANUALPEC, 2021).

A prática, cada vez mais em expansão e, com perspectivas positivas para o futuro, vem passando por transformações desde a década de 1990, graças ao aumento do poder aquisitivo, a abertura do comércio internacional, estabilidade monetária e uso de tecnologias que contribuem com o aumento significativo da produtividade, tornando-se um cenário favorável para o desenvolvimento da atividade (MAGALHÃES, 2017). Entretanto, o desenvolvimento da criação de pequenos ruminantes é gravemente afetada por inúmeros fatores (SILVA, 2016). Dentre eles, perdas significativas nos rebanhos decorrentes de patologias, como é o caso de infecções causadas por nematoides gastrointestinais, que leva a perda de peso dos animais e queda na produtividade, podendo evoluir para o óbito; causando considerável impacto econômico no setor de agronegócio (IDRIS *et al.*, 2012; CHAGAS *et al.*, 2013; TOSCANO *et al.*, 2018).

O controle dessas helmintoses é basicamente realizado mediante anti-helmínticos com uso de drogas como oxfendazol, closantel, levamisole, ivermectina e outros. Entretanto, o uso incorreto dessas drogas anti-helmínticas, ocasionou o surgimento de cepas de helmintos resistentes aos principais anti-helmínticos ativos disponíveis comercialmente (MOLENTO *et al.*, 2004).

Sendo assim, novas pesquisas tem sido realizadas na busca por tratamentos alternativos tais como a fitoterapia (KATIKI *et al.*, 2017; SANTOS *et al.*, 2018; ABIDIA *et al.*, 2018).

A utilização de plantas pode ser uma alternativa para o tratamento de helmintoses de ovinos e já é realizada em muitos locais do mundo. Com isso, vários pesquisadores tem se empenhado em estudos para avaliar a eficácia e a toxicidade de plantas por meio de testes *in vitro* e *in vivo* com ovinos natural ou artificialmente infectados (CARLIS *et al.*, 2019; PIZA *et al.*, 2019).

As sementes oleaginosas de bagaço de uva consistem em 13 a 19% de ácidos graxos essenciais e cerca de 11% de proteínas e 60 a 70% de carboidratos não digeríveis, além de conter antioxidantes não fenólicos na forma de tocoferóis e betacarotenoides (YU, *et al.* 2013). Além disso, o bagaço de uva é rico em fitoconstituintes, como flavonoides, saponinas e taninos, que possuem muitas propriedades biológicas, incluindo atividade anti-helmíntica (PINTACÁ, *et al.* 2018, WILLIAMS, *et al.* 2014, VILLALBA *et al.* 2010, D'ADDABBO *et al.* 2011).

Dada a necessidade de desenvolver novas alternativas para o controle das infecções por nematoides gastrointestinais, este estudo avaliou a atividade anti-helmíntica do extrato hidroetanólico de bagaço de uva em ovinos naturalmente infectados, sendo este um produto sustentável e natural.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O presente estudo teve por objetivo avaliar a eficácia do extrato hidroetanólico de bagaço de uva no controle das helmintoses gastrointestinais de ovinos naturalmente infectados criados a pasto por meio de testes *in vivo*.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a eficácia anti-helmíntica do extrato hidroetanólico de bagaço de uva sobre helmintos de ovinos por meio da redução na contagem de ovos por grama de fezes (R-OPG).
- Avaliar os gêneros de helmintos sensíveis e resistentes por meio da coprocultura e identificação de larvas de terceiro estágio.
- Analisar parâmetros bioquímicos para avaliar possível toxicidade referente ao extrato hidroetanólico em maior dosagem.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Helmintos Gastrointestinais em Ovinos

Os gêneros dos nematoides gastrointestinais de maior ocorrência no estado de São Paulo são *Haemonchus* SP, *Trichostrongylus* spp, *Cooperia* spp, *Oesophagostomum* spp e *Strongyloides* spp, sendo os nematoides gastrointestinais da família *Tricostrongilídeos* os que apresentam maior importância e patogenicidade nas infecções (AMARANTE, 1995).

Os *Trichostrongylus* em infecções severas causam grave enterite. Quando instalados no intestino delgado causam necrose do epitélio e alimentam-se do conteúdo das células epiteliais necrosadas (ANDRONICOS *et al.*, 2012). Os sinais clínicos da *Cooperia* e dos *Strongyloides* são similares aos do *Trichostrongylus*. O *Oesophagostomum columbianum* é responsável por causar a formação de nódulos no tecido e, por este motivo, recebem o nome de helmintos nodulares (AMARANTE, 2005; TAYLOR *et al.*, 2016). O *Haemonchus contortus* é considerado o nematoide mais patogênico e também aquele com mais relatos de resistência anti-helmíntica (ALMEIDA *et al.*, 2010; CINTRA *et al.*, 2016; REINIGER *et al.*, 2017). É o mais prolífero, e sua fêmea é capaz de liberar entre 5.000 a 15.000 ovos morulados que são eliminados junto com as fezes do hospedeiro para o ambiente (URQUHART *et al.*, 1998; EMERY *et al.*, 2016).

Em condições ideais de temperatura, pH e umidade as larvas de estágio L1 e L2 desses helmintos evoluem para L3 (infectantes) que são bastante móveis e migram para a pastagem. A contaminação dos ovinos acontece pelo consumo das L3 junto com a pastagem (GARCIA, 2007; MONTEIRO, 2010). As larvas L3 apresentam cutícula proveniente do estágio anterior, cuja função é proteger contra alterações ambientais e impede a alimentação da larva, tornando-a dependente dos nutrientes acumulados anteriormente (ZAJAC, 2006; EMERY *et al.*, 2016). No momento que as L3 infectam seus hospedeiros, a partir de sua ingestão, elas passam para o abomaso (estômago) e penetram na mucosa onde atinge o estágio L4 após 48 horas. No estágio L4 as larvas já se alimentam de sangue e retornam ao lume do abomaso para evoluírem ao estágio L5, em seguida atingem o estágio adulto. Nessa fase cada adulto se alimenta em média de 0,05 mL de sangue diariamente, na fase adulta começa a ovoposição o que dá sequência ao ciclo de

vida do helminto (URQUHART *et al.*, 1998; MONTEIRO, 2010; TAYLOR *et al.*, 2016).

3.2 Desenvolvimento da Resistência Anti-helmíntica

No início da década de 1980, com o lançamento das lactonas macrocíclicas, endectocidas de amplo espectro (avermectinas e milbemicinas) largamente utilizados em animais domésticos, houve uma chamada revolução no mercado de produtos veterinários para o controle de helmintos (GEARY *et al.* 2005). Porém, com o tempo, várias formulações contendo avermectinas foram liberadas no mercado com o preço reduzido levando ao uso indiscriminado e, conseqüentemente, à seleção de populações resistentes de endo e ectoparasito. A utilização incorreta e indiscriminada desses produtos e a falta de conhecimento sobre aspectos epidemiológicos do agente parasitário pelos produtores têm provocado o surgimento de resistência dos nematódeos, ou seja, a seleção dos helmintos à ação dos medicamentos utilizados podendo apresentar-se como um dos principais problemas sanitários na cadeia de produção animal (PAIVA *et al.*, 2001).

Os primeiros relatos de resistência no Brasil ocorreram na década de 1960 no estado do Rio Grande do Sul (SANTOS; GONÇALVES, 1967). Indicando que a resistência não era um problema em um rebanho isolado e sim um problema em disseminação (WALLER, 1997; MELO *et al.*, 1998).

É extremamente importante que haja sucesso no controle dessas infecções nos sistemas de produção baseando-se em um bom conhecimento da epidemiologia básica, das particularidades regionais e o tipo dos sistemas produtivos (CEZAR *et al.*, 2010).

Devido a problemática da resistência anti-helmíntica, vem crescendo o interesse em desenvolver e utilizar outros métodos de controle das helmintoses. Uma das alternativas tem sido o uso de extratos vegetais como anti-helmíntico natural (MOLENTO *et al.*, 2004).

3.3 Fitoterápicos e Fitoconstituintes no Controle Anti-Helmíntico

Desde a antiguidade, plantas medicinais são utilizadas para o tratamento de diversas doenças. Estudos revelam que entre os anos de 5.000 e 2.800 a.C, o

homem já realizava o cultivo de cereais e fazia uso de algumas plantas medicinais. As plantas medicinais têm sido uma rica fonte para obtenção de moléculas com propriedades farmacológicas. No entanto, a fitoterapia é o tratamento de enfermidades através de vegetais frescos, drogas vegetais ou extratos vegetais (OLIVEIRA, *et al.*, 1997).

O uso de fitoterápicos com finalidade profilática ou curativa passou a ser oficialmente reconhecido pela OMS (Organização Mundial da Saúde) em 1978, quando recomendou a difusão mundial dos conhecimentos necessários para seu uso. De acordo com a OMS, 80% da população mundial utilizam práticas tradicionais no que se refere à atenção primária na saúde e 85% dessa parcela utiliza plantas ou preparações à base de vegetais (MAIOLI-AZEVEDO *et al.*, 2007).

O uso de produtos naturais está relacionado a alguns fatores, dentre eles: efeitos indesejáveis e prejuízos causados pelo uso abusivo e incorreto de medicamentos sintéticos. Devido a isto, a fitoterapia é uma alternativa viável para a maioria dos brasileiros. (ALBUQUERQUE *et al.*, 1989).

Nas últimas décadas, as plantas têm sido usadas como uma fonte promissora de moléculas alvo para o desenvolvimento de novos medicamentos para o tratamento de câncer, dor, infecções e infestações parasitárias. Os metabólitos secundários são compostos orgânicos produzidos pelas plantas e não estão diretamente relacionadas com seu crescimento, desenvolvimento e reprodução, porém garantem vantagens para manutenção de sua vida e perpetuação da espécie. (SANTOS *et al.*, 2007).

