



## EFICÁCIA DO LIMONENO NO CONTROLE DE *HAEMONCHUS CONTORTUS* EM OVINOS

Priscila de Rezende **Miranda**<sup>1</sup>; Guilherme Fávero **Luciani**<sup>2</sup>; Leandro **Rodrigues**<sup>3</sup>; Cecília José **Verissimo**<sup>4</sup>; Luciana Morita **Katiki**<sup>5</sup>

Nº 20706

**RESUMO** – A existência de cepas multirresistentes do *Haemonchus contortus* aos fármacos sintéticos fez crescer o interesse na ação farmacológica de fitoterápicos. Nesse aspecto, a pasta contendo limoneno foi testada *in vivo* e *in vitro*. No teste *in vivo* 12 ovinos foram infectados artificialmente com 8.000 larvas de estágio L3 de *H. contortus*. Após fixação da infecção, foram realizados 2 protocolos de estudo, onde os animais foram divididos em 2 grupos experimentais (controle e tratado), com infecção similares. No primeiro protocolo, o grupo tratado recebeu pasta contendo 18 gramas de limoneno em dose única. Para determinação no nível de infecção e eficácia do produto, exames de contagem de ovos por grama de fezes foram realizados. Não houve eficácia em dose única. No segundo protocolo o grupo tratado recebeu a mesma quantidade da pasta por 3 dias consecutivos. Esse protocolo permitiu uma redução da contagem dos ovos em 100% após 16 dias do início do tratamento, no entanto, a infecção aumentou novamente e ao final da observação (23 dias do início do tratamento) foi observado 58,37% na redução da contagem de ovos em relação ao grupo controle. Um teste *in vitro* foi realizado para se avaliar a possibilidade de interferência do limoneno sobre a eclosão de ovos. A pasta foi eficiente somente até 3 dias da última administração (100% de inibição), porém, o efeito cessou com 5 dias da última administração. Devido a diminuição na contagem de ovos no tratamento com 3 doses de limoneno e a interferência na viabilidade dos ovos do parasita pôde-se concluir que a pasta de limoneno pode ser uma possível alternativa para controle de *H. contortus*, exigindo maiores estudos para confirmação dos resultados.

**Palavras-chaves:** limoneno, *Haemonchus contortus*, fitoterapia, ovinos, anti-helmínticos.

<sup>1</sup> Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Medicina Veterinária, FAM, Americana - SP; - prideremi@gmail.com;

<sup>2</sup> Estagiário (CIEE): Graduação em Medicina Veterinária, FAC, Campinas – SP;

<sup>3</sup> Bolsista Fundepag : Farmaceutico, Mestre em Produção Animal Sustentável, IZ, Nova Odessa – SP;

<sup>4</sup> Pesquisadora Instituto de Zootecnia (IZ/APTA/SAA), Nova Odessa - SP;

<sup>5</sup> Orientadora: Pesquisadora Instituto de Zootecnia (IZ/APTA/SAA), Nova Odessa – SP - lmkatiki@iz.sp.gov.br.



**ABSTRACT** – *The existence of multidrug-resistant strains of Haemonchus contortus to synthetic drugs has increased interest in the pharmacological action of herbal medicines. In this regard, the paste containing limonene was tested in vivo and in vitro. In the in vivo test 12 sheep were artificially infected with 8,000 L3 larvae of H. contortus. After fixing the infection, 2 study protocols were carried out, where the animals were divided into 2 experimental groups (control and treated), with similar infections. In the first protocol, the treated group received a paste containing 18 grams of limonene in a single dose. To determine the level of infection and efficacy of the product, exams of egg count per gram of feces were performed. There was no efficacy in a single dose. In the second protocol, the treated group received the same amount of paste for 3 consecutive days. This protocol allowed a reduction in the egg count by 100% after 16 days from the beginning of the treatment, however, the infection increased again and at the end of the observation (23 days from the beginning of the treatment), 58.37% was observed in the reduction of the count of eggs in relation to the control group. An in vitro test was carried out to assess the possibility of limonene interference on the hatching of eggs. The paste was effective only up to 3 days after the last administration (100% inhibition), however, the effect ceased within 5 days of the last administration. Due to the decrease in egg count in the treatment with 3 doses of limonene and the interference in the viability of the parasite's eggs, it was concluded that the limonene paste may be a possible alternative for the control of H. contortus, requiring further studies to confirm the results.*

**Keywords:** limonene, Haemonchus contortus, herbal medicine, sheep, anthelmintics.



## 1 INTRODUÇÃO

*H. contortus* é um nematoide pertencente à família *Trichostrongylidae*, parasita de maior prevalência encontrado em rebanhos ovinos, cuja patogenicidade está relacionada ao seu grande potencial hematófago. Quando na sua fase adulta, o nematoide remove através da ingestão direta ou através da perda de sangue pelas lesões que causa no abomaso, em média 0,05 ml de sangue por dia do hospedeiro (Amarante et al., 2004). Essa agressividade é o que caracteriza a patologia, devido ao quadro anêmico que desenvolve através da perda significativa do volume total de eritrócitos circulantes no hospedeiro. Além da redução nas reservas de ferro e eritropoiese, ocasionada pela perda proteica (Bowman, 2010).