As propriedades biológicas ou toxicidade exibidas pelas plantas estão relacionadas diretamente à natureza e quantidade de seus fitoconstituintes. Sendo assim, a ação anti-inflamatória de muitas plantas medicinais normalmente está associada à presença de flavonoides, compostos polifenólicos e lignanas (KUMAR *et al.*, 2013).

Vários grupos de pesquisa em todo o mundo realizaram estudos sobre a utilização de plantas e extratos para o tratamento de helmintos gastrointestinais em ovinos. Esses estudos demonstraram a importância desta área de pesquisa como alternativa no controle da infecção (SOLDERA-SILVA *et al.*, 2018).

A atividade anti-helmíntica dessas plantas está geralmente associada à presença de taninos (KATIKI *et al.*, 2017). No entanto, alguns estudos vêm ressaltando a atividade em plantas não-taníferas como por exemplo *Cymbopogon*

citratus, cujas propriedades anti-helmínticas estão relacionadas a outros tipos de componentes contidos em óleos essenciais (MACEDO *et al.*, 2015).

Nos estudos de Krychak-furtado (2006), obteve-se redução de 47% no número de ovos de trichostrongilídeos eliminados nas fezes nos testes *in vivo* em ovinos, administrando-se extrato de *Pterocaulon interruptum* por via oral, na dosagem de 33,34 mg/kg de peso corporal. Já a administração de *Dicksonia sellowiana* em forma de pó seco, obteve-se 86,59% de redução de ovos dos nematoides gastrointestinais na dose de 5000 mg/kg, no 10º dia após administração do produto.

Brito jr *et al.* (2011), observou uma redução do OPG de 90% após 60 dias de tratamento em ensaios *in vivo* com ovinos infectados utilizando a batata – de – purga (*Ipomoea purga*).

A *Artemisia absinthium* foi avaliada em condições *in vivo* e *in vitro* com resultados semelhantes em ambos os testes, obtendo efetividade no extrato etanólico a 2g/kg com redução do OPG de ovelhas infectadas por *H. contortus* de 90,46%, resultado semelhante ao albendazol (TARIQ *et al.*, 2009). Extratos hexânico e etanólico da semente de manga (*Mangifera indica*) foram testados contra ovos de *H. contortus*. O extrato etanólico inibiu 95,66% da eclosão dos ovos na concentração de 50 mg/ml, enquanto o extrato hexânico fornecido na mesma concentração, não apresentou significância (COSTA *et al.*, 2002). Ensaios *in vitro* e *in vivo* foram realizados com a erva-lombrigueira (*Spigelia anthelmia*), planta bastante utilizada no Brasil para tratamento de helmintoses. A ação anti-helmíntica foi comprovada nestes ensaios por Ademola *et al.* (2007). Em estudos *in vivo* com a uva-turca (*Phytolacca octandra*), mostraram que o consumo do extrato da planta inibiu 72% do OPG segundo Villegas *et al.* (2012).

Oliveira *et al.* (1997) e Girão *et al.* (1998) avaliaram algumas plantas com atividade anti-helmíntica no nordeste do Brasil, sendo elas: *Cucurbita moschata*, *Momordica charantia*, *Mentha sp.*, *Carica papaya*, *Jathropha curcas*, *Scoparia dulces*, *Spigelia anthelmia*, *Melia azedarach* e *Musa spp.* Apresentando resultados relevantes com redução de até 96% de OPG.

No Brasil, as espécies da família *Piperaceae* são localizadas de Norte a Sul, com boa ocorrência no Estado do Rio de Janeiro (SUNILA *et al.*, 2004). Estudos fitoquímicos de espécies de *Piperaceae* têm levado ao isolamento de metabólitos especiais das vias biossintéticas do chiquimato, acetato-mevalonato e mista, com

destaque para as substâncias isoladas do gênero *Piper* (amidas, lignanas, neolignanas, arilpropanoides, flavonoides, cromenos). Na literatura, registra-se também a ocorrência de derivados do ácido benzoico e seconeolignanas (*Peperomia*), e derivados catecólicos (*Piper*, seção *Pothomorphe*) (MARQUES *et al.*, 2011).

O jaborandi-falso (*Piper aduncum*) foi avaliado em ensaio *in vitro* sobre a eclodibilidade dos ovos de helmintos com concentração letal para matar 50% (CI50) de 2,4 mg/mL, entretanto a planta não foi avaliada em ensaios *in vivo* (OLIVEIRA *et al.*, 2014). Em outro estudo, utilizando alho desidratado adicionado à mistura mineral na concentração de 2% (aproximadamente 8 mg/kg/peso/vivo/dia) no controle de nematódeos, em que se observou a redução de OPG de 47,3% (BIANCHIN *et al.*, 1999).

As plantas medicinais surgiram como uma alternativa ao uso de anti-helmínticos sintéticos, pois contêm fitoquímicos com propriedades anti-helmínticas, como saponinas, flavonoides e taninos (OLIVEIRA *et al.*, 2017; MENGISTU, *et al.*, 2017). Estes fitoquímicos estão presentes em quantidades consideráveis nos resíduos, como por exemplo da uva a partir do processamento industrial da uva para a produção de sucos e vinhos (PINTAĆ *et al.*, 2018).

No geral, os compostos fenólicos exercem atividade anti-helmíntica contra uma ampla gama de nematoides, devido às amplas variações estruturais que apresentam (SPIEGLER *et al.*, 2017). Estes compostos podem atuar por dois tipos de mecanismos: ligar-se a proteínas livres reduzindo a disponibilidade dos nutrientes resultando em morte das larvas por inanição, ou ligar-se à cutícula das larvas, rica em glicoproteínas, e causar sua morte (ATHANASIADOU *et al.*, 2001).

Estudos de Soares *et al.* (2018) mostraram que no extrato de bagaço de uva o conteúdo fenólico total foi de 3,95 mg / g (equivalente em ácido tânico) em 100 mg de bagaço seco, o que correspondeu a 4,2% do conteúdo fenólico total na matéria seca. E o teor de tanino total foi de 1,92 mg / g (ácido tânico equivalente) em 100 mg de bagaço seco, o que correspondeu a 2,03% do teor de tanino total na matéria seca.

Estudos de Nistor *et al.* (2014), descobriram que o bagaço de uva é seguro e pode ser adicionado à alimentação de ruminantes a taxas de até 100 g / kg / dia como uma boa fonte nutricional. Ele contém fitoquímicos com propriedades anti-helmínticas, incluindo ácido gálico, galocatequina, epigalocatequina e resveratrol.

Soares *et al.* (2018), demonstraram a atividade anti-helmíntica do extrato de bagaço de uva *in vitro*, que inibiu com sucesso a eclosão, desenvolvimento e mobilidade dos estágios de vida livre de *H. contortus*. Os resultados obtidos neste estudo demonstram que o extrato de bagaço de uva é uma fonte potencial de compostos bioativos com propriedades ovicidas e larvicidas significativas.

Em pesquisa conduzida por LeShure (2014), o extrato de bagaço de uva resultou em 100% de inibição da eclosão de ovos em larvas de terceiro estágio. Os resultados indicaram que o bagaço de uva teve eficácia na diminuição da eclodibilidade dos ovos de helmintos, bem como na viabilidade do helminto em ambiente *in vitro*.

Cash *et al.* (2016), mostraram que o uso do extrato orgânico de uva Pinot Noir como anti-helmíntico natural em cordeiros, pode ser eficaz para o controle das helmintoses e aumentar o desempenho desses animais, mas afirma serem necessárias mais pesquisas para complementar o estudo.

A fitoterapia pode trazer grandes benefícios ao produtor, consumidor e meio ambiente. Porém mesmo plantas medicinais necessitam de recomendações, pois se ingeridas exageradamente podem intoxicar o animal. Nesse caso faz-se necessário comprovação científica da segurança de sua utilização.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Preparo dos Extratos

O bagaço da uva, variedade Máximo IAC 138-22 foi fornecido por um enólogo da região de Jales (São Paulo, Brasil), um resíduo da produção de vinho e suco de uva, o bagaço é constituído de casca e semente. O bagaço passou pelo processo de secagem em forno de circulação de ar à 50 °C e posteriormente, triturado e armazenado em congelador. Foi realizada a pesagem do produto (500g) seco e triturado e homogeneizado em um frasco contendo 2L de etanol (70%). O frasco foi mantido durante 5 dias em temperatura ambiente. Após 5 dias o material foi filtrado por meio de papel filtro e em seguida rotaevaporado, conforme a técnica preconizada por Simões *et al.* (1999); esse processo foi repetido várias vezes até obtenção do volume necessário para administrar nos animais. No estudo 1, a concentração obtida foi de 184mg/mL de extrato bruto de bagaço de uva e no estudo

2, uma concentração de 494mg/mL. Os resíduos foram mantidos no congelador até o uso.

O uso de animais foi aprovado pelo Comitê de Ética e Uso de Animais da Faculdade de Engenharia da UNESP / Dracena, de acordo com as normas internacionais de uso de animais em pesquisa (certificado de autorização número: 06/2020.R1 - CEUA).

4.2.1 Estudo 1: coleta de fezes e exames coprológicos

O ensaio foi desenvolvido no período de maio a junho de 2021, em uma fazenda no município de Ouro Verde – São Paulo (latitude 21°27'16" sul, longitude 51°42'49" oeste), foram utilizados 30 ovinos da raça Santa Inês, machos e fêmeas adultos que permaneceram todo o experimento em piquetes de *Uruchloa decumbens*.

Foi realizada a distribuição dos animais de forma homogênea em 3 grupos (2 tratamentos e 1 controle) constituído por 10 animais cada, em um delineamento inteiramente casualizado (DIC).

O grupo 1, controle positivo recebeu cloridrato de levamisol 5% (RIPERCOL® L Solução) na dose de 5 mg/kg de peso vivo.

No grupo 2 foi utilizado o extrato do bagaço de uva a 184 mg/mL sob a dose de 1 mL para cada 5 kg de peso vivo no D0 e outra no D14, sob a dose de 1 mL para cada 1 kg de peso vivo.

E o terceiro grupo, como controle negativo não foi administrado o anti-helmíntico ou o extrato, permanecendo como controle para avaliar a variação na contagem de ovos por gramas de fezes (OPG).

As fezes foram coletadas diretamente da ampola retal de cada animal nos dias 0, 7, 14, 21, 28 e 35. No dia 0 seguido da coleta os animais foram tratados com os produtos utilizados e no dia 14 novamente foi fornecido o extrato bruto do bagaço de uva aos animais do grupo 2.

A determinação da redução do OPG (R-OPG) dos grupos tratados foi calculada através das médias aritméticas 7, 14, 21, 28 e 35 dias após os tratamentos em relação ao OPG do grupo controle no mesmo dia. A eficácia dos produtos foi

estimada segundo Coles *et al.* (1992); Eficácia = $(1 - [OPG_t/OPG_c]) \times 100$

OPG_t = OPG do tratamento

OPG_c = OPG do controle

4.2.2 Estudo 2: coleta de fezes e exames coprológicos

O ensaio foi realizado em animais oriundos da mesma propriedade, no período de novembro a dezembro de 2021, utilizando 30 ovinos da raça santa Inês, machos e fêmeas, com peso médio de 34kg, que permaneceram todo o experimento no mesmo piquete. Foram pesados e identificados individualmente no dia 0 (zero), coletadas amostras fecais para determinação do número de ovos de helmintos por grama de fezes (OPG) e posterior distribuição dos animais de forma casualizada em três tratamentos.

O grupo 1, controle positivo recebeu cloridrato de levamisol 5% (RIPERCOL® L Solução) na dose de 5 mg/kg de peso vivo.

No grupo 2 foi utilizado o extrato do bagaço de uva a 494 mg/mL sob a dose de 1 mL para cada 1 kg de peso vivo no D0 e outra no D14.

E o terceiro grupo, como controle negativo não foi administrado o anti-helmíntico ou o extrato, permanecendo como controle para avaliar a variação na contagem de ovos por gramas de fezes (OPG).

As coletas das fezes foram realizadas aos 0, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias, diretamente da ampola retal de cada animal para realização de exames coprológicos.

Em ambos os estudos, as fezes foram acondicionadas em sacos plásticos dentro de uma caixa de isopor com gelo reciclável para o material permanecer conservado até o laboratório e lá foram mantidos em uma geladeira para conservação até o momento das análises.

Semelhante ao estudo 1, os exames coprológicos foram realizados por meio da contagem de ovos por gramas de fezes (OPG), no laboratório de Parasitologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (UNESP/ Campus de Dracena). Sendo a quantificação realizada através da câmara de McMaster (GORDON; WHITLOCK, 1939) e posteriormente foi realizada a cultura de larvas pela técnica de (ROBERTS; O`SULLIVAN, 1950) e identificação por meio da chave de KEITH, 1953.

A determinação da redução do OPG (R-OPG) dos grupos tratados foi calculada através das médias aritméticas 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após os tratamentos em relação ao OPG do grupo controle no mesmo dia. A eficácia dos produtos foi estimada segundo COLES *et al.* (1992); Eficácia = $(1 - [\text{OPGt}/\text{OPGc}]) \times 100$

OPGt = OPG do tratamento

OPGc = OPG do controle

4.3 Análise dos Parâmetros Bioquímicos

As técnicas bioquímicas foram realizadas no laboratório “solução vet exames laboratoriais” de Dracena, apenas dos animais que foram submetidos ao extrato bruto do bagaço de uva do estudo 2 para análise de possível toxicidade. Foram realizadas 4 coletas de sangue (5 mL) a cada 7 dias (D0, D7, D14 e D21) por meio de venopunção da veia jugular externa em tubos de vacutainer contendo ativador de coágulo, para retração e obtenção do soro as amostras foram centrifugadas durante 15 minutos a 5000 rpm.

Em seguida, o soro foi separado, dividido em alíquotas, reservado em tubos plásticos com tampa (eppendorfs) e congelados para posteriormente serem feitas as análises laboratoriais (DORETTO, 1996). A atividade sérica de enzimas hepáticas, como AST (aspartato aminotransferase) e GGT (gama glutamil transferase), foram monitoradas para detectar danos no fígado.

4.4 Análise Estatística

O percentual de redução do número de ovos por gramas de fezes (R-OPG) para cada grupo foi estimado comparando o OPG do grupo controle com o do pós tratamento utilizando as médias aritméticas das contagens de OPG antes e após o tratamento, por meio do programa ‘Reso’ FECRT Analysis Program, version 2.0 (WURSTHORN; MARTIN, 1989).

A avaliação da eficácia anti-helmíntica do material testado foi confirmada por meio da porcentagem de R-OPG maior ou igual a 95%, segundo a classificação do índice de eficácia proposto pela *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology* (WAAVP).

Os resultados das contagens de ovos por grama de fezes (OPG) foram analisados por ANOVA e comparados pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) utilizando o programa SAS University Edition (versão 9.4).

5 RESULTADOS

5.1 Estudo 1: Extrato na Concentração de 184 mg/mL.

No início do estudo (D0), os três grupos apresentaram médias semelhantes na contagem de ovos por grama de fezes, o que reflete a homogeneidade dos grupos e apontando um desafio parasitário, já que os três grupos (tratado com levamisol, tratado com extrato de uva e controle) demonstraram carga helmíntica superior à 1000 ovos por grama de fezes, com médias de OPG de: 1805, 1320 e 1680, respectivamente.

Considerando os resultados das médias de OPG, o grupo tratado com extrato de uva e o grupo controle, não se observou diferença estatística ($p < 0,05$), nos dias 7 e 14.

O percentual de redução de ovos por grama de fezes (R-OPG), no dia sete, foi de 72% no grupo tratado com o extrato de bagaço de uva (sete dias após a primeira administração na concentração de 184 mg/mL, sob a dose de 1 mL para cada 5 kg de peso vivo), já os animais submetidos ao controle químico convencional (Levamisol) o percentual de R-OPG foi de 100% como controle positivo, com média de OPG 0.

No dia 14, quando foi administrado a segunda aplicação no grupo tratado com extrato sob a dose de 1 mL para cada 1 kg de peso vivo, este grupo apresentou uma discreta redução do OPG (de 600 para 575) em comparação com a coleta anterior, não diferindo estatisticamente. Já o grupo tratado com Levamisol apresentou uma menor redução de OPG, de 100% para 98,1%, demonstrando ainda alta efetividade anti-helmíntica, não diferindo estatisticamente.

Sete dias após a administração da segunda dose do extrato (D21), foi quando o grupo tratado com extrato de uva obteve sua maior redução de ovos por grama de fezes (89%), os animais tratados com Levamisol obtiveram uma média de 99,3%, não diferindo estatisticamente. As médias de OPG e as eficácias calculadas dos produtos testados estão descritas na tabela 1.

Tabela 1. Médias aritméticas das contagens de OPG dos grupos tratados e percentual de redução do OPG de cada grupo.

| Dias de coleta | Levamisol | | Extrato de Uva | | Controle |
|----------------|-----------|---------------|----------------|----------------|----------|
| | OPG | R-OPG % | OPG | R-OPG % | OPG |
| D0 | 1805 b | - | 1320 b | - | 1680 a |
| D7 | 0 Aa | 100 | 600 Ba | 72 (-18;93) | 2145 Bab |
| D14 | 40 Aab | 98,1 (91;100) | 575 ABa | 73,2 (2;93) | 2215 Bab |
| D21 | 25 Aa | 99,3 (93;100) | 390 Aa | 89 (67;96) | 3550 Bb |
| D28 | 0 Aa | 100 | 640 ABa | 63,4 (-5;87) | 1749 Ba |
| D35 | 75 Aab | 93 (74;98) | 1120 Bb | -4,7 (-289;72) | 1070 Ba |

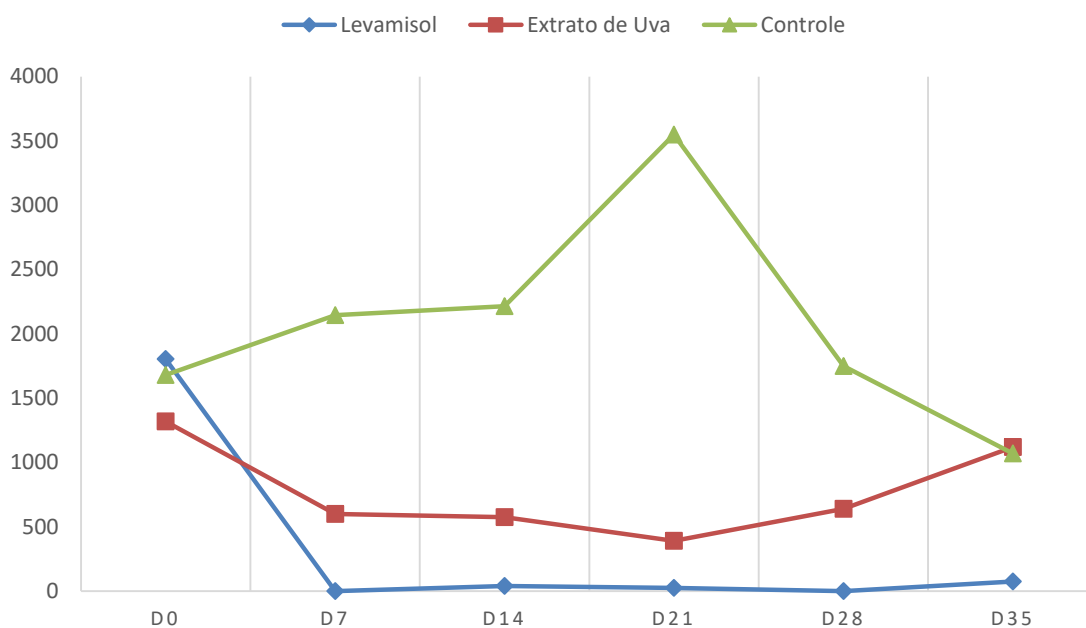
Legenda: Levamisol – Cloridrato de Levamisol 5% (dose de 5mg/kg). Extrato de Uva – Extrato de bagaço de uva em etanol a 184mg/ml. Controle – sem administração de anti-helmíntico, R-OPG – Percentual de redução; Entre parênteses: Intervalo de confiança. Letras maiúsculas entre as médias de cada tratamento; e letras minúsculas nas médias entre os dias de aplicação indicam diferença estatística pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. Fonte: Elaborado pelo autor.