A cronicidade da patologia desencadeia no hospedeiro a redução no volume globular, palidez das mucosas, edema submandibular, edema abdominal e perda de peso. Quadro que pode ser agravado pela desnutrição causada pela falta de pastagem que acontecem pelas mudanças climáticas das estações do ano (Radostits, 2002). Quando se apresenta na forma hiperaguda, pode ocasionar morte súbita, por desenvolver no hospedeiro um quadro de gastrite hemorrágica intensa com diminuição da concentração sanguínea de proteínas totais, em especial a albumina (Bricarello et al., 2002).

A busca pela sustentabilidade na sanidade da produção animal direciona pesquisas para o desenvolvimento alternativo que permitam o tratamento dos animais sem que resíduos sejam depositados em seus produtos e no ambiente, como também, na elaboração de produtos favorecendo a produção sustentável (Coles et al., 2006).

Nesse aspecto, para o controle parasitológico, diferentes plantas tem demonstrado que podem conter um grande e variado número de metabólitos secundários, ou substâncias farmacologicamente ativas, incluindo óleos essenciais, enzimas proteolíticas, lectinas e polifenóis (taninos) que podem produzir efeitos diretos ou indiretos, de maneira isolada ou em conjunto, sobre parasitas gastrointestinais (Jackson & Gordon, 2008). A escolha das espécies para estudos farmacológicos deve levar em consideração a padronização operacional, os dados relacionados aos conhecimentos populares mais relevantes e relacionados aos sistemas tradicionais de medicina (McChesney JD et al., 2007). Pois o resgate do conhecimento etnofarmacológicos tem indicado resultados positivos nos testes *in vitro*, mas a validação científica necessária aos efeitos anti-helmínticos e possíveis efeitos colaterais de grande parte dos produtos vegetais ainda é limitada (Souza, C. M. et al., 2007), porém fundamental para a utilização correta aos fins comerciais. Como é grande o interesse em explorar a atividade anti-helmíntica de plantas ou seus



produtos, também, é crescente o interesse de se encontrar o melhor meio de utilização da sua bioatividade (Jackson e Gordon, 2008).

O objetivo deste trabalho foi a determinação da eficácia da ação anti-helmíntica da pasta de limoneno no controle de *H. contortus* em ovinos. Através da realização do teste *in vivo*, com a administração da pasta de limoneno aos animais artificialmente infectados com cepa conhecida de *H. contortus*, também, o teste *in vitro* de inibição da eclosão de ovos (IEO), através de ovos recuperados das fezes de ovinos artificialmente infectados com o nematódeo. Devido à resistência em ovinos ainda ser um entrave que necessita ser entendido, o desenvolvimento de compostos fitoquímicos podem ser alternativos aos efeitos negativos causados pelos anti-helmínticos sintéticos (Vieira, 2003).

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Produção da pasta de limoneno**

A pasta de limoneno foi produzida pela empresa HYG Systems de acordo com metodologia própria e não divulgada. A pasta continha em cada grama de produto, 500 mg de limoneno. A pasta foi acondicionada em seringas para medicamentos veterinários para uso oral de modo que cada animal recebeu 18 gramas de limoneno (36 gramas de produto) por 1 ou 3 dias.

### **2.2. Alojamento dos animais do projeto**

Os animais foram recebidos no confinamento, pesados, identificados através de colares numéricos e vermifugados com dosagem individual de Cloridrato de Levamisol (Ripercol) (SC) e Monepantel 2,5% (Zolvix) (VO). Dez dias após seguiu-se o exame de contagem de ovos por grama de fezes (OPG), constatou-se que não havia eliminação de ovos nas fezes de nenhum dos animais em seguida, todos os animais foram infectados com 4.000 larvas L3 de cepa *H. contortus* resistente conhecida. Repetiu-se a infecção por segurança, quatro dias após, com a mesma quantidade de larvas L3 da cepa resistente conhecida de modo que cada animal recebeu 8.000 L3.