No dia 28, quatorze dias após a segunda dose do grupo tratado com o extrato, não apresentou diferença estatística (D28 = 640 OPG) em relação à encontrada no sétimo dia após o primeiro tratamento (D7 = 600 OPG), aumentando na coleta seguinte (D35 = 1120 OPG). Não foi observada diferença significativa entre o grupo controle negativo e o grupo tratado com extrato no dia 35, diferentemente do grupo controle positivo que apresentou diferença significativa em relação aos dois grupos.

Pode-se verificar que os animais tratados com o extrato de uva, até o final do período experimental apresentaram valores inferiores de OPG em relação ao grupo controle.

O grupo controle permaneceu com médias crescentes desde o D0 (1680) até o D21 (3550) promovendo o desafio parasitário para todos grupos (figura 1).

Figura 1. Dinâmica da contagem de ovos por gramas de fezes dos três grupos durante 35 dias.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O grupo tratado com extrato apresentou uma leve queda na média de OPG após a primeira aplicação, depois se manteve constante e a partir do D28 apresentou um aumento relevante, diferente do grupo tratado com levamisol que apresentou uma queda acentuada logo no início e a partir do D35 demonstrou um aumento.

Observa-se que o grupo controle no D14 a curva sobe abruptamente e se mantém durante todo o estudo superior aos demais grupos.

Em relação aos resultados da cultura de fezes e identificação de larvas de terceiro estágio (L3) infectantes, no início do experimento os animais apresentaram uma maior prevalência de *Haemonchus* spp em relação a *Cooperia* spp após a segunda coleta (D14) só predominou larvas de *Haemonchus* spp em todos os grupos como descrito na Tabela 2.

Tabela 2. Porcentagem de larvas de helmintos gastrointestinais de ovinos observadas durante as coletas, através da coprocultura dos tratamentos com Cloridrato de Levamisol 5% na dose de 5 mg/kg de peso vivo, extrato bruto do bagaço de uva na concentração de 184mg/mL de peso vivo e controle.

| Dias | Larvas de Helmintos Gastrointestinais (%) | | |
|------------|-------------------------------------------|----------------|-----------|
| | Levamisol | Extrato de Uva | Controle |
| D0 | H97% C3% | H93% C7% | H89% C11% |
| D7 | - | H100% | H98% C2% |
| D14 | H100% | H100% | H100% |
| D21 | H100% | H100% | H100% |
| D28 | - | H100% | H100% |
| D35 | H100% | H100% | H100% |

Legenda: H – *Haemonchus*, C – *Cooperia*. Fonte: Elaborado pelo autor.

No grupo tratado com extrato de uva e com Levamisol, no início do experimento apresentou larvas de *Haemonchus* spp e *Cooperia*, após 7 dias houve predominância 100% de *Haemonchus* ssp até o D35, enquanto que no grupo controle houve no D0 e D7 presença de *Haemonchus* ssp e *Cooperia*, e a partir do D14 prevaleceu somente larvas de *Haemonchus* ssp.

5.2 Estudo 2: Extrato na Concentração de 494 mg/mL.

No início do estudo 2 (D0), os três grupos apresentaram médias semelhantes na contagem de ovos por grama de fezes, o que reflete a homogeneidade dos grupos e apontando um desafio parasitário, já que todos os grupos demonstraram carga helmíntica maior que 1000 ovos por grama de fezes, descrito na tabela 3.

A partir do D7 já observamos que o grupo tratado com extrato não teve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em relação ao grupo tratado com levamisol e estes dois grupos se diferiram estatisticamente do grupo controle, isso foi observado até o D42.

O percentual de redução de ovos por grama de fezes (R-OPG) dos grupos tratados (extrato e levamisol) no dia 14 foram de 91,9% e 96,5% respectivamente.

Tabela 3. Médias aritméticas das contagens de OPG dos grupos tratados e percentual de redução do OPG de cada grupo.

| Dias de coleta | Levamisol | | Extrato de Uva | | Controle |
|----------------|-----------|---------------|----------------|---------------|----------|
| | OPG | R-OPG % | OPG | R-OPG % | OPG |
| D0 | 1100 c | - | 1015 a | - | 1075 b |
| D7 | 20 Ba | 98,1 (83;100) | 100 Bb | 90,5 (69;97) | 1055 Ab |
| D14 | 30 Ba | 96,5 (91;99) | 70 Bb | 91,9 (74;97) | 860 Aab |
| D21 | 65 Bab | 93,9 (73;99) | 45 Bb | 95,8 (88;99) | 1065 Ab |
| D28 | 35 Ba | 96,7 (84;99) | 25 Bb | 97,7 (86;100) | 1075 Ab |
| D35 | 55 Bab | 92,1 (83;96) | 55 Bb | 92,1 (78;97) | 700 Aab |
| D42 | 175 Bc | 63,9 (41;78) | 155 Bb | 68 (34;84) | 485 Aa |

Legenda: Levamisol – Cloridrato de Levamisol 5% (dose de 5mg/kg). Extrato de Uva – Extrato de bagaço de uva em etanol a 494mg/ml. Controle – sem administração de anti-helmíntico, R-OPG – Percentual de redução; Entre parênteses: Intervalo de confiança. Letras maiúsculas entre as médias de cada tratamento; e letras minúsculas nas médias entre os dias de aplicação indicam diferença estatística pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. Fonte: Elaborado pelo autor.

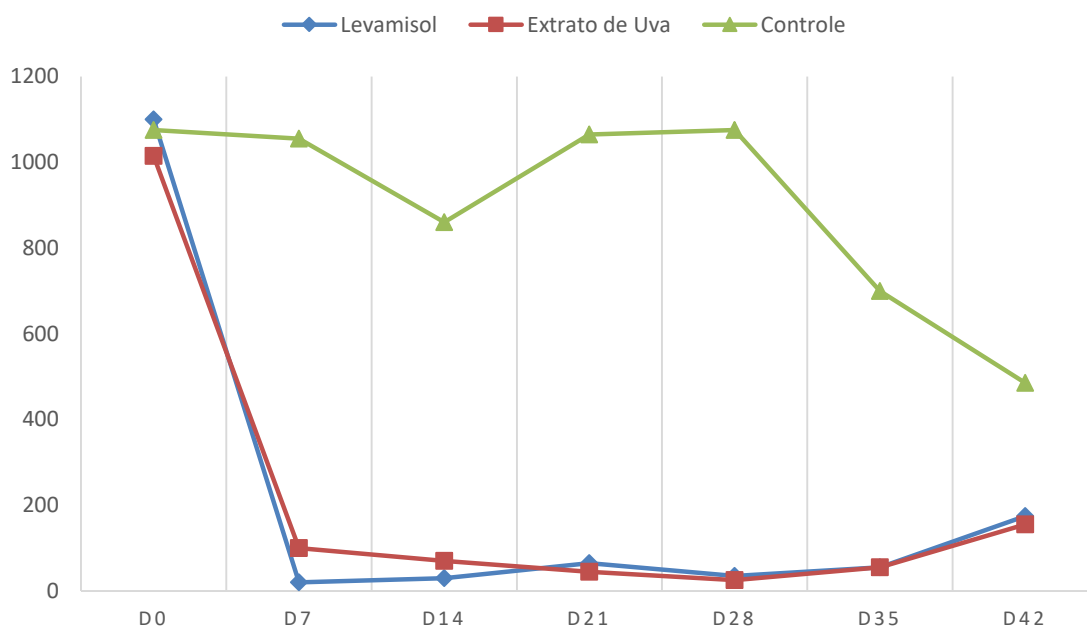
Considerando os resultados das médias de OPG, o grupo tratado com extrato apresentou queda progressiva em seus valores a cada coleta, no dia 21 essa média foi de 45 OPG, atingindo um percentual de R-OPG de 95,8%, mas sua maior redução foi de 97,7%, 14 dias após a segunda dose do extrato (D28), semelhante ao grupo tratado com levamisol que teve um percentual de 96,7%.

No D35 os grupos tratados com extrato e levamisol atingem a mesma média de OPG (55), apresenta um aumento em suas médias, e conseqüentemente redução dos valores do percentual de R-OPG.

E no último dia de coleta (D42), o valor de OPG do grupo tratado com levamisol diferiu da coleta anterior demonstrando um aumento significativo de suas médias (175), já o grupo controle não diferiu do D7 ao D42, obteve um percentual de redução de 68% no D42

Como podemos observar na figura 2, o grupo tratado com levamisol apresentou uma queda acentuada logo no início do estudo e a partir do dia 35 começou a elevar a média de OPG.

Figura 2. Dinâmica da contagem de ovos por gramas de fezes dos três grupos durante 42 dias.



Fonte: Elaborado pelo autor.

No dia 7, o grupo tratado com extrato apresentou uma considerável queda na média de OPG após a primeira aplicação, depois se manteve constante, no dia 28 houve mais uma queda, e no dia 42 apresentou um aumento relevante.

No grupo controle ocorreu uma queda no D14 e logo em seguida um aumento no número de OPG e a partir do dia 28 foi observado uma queda, que se manteve durante todo o estudo a cima dos demais grupos.

A cultura de fezes e identificação de L3 infectantes, no início do experimento os animais apresentaram uma maior prevalência de *Haemonchus* spp em relação a *Cooperia* spp, como descrito na Tabela 4.

Tabela 4. Porcentagem de larvas de helmintos gastrointestinais de ovinos observadas durante as coletas, através da coprocultura dos tratamentos com Cloridrato de Levamisol 5% na dose de 5 mg/kg de peso vivo, extrato bruto do bagaço de uva na concentração de 494mg/mL de peso vivo e controle.

| Dias | Larvas de Helmintos Gastrointestinais (%) | | |
|------------|-------------------------------------------|----------------|-----------|
| | Levamisol | Extrato de Uva | Controle |
| D0 | H80% C20% | H84% C16% | H73% C27% |
| D7 | H100% | H100% | H69% C31% |
| D14 | H100% | H100% | H64% C36% |
| D21 | H100% | H100% | H81% C19% |
| D28 | H100% | H100% | H94% C6% |
| D35 | H100% | H100% | H100% |
| D42 | H100% | H100% | H100% |

Legenda: H – *Haemonchus*, C – *Cooperia*. Fonte: Elaborado pelo autor.

No grupo tratado com Levamisol e extrato, a partir do dia sete, houve predominância só de *Haemonchus* spp até o final do estudo. Já o grupo controle, do dia zero ao dia 28, apresentou larvas de *Haemonchus* spp e *Cooperia* e a partir do dia 35, prevaleceu somente *Haemonchus* spp.

5.2.1 Análise dos parâmetros bioquímicos

Devido a maior concentração do extrato bruto de bagaço de uva utilizada no estudo 2, foram avaliadas variáveis bioquímicas conforme os padrões de referência preconizados por Kaneko *at al.*, (2008), um dos mais citados na literatura, descritos na Tabela 5.

Tabela 5 - Parâmetros bioquímicos em ovinos tratados com o extrato bruto do bagaço de uva a 494 mg/mL.

| ANIMAIS | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | Unidade |
|--------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|---------|
| GGT Ref. (20-52) | D0 | 53 | 27 | 27 | 29 | 61 | 31 | 53 | 36 | 40 | 36 | µl |
| | D7 | 53 | 55 | 33 | 42 | 63 | 42 | 59 | 48 | 44 | 40 | µl |
| | D14 | 55 | 53 | 40 | 33 | 48 | 36 | 48 | 42 | 38 | 36 | µl |
| | D21 | 55 | 44 | 38 | 36 | 21 | 12 | 50 | 38 | 44 | 38 | µl |
| AST Ref. (60-280) | D0 | 131 | 162 | 132 | 99 | 148 | 131 | 83 | 167 | 150 | 131 | µl |
| | D7 | 122 | 139 | 125 | 110 | 124 | 106 | 82 | 139 | 132 | 129 | µl |
| | D14 | 36 | 137 | 124 | 122 | 139 | 36 | 80 | 122 | 124 | 150 | µl |
| | D21 | 127 | 204 | 117 | 131 | 106 | 89 | 78 | 132 | 125 | 124 | µl |

Legenda: GGT (Gama Glutamil Transferase), AST (Aspartato Aminotransferase) e REF (padrão de referência segundo KANEKO *et al.*, 2008). µl (microlitro). Fonte: Elaborado pelo autor.

A GGT apresentou-se alterada desde o D0 em três animais, um deles continuou alterada até o último dia, os outros dois normalizaram a partir do D14 segundo os valores de referência, porém, no presente estudo, não houve alteração após a administração do extrato.

Os valores de AST não apresentaram alterações comparando os valores antes e após a utilização do extrato de bagaço de uva, permanecendo dentro dos parâmetros de referência indicando que ele não apresentou possível hepatotoxicidade na concentração e na dose utilizada.

O tratamento com o extrato bruto do bagaço de uva não aponta alterações nas funções hepáticas como observado por meio dos parâmetros bioquímicos.

6 DISCUSSÃO

6.1 Estudo 1: Extrato na Concentração de 184 mg/mL.

O uso de óleos de plantas e extratos, como o bagaço de frutas, tem sido amplamente estudado como uma alternativa aos anti-helmínticos no tratamento de helmintos gastrointestinais em ovinos (WAGLAND *et al.*, 1992), pois podem ser

fontes de fitoconstituintes, que apresentam várias propriedades biológicas (DJILAS *et al.*, 2009), assim como o extrato de bagaço de uva escolhido para o presente estudo.

No presente estudo, foi possível observar uma efetividade do extrato hidroetanólico a partir do 14º dia após a primeira administração do extrato. Segundo Coles *et al.* (1992) e Martin *et al.* (1985) se o tempo para avaliação de R-OPG for inferior a 10 dias pós-tratamento, a produção de ovos poderá ser anulada, levando a superestimação da eficácia anti-helmíntica, por esse motivo, a recomendação é coletar amostras de fezes 10 a 14 dias após o tratamento.

Nossos resultados foram semelhantes aos do estudo realizado com o extrato bruto hidroalcoólico de janaúba (*H. drasticus*) que em condições *in vivo* apresentaram efetividade na dose de 250mg/kg com redução do OPG em ovinos naturalmente infectados de 84,93% (LIMA, *et al.*, 2011). Krychak-furtado (2006) que trabalhou com *Dicksonia sellowiana* na forma de pó, ofertada para ovinos naturalmente infectados na dose de 5g/kg de peso corporal, encontrou 86,06% de redução de ovos fecais. Também encontra semelhança com os resultados de Gathuma *et al.*, (2004) avaliando *Artemisia anthelmintica* e Iqbal *et al.*, (2005) trabalhando com *Colotropis procera* ofertadas naturalmente para ovinos naturalmente infectados e obtiveram redução de 89,8% e 88,04%, respectivamente, na contagem de ovos nas fezes.

Após sete dias da segunda administração do extrato hidroetanólico (D21), foi observado o resultado mais expressivo para este tratamento, em relação ao grupo controle, indicando uma moderada efetividade podendo o produto ser registrável. O regulamento técnico para licenciamento e/ou renovação de licença de produtos antiparasitários de uso veterinário, criado pelo Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (MAPA), os testes de eficácia para novos registros de produtos são considerados altamente efetivo valores de R-OPG > 98%, efetivo (90 - 98%), moderadamente efetivo (80 - 89%) e insuficientemente ativo (< 80%) quando o produto não é possível ser registrável (MAPA, portaria n ° 48, de 12 de maio de 1997).

Resultados semelhantes foram apresentados por Silva *et al.* (2005) ao avaliarem a ação *in vivo* do extrato hidroalcoólico de capim santo (*Cymbopogon citratus*) sobre nematódeos de ovinos na concentração de 20mg/kg, tendo sido

verificado significância na diminuição de ovos fecais 10 dias após a administração do extrato.

Os resultados de nosso estudo (89%) foram superiores aos 70,4% de redução de ovos nas fezes descrita por Oliveira *et al.* (1997) quando trabalharam com folhas de *Musa spp.* incorporadas na alimentação de caprinos e também do índice de 75,9% relatado por Nogueira *et al.* (2009) na redução do OPG de ovinos tratados com *M. charantia* na dose de 4g/kg do peso corporal.

Assim como o grupo controle positivo tratado com levamisol mostrou-se efetivo até o 28º dia, com redução de OPG entre 98,1 a 100%, após administração do produto, estudos semelhantes de Melo *et al.* (2003) e Lima *et al.* (2010) reportam eficácia anti-helmíntica do levamisol em ovinos criados no Ceará e Pernambuco apresentando mais de 90% de redução de OPG, respectivamente. Ramos *et al.* (2002) e Duarte *et al.* (2010) relataram a eficácia do Levamisol em ovinos, no estado de Santa Catarina e São Paulo, respectivamente.

Em relação a cultura de fezes e identificação das larvas, o grupo controle permaneceu com predominância de *Haemonchus spp.*, mostrando constante desafios parasitários aos grupos experimentais e a ausência de fatores extra-tratamentos na redução de OPG, semelhante ao estudo de Molento *et al.* (2004). O *Haemonchus contortus* é o helminto com maior prevalência e patogenicidade verificado em rebanhos ovinos (SILVA *et al.*, 2003; AMARANTE *et al.*, 2004) em regiões tropicais. Beriajaya (2006) afirma que o efeito patogênico de *Haemonchus contortus* resulta da incapacidade do hospedeiro de compensar a perda de sangue, se a perda exceder a capacidade hematopoiética, a anemia progressiva leva o animal rapidamente à morte.

A partir de então, muitos estudos mostraram a predominância parasitária de *Haemonchus sp.* em ovinos tratados com levamisol (FERNANDES *et al.*, 2004; RAMOS *et al.*, 2004; ROSALINSKI-MORAES *et al.*, 2007; SCZESNY-MORAES *et al.*, 2010), como também determinado neste trabalho.

Segundo Coles *et al.* (1992), valores de R-OPG igual ou maior que 95% é considerado adequado como produto anti-helmíntico, porém os valores de R-OPG do grupo tratado com o extrato indicaram uma eficácia máxima de 89%, mas como já mencionado de acordo com o MAPA e a portaria n º 48, de 12 de maio de 1997, ele é considerado um produto de efetividade moderada e pode ser registrado como produto anti-helmíntico.

Com base na observação do comportamento da ação do extrato hidroetanólico, foi sinalizada a necessidade da realização de um 2º estudo utilizando maior dosagem e com análise dos parâmetros bioquímicos para verificar possível toxicidade.

6.2 Estudo 2: Extrato na Concentração de 494 mg/mL.

No estudo 2, o tratamento com extrato de bagaço de uva demonstrou efetivo para novos registros de produtos, desde o 7º dia após a primeira dose (D7), até o D35, segundo o regulamento técnico para licenciamento e/ou renovação de licença de produtos antiparasitários de uso veterinário, criado pelo Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (MAPA, portaria n ° 48, de 12 de maio de 1997). Mas foi no D21 (sete dias após a segunda dose) que o extrato foi considerado adequado como produto anti-helmntico segundo Coles *et al.* (1993).

O tratamento com extrato permaneceu efetivo até o 35º dia, apresentando efetividade semelhante ao fosfato de levamisol. Resultados semelhantes foram observados com a utilização de *Nauclea latifolia*, que apresentou eficácia anti-helmíntica no extrato aquoso da casca administrado em ovelhas naturalmente infectadas, a porcentagem de redução (93,8%) com a dosagem de 1600 mg/kg do extrato foi comparável a 5 mg/kg de albendazol (94,1%) (ONYEYILI *et al.*, 2001).

Nossos resultados foram semelhantes ao estudo com extrato da *Artemisia absinthium* em condições in vivo com dados aos quais apresentaram efetividade no extrato etanólico na dose de 2 g/kg com redução do OPG de ovelhas infectadas por *H. contortus* de 90,46% (TARIQ *et al.*, 2009) e também dos índices de 94,17 e 96,95% de redução anti-helmíntica observada por Almeida *et al.* (2007) utilizando os fitoterápicos de *M. charantia* e *C. pepo* em caprinos. Em estudo testando extratos hexânico e etanólico da semente de manga (*Mangífera indica*) em ovos de *Haemonchus* spp foi observado que o extrato etanólico inibiu 95,66% da eclosão dos ovos a 50mg/ml comparado ao extrato hexânico fornecido na mesma concentração, porém, não apresentou significância entre os tratamentos (COSTA *et al.*, 2002).

Em relação a cultura de fezes e identificação das larvas, o *Haemonchus* spp foi predominante em todos os grupos, mostrando constante desafios parasitários pois é considerado o helminto economicamente mais importante para a produção de

pequenos ruminantes, principalmente por ser hematófago, promovendo a diminuição dos valores globular médio levando a quadros de anemia (GUO *et al.*, 2016).

Conforme os dados obtidos no estudo dois, pode-se afirmar que o extrato bruto do bagaço de uva na concentração de 494 mg/mL foi eficaz após sete dias da segunda dose, apresentando redução de 95,8% no período de avaliação pós-tratamento, diferente do primeiro estudo que não atingiu a redução a cima de 95% devido a concentração do extrato.

6.2.1 Análise dos parâmetros bioquímicos

Os parâmetros bioquímicos analisados não demonstraram alterações com relação aos padrões de referência após a aplicação do extrato.

Com exceção a três animais que já vinham com a GGT alterada antes da aplicação, dois destes animais apresentaram valores dentro dos padrões de referência após a segunda aplicação do extrato e outro animal continuou com a enzima alterada até o final do estudo.

Assim como a administração do extrato bruto do bagaço de uva neste estudo, outro estudo semelhante utilizando extrato de própolis, as enzimas GGT e AST não apontaram um efeito tóxico aos ovinos (BAUNGRATZ, A. R., 2019).

A GGT possui maior atividade no córtex renal, medula renal, pâncreas, glândula mamária e fígado, sofrendo variações consequentes e significativas em doenças hepatobiliares de ruminantes (BRAUN, J. P. *et al.* 1983).

A AST é seguramente utilizada como indicador de danos nos tecidos hepáticos. Em ruminantes é o principal indicativo de danos hepáticos e transtornos metabólicos (GONZÁLEZ, 1998). É mais restrita aos hepatócitos em comparação com a GGT que pode ser encontrada em quase todos os tecidos corporais, principalmente pâncreas e rins (THRALL *et al.*, 2015). Por isso a importância de avaliarmos a hepatotoxicidade do extrato através dos parâmetros bioquímicos.

7 CONCLUSÃO

O extrato bruto do bagaço de uva, demonstrou ação antiparasitária para nematódeos gastrointestinais de ovinos nas diferentes concentrações estudadas,

sendo mais eficaz na concentração de 494 mg/mL e sem apresentar sinais de toxicidade, sendo seguras para administração em ovinos.

REFERÊNCIAS

- ABIDIA, A.; SEBAI, E.; DHIBI, M.; ALIMI, D.; REKIK, M.; B'CHIR, F.; MAIZELS, R. M.; AKKARI, H. Chemical analyses and anthelmintic effects of *Artemisia campestris* essential oil. **Veterinary Parasitology**. [S.l.], v. 263, p. 59–65, 2018.
- ADEMOLA, I. O.; FAGBEMI, B. O.; IDOWU, S. O. Anthelmintic activity of *Spigelia anthelmia* extract against gastrointestinal nematodes of sheep. **Parasitology Research**, [S.l.], v. 101, p. 63-69, 2007.
- ALBUQUERQUE, J. M. **Plantas medicinais de uso popular**. Brasília: Ministério da Educação, 1989.
- ALMEIDA, F. A.; GARCIA, K. C.; TORGERSON, P. R.; AMARANTE, A. F. Multiple resistance to anthelmintics by *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in sheep in Brazil. **Parasitology International**, [S.l.], v. 59, n. 4, p. 622-625, 2010.
- ALMEIDA, W. V. F.; SILVA, M. L. C. R.; BOTURA, M. B.; FARIAS, E. B.; ATHAYDE, A. C. R.; SILVA, W. W. Avaliação de plantas medicinais em caprinos da região do Semiárido Paraibano naturalmente infectados por nematóides gastrintestinais. **Revista Caatinga**, Mossoró, RN, v. 20, n. 3, p. 1-07, 2007.
- AMARANTE, A. F. T. Atualidades no controle de endoparasitoses ovinas. In: SIMPÓSIO PAULISTA DE OVINOCULTURA, 4., 1995, Campinas. **Anais** [...]. Campinas: CATI/SAA, 1995. p. 33-49.
- AMARANTE, A. F. T. Controle de verminose. **Revista CFMV**, [S.l.], v. 11, p. 19-30, 2005.
- AMARANTE, A. F. T. Controle integrado de helmintos de bovinos e ovinos. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, [S. l.], v. 13, Supl. 1, p. 68-71, 2004.
- ANDRONICOS, N. M.; MCNALLY, J.; KOTZE, A.C.; HUNT, P.W.; INGHAM, A. *Trichostrongylus colubriformis* larvae induce necrosis and release of IL33 from intestinal epithelial cells in vitro: Implications for gastrointestinal nematode vaccine design. **International Journal for Parasitology**, [S.l.], v. 42, p. 295-304, 2012.
- ANUALPEC. **Anuário da pecuária brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria/Agros Comunicação, 2021. p. 218.
- ATHANASIADOU, S.; KYRIAZAKIS, I.; JACKSON, F.; COOP, R. L. Direct anthelmintic effects of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: in vitro and in vivo studies. **Veterinary Parasitology**, v. 99, p. 205-219, 2001.
- BAUNGRATZ, A. R. **Extrato de própolis verde no controle de helmintos gantrointestinais de ovinos e caprinos**: estudo in vitro e in vivo. [S.l.: s.n.], 2019.

BERIAJAYA C. D. B. *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in pen-trials with Javanese thin tail sheep and Kacang cross Etawah goats. **Vet. Parasitol.**, [S./], v. 135, n. 3-4, p. 315-323, 2006.

BIANCHIN, I. **Eficiência do pó de alho (*Allium sativum*) no controle dos parasitos de bovinos**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 1999. p. 31. (Boletim de Pesquisa, n. 8).

BRAUN, J. P.; BERNARD, P.; BURGAT, V.; RICO, A. G. Gamma glutamyl transferase in domestic animals. **Veterinary Research Communications**, v. 6, n. 2, p. 77-90, 1983.

BRITO-JUNIOR, L.; SILVA, M. L. C. R.; LIMA, F. H.; ATHAYDE, A. C. R.; SILVA, W. W.; RODRIGUES, O. G. Estudo comparativo da ação anti-helmíntica do *Operculina hamiltonii* (batata de purga) e do *Mormodicacharantia* (melão de são caetano) em caprinos naturalmente infectados, **Ciência e Agrotecnologia**, Campina Grande, v. 35, n. 4, p. 797-802, 2011.

CARLIS, M. S. P.; FÉBOLI, A.; LAURENTIZ, A. C.; FILARDI, R. S.; OLIVEIRA, A. H. P.; SILVA, M. L. A.; ANJOS, L. A.; MAGALHÃES, L.G.; LAURENTIZ, R. S. In vitro anthelmintic activity of the crude hydroalcoholic extract of Piper cubeba fruits and isolated natural products against gastrointestinal nematodes in sheep. **Veterinary parasitology**, [S./], v. 275, p. 108932, 2019.

CASH, K. A.; SHANKS, B. C.; CALDWELL, J. D.; NAUMANN, H. D.; BAX, A. L.; WILBERS, L. S.; DRANE, T. N.; BASINGER, K. L.; CLARK, J. K.; BARTIMUS, H. The Use of Organic Pinot Noir Grape Extract as a Natural Anthelmintic in Katahdin Lambs. **Sheep & Goat Research Journal**, [S./], v. 31, 2016.

CEZAR, A. S.; TOSCAN, G.; CAMILLO, G.; SANGIONI, L. A.; RIBAS, H. O.; VOGEL, F.S. Multiple resistance of gastrointestinal nematodes to nine different drugs in a sheep flock in southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, [S./], v. 173, p. 157-160, 2010.

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

CINTRA, M. C.; TEIXEIRA, V. N.; NASCIMENTO, L. V.; SOTOMAIOR, C. S. Lack of efficacy of monepantel against *Trichostrongylus colubriformis* in sheep in Brazil. **Veterinary Parasitology**, [S./], v. 216, p. 4-6, 2016.

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

COSTA, C. T. C.; MORAIS, S. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; SOUZA, M. M. C.; LEITE, F. K. A. Ovicidal effect of *Mangifera indica* seeds extracts on *Haemonchus contortus*.

Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, [S.l.], v. 11, n. 2, p. 57-60, 2002.

D'ADDABBO, T.; CARBONARA, T.; LEONETTI, P.; RADICCI, V.; TAVA, A.; AVATO, P. Control of plant parasitic nematodes with active saponins and biomass from *Medicago sativa*. **Phytochemistry Reviews**, [S.l.], v. 10, p. 503–519, 2011

DJILAS, S. M.; ČANADANOVIĆ-BRUNET, J.; ĆETKOVIĆ, G. By-products of fruits processing as a source of phytochemicals. **Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly**, [S.l.], v. 15, 191-202, 2009.

DORETTO, J. S. **Influência do tempo e da temperatura de estocagem sobre a estabilidade de alguns constituintes do soro sanguíneo de bovinos**. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias Veterinárias da UNESP, 1996. 61p.

DUARTE, F. C. F.; SILVA, I. C. ESTEVES, A.; ALONSO, R.; STORANI, S.; BELO, M. A. A.; SOUZA, L. M.; SOARES, V. E. Eficácia anti-helmíntica de cloridrato de levamisol (7,5%), via subcutânea, em ovinos do município de Descalvado/SP. **Revista Saúde**, [S.l.], v. 4, sup. 1, 2010.

EMERY, D. L.; HUNT, P.W.; LE JAMBRE, L. F.; *Haemonchus contortus*: the then and now, and where to from here?. **International Journal for Parasitology**, [S.l.], v. 46, n. 12, p. 755-769, 2016.

FERNANDES, L. H.; SENO, M. C. Z.; AMARANTE, A. F. T.; SOUZA, H.; BELLUZZO, C. E. C. Efeito do pastejo rotacionado e alternado com bovinos adultos no controle da verminose em ovelhas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 6, p. 733-740, 2004.

IQBAL, Z., LATEEF, M., ASHRAF, M., JABBAR, A. MUHAMMAD, G., KHAN, M. N., Anthelmintic activity of *Calotropis procera* (Ait.) flowers in sheep. **Journal of Ethnopharmacology**, Pakistan, v. 102, n. 1-3, p. 256-261, 2005.

GARCIA, L. S. **Parasitologia médica diagnóstica**. 5 ed. Washington, DC: ASM, 2007.

GATHUMA, J. M., MBARIA, J. M., WANYAMA, J., KABURIA, H. F. A., MPOKE, L., MWANGI, J. N., SAMBURU AND TURKANA HEALERS. Efficacy of *Myrsine africana*, *Albizia anthelmintica* and *Hilderbrandtia sepalosa* herbal remedies against mixed natural sheep helminthosis in Samburu district, Kenya. **Journal of Ethnopharmacology**, [S.l.], v. 91, p. 7-12, 2004.

GEARY, T. G. Ivermectin 20 years on: Maturation of a wonder drug. **Trends 19 Parasitol.**, [S.l.], v. 21, n. 11, p. 530-532, 2005.

GIRÃO, E. S.; CARVALHO, J. H.; LOPES, A. S.; MEDEIROS, L. P.; GIRÃO, R. N. **Avaliação de plantas medicinais com efeito anti-helmíntico para caprinos**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 1998.

GONZALEZ, F. H. D. **Bioquímica clínica: patologia clínica veterinária: texto introdutório**. [S.l.: s.n.], 1998.

GORDON, H. M; WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization**, Washington, v. 12, n.1, p. 50-52, 1939.

GUO, Z.; GONZÁLEZ, J. F.; HERNANDEZ, J. N.; MCNEILLY, T. N.; CORRIPIO-MIYAR, Y.; FREW, D.; MORRISON, T.; YU, P.; LI, R. W. Possible mechanisms of host resistance to *Haemonchus contortus* infection in sheep breeds native to the Canary Islands. **Scientific Reports**, [S.l.], v. 6, p. 01-14, 2016.

IDRIS, A.; MOORS, E.; SOHNREY, B.; GAULY, M. Gastrointestinal nematode infections in German sheep. **Parasitology research**, [S.l.], v. 110, n. 4, p. 1453-1459, 2012.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008. 916 p.

KATIKI, L. M.; BARBIERI, A. M. E.; ARAUJO, R. C.; VERÍSSIMO, C. J.; LOUVANDINI, H.; FERREIRA, J. F. S. Synergistic interaction of ten essential oils against *Haemonchus contortus* in vitro. **Veterinary Parasitology**. [S.l.], v. 243, p. 47-51, 2017.

KEITH, R. K. The differentiation of the infective larvae of some common nematode parasites of cattle. **Australian Journal of Zoology**, Victoria, v. 1, n. 2, p. 223-235, 1953.

KRYCHAK-FURTADO, S. **Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no estado do Paraná: testes *in vitro* e *in vivo***. 2006. 147 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids. **The Scientific World Journal**, New York, v. 1, n. 1, p. 1-16, 2013.

LESHURE, S. N., **Use of naturally occurring anthelmintics to control parasites in small ruminants**. 2014. Dissertation (Graduate Program in Animal Sciences) - The Ohio State University, 2014.

LIMA, F. C. **Janaúba (*Himatanthus Willd. Ex. Schult.*): Apocynaceae no controle de nematódeos gastrintestinais em ovinos**. 2011. xiii, 137 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011.

LIMA, M. M.; FARIAS, M. P. O.; ROMEIRO, E. T.; FERREIRA, D. R. A.; ALVES, L. C.; FAUSTINO, M. A. da G. Eficácia da moxidectina, ivermectina e albendazole contra helmintos gastrintestinais em propriedades de criação caprina e ovina no Estado de Pernambuco. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, GO, v. 11, n. 1, p. 94-100, 2010.

MACEDO, I.T.F.; OLIVEIRA, L.M.B.; RIBEIRO, W.L.C.; SANTOS, J.M.L.; SILVA, K.C.; FILHO J.V.A.; VASCONCELOS, A.L.F.C.; BEVILAQUA, C.M.L. Anthelmintic activity of *Cymbopogon citratus* against *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, [S.l.], v. 24, n.3, p. 268-275, 2015.

MAIOLI-AZEVEDO, V.; FONSECA-KRUEL, V.S. Plantas medicinais e ritualísticas vendidas em feiras livres no município do Rio de Janeiro, R. J.: Brasil: estudo de caso da zona norte e sul. **Acta Botânica Brasílica**, São Paulo, v. 21, n. 2, 2007.

MAGALHÃES, K. A. **Ovinocultura e caprinocultura: conjuntura econômica, aspectos produtivos de 2017 e perspectivas para 2018**. [S.l.]: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2017. Disponível em: <https://www.embrapa.br/documents/1355090/0/Boletim+Centro+de+Intelig%C3%AAncia+2/66cfee91-af05-3561-cb2a-233a1b127374>. Acesso em: 20 fev. 2022.

MAPA. Ministério da agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria n ° 48, de 12 de maio de 1997. 2018. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-veterinarios/legislacao-1/portaria/portaria-sda-mapa-no-48-de-12-05-1997.pdf/view>. Acesso em: 20 fev. 2022.

MARQUES, A. M.; VELOZO, L. S. M.; MOREIRA, D. L.; GUIMARÃES, E. F.; KAPLAN, M. A. C. Aristolactams from roots of *Ottonia anisum* (Piperaceae). **Natural Product Communications**, [S.l.], v. 6, p. 939-942, 2011.

MARTIN, P. J.; ANDERSON, N.; JARRETT, R. G. Resistance to benzimidazole anthelmintics in field strains of *Ostertagia* and *Nematodirus* in sheep. **Aust. Vet. J.**, [S.l.], v. 62, p. 38-43, 1985.

MELO, A. C. F. L.; BEVILAQUA, C. M. L.; SELAIVE, A. V.; GIRÃO, M. D. Resistência a anti-helmínticos em nematóides gastrintestinais de ovinos e caprinos, no município de Pentecoste, Estado do Ceará. **Ciência Animal**, [S.l.], v. 8, n. 1, p. 7-11, 1998.

MELO, A. C. F. L.; REIS, I. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; VIEIRA, L. S. ECHEVARRIA, F. A. M.; MELO, L. M. Nematóides resistentes a anti-helmínticos em rebanhos de ovinos e caprinos do estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 2, p. 339-344, 2003.

MENGISTU, G.; HOSTE, H.; KARONEN, M.; SALMINEN, J.P.; HENDRIKS, W.H.; PELLIKAN, W.F. The in vitro anthelmintic properties of browse plant species against *Haemonchus contortus* is determined by the polyphenol content and composition. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 237, p. 110-116, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.12.020>. Acesso em: 20 fev. 2022.

MOLENTO, M. B.; TASCA, C.; GALLO, A.; FERREIRA, M.; BONONI, R.; STECCA, E. Método FAMACHA como parâmetro clínico individual de infecção por *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 1139-1145, 2004.

MONTEIRO, S. G. **Parasitologia na medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2010. Cap. Classe nematoda.

NISTOR, E.; DOBREI, A.; DOBREI, A.; BAMPIDIS, V.; CIOLAC, V. Grape pomace in sheep and dairy cows feeding. **Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology**, v. 18, p. 146–150, 2014.

NOGUEIRA, D. M. Utilização de folhas da bananeira no controle de nematódeos gastrintestinais de ovinos na região Semiárida. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, RS, v. 4, n. 2, p. 2767- 2771, 2009.

OLIVEIRA, A. F.; COSTA JUNIOR, L. M.; LIMA, A. S.; SILVA, C.R.; RIBEIRO, M. N.; MESQUISTA, J. W.; ROCHA, C. Q.; TANGERINA, M. M.; VILEGAS, W. Anthelmintic activity of plant extracts from Brazilian savanna. **Veterinary Parasitology**, [S./], v. 236, p. 121- 127, 2017.

OLIVEIRA, P. A.; PINTO, D. M.; RUAS, J. L.; SANTOS, T. R. B.; PAPPEN, F. G.; SALVADEGO, T. A.; BORBA, T. C.; FERIGOLLO, A. P. Eficácia de diferentes fármacos no controle parasitário em ovinos. **Science and Animal Health**, [S./], v. 2, n. 2, p. 126-136, 2014.

OLIVEIRA, A. F.; AKISUE M. K. **Fundamentos de farmacobotânica**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1997.

PAIVA, F. Resistência a ivermectina constatada em *Haemonchus placei* e *Cooperia punctata* em bovinos. **A Hora Veterinária**, v. 20, n. 120, p. 29-32, 2001.

PINTAĆ, D.; MAJKIĆ, T.; TOROVIĆ, L.; ORČIĆ, D.; BEARA, I.; SIMIN, N.; MIMICA-DUKIĆ, N.; LESJAK, M. Solvent selection for efficient extraction of bioactive compounds from grape pomace. **Industrial Crops and Products**, [S./], v. 111, p. 379-390, 2018.

PIZA, M. L. S. T.; FÉBOLI, A.; AUGUSTO, J. G.; ANJOS, L. A.; LAURENTIZ, A. C.; ROYO, V. A.; ALVARENGA, F. Q.; LAURENTIZ R. S. In vitro ovicidal and larvicidal activity of *Psidium cattleianum* Sabine leaves against gastrointestinal nematodes of naturally infected sheep. **Boletim de indústria animal**, [S./], v. 76, p. 1-8, 2019.

RAMOS, C. I.; BELLATO, V.; ÁVILA, V. S.; COUTINHO, G. C.; SOUZA, A. P. Resistência de parasitos gastrintestinais de ovinos a alguns anti-helmínticos no Estado de Santa Catarina, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 3. p. 473-477, 2002.

RAMOS, C. L.; BELLATO, V.; SOUZA A. P.; ÁVILA, V. S.; COUTINHO, G. C.; DALAGNOLL, C. A. Epidemiologia das helmintoses gastrintestinais de ovinos no Planalto Catarinense. **Ciência Rural**, [S./], v. 34, n. 6, p. 1889-1895, 2004.

REINIGER, R. C. P.; DIAS DE CASTRO, L. L.; BENAVIDES, M. V.; BERNE, M. E. A. Can *Haemonchus placei*-primary infected naïve lambs withstand *Haemonchus contortus* infections? **Research in Veterinary Science**, [S./], v. 114, p. 136–142, 2017.

ROBERTS, F. H. S.; O'SULLIVAN, P. J. Methods for eggs counts and larval cultures for Strongyles infecting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 1, n.1, p. 99-192, 1950.

ROSALINSKI-MORAES, F.; MORETTO, L. H.; BRESOLIN, W. S.; GABRIELLI, I.; KAFER, L.; ZANCHET, I. K.; SONAGLIO, F.; THOMAZ-SOCCOL, V. Resistência Anti-helmíntica em rebanhos ovinos da região da associação dos municípios do Alto Irani (AMAI), oeste de Santa Catarina. **Ciência Animal Brasileira**, [S./], v. 8, n. 3, p.

559-656, jul/set. 2007.

SANTOS, C. D.; CAMPESTRINI, L.H.; VIEIRA, D.L.; PRITSCH, I.; YAMASSAKI, F.T.; ZAWADZKI-BAGGIO, S.F.; MAURER, J.; MOLENTO, M.B. Chemical characterization of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Hydroalcoholic extract and its efficiency against gastrointestinal nematodes of sheep. **Veterinary Sciences**, [S.l.], v. 5, p. 80-93, 2018.

SANTOS, A. R.; PINHEIRO, A. C.; SODERO, A. C. R.; CUNHA, A. S.; PADILHA, M. C.; SOUSA, P. M.; FONTES, S. P.; VELOSO, M. P.; FRAGA, C. A. M. Atropoisomerismo: o efeito da quiralidade axial em substâncias bioativas. **Química Nova**, [S.l.], v. 30, n. 1, p. 125-135, 2007.

SANTOS, V. T.; GONÇALVES, P. C. Verificação de estirpes de *Haemonchus contortus* resistentes ao Thiabendazole no Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista da faculdade de agronomia e veterinária**, [S.l.], v. 9, p. 201-209, 1967.

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. **Pesq. Vet. Bras.**, [S. l.], v. 30, p. 229-36, 2010.

SOARES, S. C. S.; LIMA, G. C.; LAURENTIZ, A. C.; FÉBOLI, A.; ANJOS, L. A.; CARLIS, M. S. P.; FILARDI, R. S.; LAURENTIZ, R. S. In vitro anthelmintic activity of grape pomace extract against gastrointestinal nematodes of naturally infected sheep. **International Journal Of Veterinary Science And Medicine**, Giza, v. 6, n. 2, p. 243-247, 2018.

SILVA, F. C. **Resposta de ovinos naturalmente infectados por nematóides gastrintestinais em pastos de Capim-massai**. 2016. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Macaíba, 2016. p. 64.

SILVA, W. W.; BEVILAQUA, C. M. L.; RODRIGUES, M. L. A. Variação sazonal de nematóides gastrintestinais em caprinos traçadores no Semi-árido Paraibano-Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 2, p. 71-75, 2003.

SILVA, W. W.; BRITO, A. F. S.; MARINHO, F. A.; MARINHO, F. A.; RODRIGUES, O. G.; ATHAYDE, A. C. R. Ação do extrato alcoólico do capim santo (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) sobre nematóides gastrintestinais de ovinos. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, Campina Grande, v. 1, n. 1, p. 46-49, 2005.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora UFRGS; Florianópolis: /Editora UFSC, 1999.

SOLDERA-SILVA, A.; SEYFRIED, M.; CAMPESTRINI, L. H.; ZAWADZKI-BAGGIO, S. F.; MINHO, A. P.; MOLENTO, M. B.; MAURER, J. B. B. Assessment of anthelmintic activity and bio-guided chemical analysis of *Persea americana* seed extracts. **Veterinary Parasitology**, v. 251, n.15, p. 34-43, 2018.

SPIEGLER, V.; LIEBAU, E.; HENSEL, A. Medicinal plant extracts and plant-derived polyphenols with anthelmintic activity against intestinal nematodes. **Natural Product Reports**, [S.l.], 2017.

SUNILA, E. S.; KUTTAN, G. Immunomodulatory and antitumor activity of Piper longum Linn. And piperine. **J. Ethnopharmacol.**, [S.l.], v. 90, n. 2-3, p. 339- 346, 2004.

TARIQ, K. A.; CHISHTI, M. Z.; AHMAD, F.; SHAWL, A. S. Anthelmintic activity of extracts of Artemisia absinthium against ovine nematodes. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 9, p. 83-88, 2009

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. **Veterinary parasitology**. 4. ed. Iowa: John Wiley and Sons, 2016.

TOSCANO, J. H. B.; LOPES, L. G.; GIRALDELO, L. A.; SILVA, M. H.; OKINO, S. H.; CHAGAS, A. C. S. Identification of appropriate reference genes for local immune-related studies in Morada Nova sheep infected with Haemonchus contortus. **Molecular biology reports**, [S.l.], v. 45, n. 5, p. 1253-1262, 2018.

URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; DUNN, A. M.; JENNINGS, F. W. **Parasitologia veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

VILLALBA, J. J.; PROVENZA, F. D.; HALL, J. O.; LISONBEE, L. D. Selection of tannins by sheep in response to gastrointestinal nematode infection. **J. Anim. Sci.**, [S.l.], v. 88, p. 2189–2198, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2272>. Acesso em: 20 fev. 2022.

VILLEGAS, H. M. M.; ARGÁEZ, R. B.; VIVAS, R. I. R.; ACOSTA, J. F. T.; GONZÁLEZ, M. M.; FARFÁN, M. C. In vivo anthelmintic activity of Phytolacca icosandra against Haemonchus contortus in goats. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], Amsterdam, v. 189, n.1, p. 284-290, 2012.

WAGLAND, B. M.; JONES, W. O.; HRIBAR, L.; BENDIXSEN, T.; EMERY, D. L. A new simplified assay for larval migration inhibition. **International journal for parasitology**, [S.l.], v. 22, p.1183–1185, 1992;

WALLER, P. J. Nematode parasite control of livestock in the tropics/subtropics: the need for novel approaches. **International Journal for Parasitology**, [S.l.], v. 27, n. 10, p.1193- 1201, 1997.

WILLIAMS, A. R.; ROPIAK, H. M.; FRYGANAS, C.; DESRUES, O.; MUELLER-HARVEY, I.; THAMSBORG, S. M. Assessment of the anthelmintic activity of medicinal plant extracts and purified condensed tannins against free-living and parasitic stages of Oesophagostomum dentatum. **Parasites & Vectors**, [S.l.],v. 7, p.518, 2014

WURSTHORN, L.; MARTIN, P. **Anthelmintic resistance**. [S.l.]: CSIRO, 1989.

YU, J.; AHMEDNA, M. Functional components of grape pomace: their composition, biological properties and potential applications. **Int. J. Food Sci. Technol.**, [S.l.], v. 48, p. 221–237, 2013

ZAJAC, A. M. Gastrointestinal nematodes of small ruminants: life cycle, anthelmintics, and diagnosis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, [S.l.], v. 22, n. 3, p. 529–541, 2006.