### **2.3. OPG**

Fezes foram coletadas diretamente do reto dos animais (aproximadamente 10g, armazenadas individualmente), as amostras foram pesadas (2g para cada amostra), as amostras foram trituradas, diluídas em 28 ml de solução salina de cloreto de sódio (densidade 1:3000). Em seguida, com uma pipeta Pasteur, foram retiradas pequenas quantidades da solução, para preencher os dois espaços da câmara de McMaster. Após 2 minutos cada câmara foi levada ao



microscópio, sob a objetiva de 10 vezes, para realização da contagem dos ovos contidos nos dois lados da câmara, sendo que o total de ovos encontrados foi multiplicado por 50.

#### 2.4. Teste *in vivo* com a pasta de limoneno

Dois experimentos foram realizados com diferentes tratamentos. Assim, no experimento 1 os animais foram tratados com 18 gr de pasta de limoneno em dose única, no experimento 2 os animais foram tratados com 18g de limoneno/dia, por 3 dias consecutivos.

#### 2.5. Teste *in vitro* de inibição da eclosão de ovos (IEO)

Os ovos eliminados pelas fezes de animais tratados com a pasta de limoneno foram avaliados quanto a sua capacidade de evolução através do teste de inibição da eclosão de ovos e comparados com os ovos das fezes dos animais não tratados.

Recuperação de ovos de *H. contortus*: fezes foram coletadas diretamente do reto do animal (aproximadamente 50g), em seguida, solubilizadas em água morna ( $\pm 27^\circ\text{C}$ ). A recuperação dos ovos ocorre através da passagem dessa solução por peneiras de 1 mm, 105  $\mu\text{m}$ , 55  $\mu\text{m}$  e 25  $\mu\text{m}$ . Na peneira de 25  $\mu\text{m}$  os ovos ficam retidos, em seguida são lavados com água destilada, centrifugados (durante 3 minutos a 3000 RPM), descartado o sobrenadante e ressuspensos em solução salina hipertônica. O processo é repetido até a remoção do excesso de sujidades e permanecendo apenas os ovos no tubo. O procedimento foi realizado com um *pool* de fezes do grupo controle e um *pool* de fezes do grupo tratado com limoneno.

Aproximadamente 20  $\mu\text{L}$  da suspensão contendo 100 ovos foram acondicionados em 6 poços de placas de 24 poços. Calculado o volume final de 1mL, cada poço foi completado com água destilada. Seis replicatas foram realizadas para cada tratamento e também para os controles. As placas foram incubadas a 27 graus durante 24 horas.

#### 2.6. Cálculos estatísticos

Com base nos resultados dos exames OPG, calculou-se a redução de ovos e a eficácia terapêutica da pasta de limoneno testada nos dois experimentos. De acordo com a equação:

$$\% \text{ Eficácia} = 100 \times \frac{(\text{Média arit. grupo controle} - \text{Média arit. grupo teste})}{\text{Média arit. grupo controle}}$$

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Experimento 1

Aos animais do grupo tratado foram administradas dose única de 18 gramas por via oral da pasta de limoneno. Não foram observados resultados positivos na redução na contagem de ovos, em relação ao grupo controle. Conforme apresentado na tabela 1. O resultado pode ser explicado devido ao condicionamento das características de dissolução e solubilidade das substâncias de alguns fármacos anti-helmínticos administrados por via oral, interagirem no ambiente gástrico do hospedeiro, sendo o local de permanência e ação fundamentais para ser eficaz (Chakoftaki et al., 2009).

Importante ressaltar que não foram observados sinais clínicos de intoxicação como apatia, anorexia ou sintomatologia nervosa entre os animais do grupo tratado, durante o experimento.

**Tabela 1.** Experimento 1 – Grupo de animais tratados com 18 gr de pasta de limoneno.

ANIMAIS ID	OPG D+0	OPG D+2	OPG D+4	OPG D+7
1	1950	2200	1950	1450
2	4700	7250	6350	7950
3	4950	3400	2600	9300
4	9100	4050	3850	8200
5	10250	9850	4950	5550
6	18200	10250	5450	13300
<b>MÉDIA</b>	<b>8191,7</b>	<b>6166,7</b>	<b>4191,7</b>	<b>7625</b>
<b>EFICÁCIA%</b>		<b>6,56</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

**Tabela 2.** Experimento 1 - Grupo controle.

ANIMAIS ID	OPG D+0	OPG D+2	OPG D+4	OPG D+7
7	11950	13700	1500	8300
8	8200	5350	4100	6950
9	2500	1250	300	4750
<b>tot10</b>	2600	2250	2950	2100
11	8050	7700	3950	4700
12	13500	9350	4150	8800
<b>MÉDIA</b>	<b>7800</b>	<b>6600</b>	<b>2658,3</b>	<b>5933,3</b>

### 3.2. Experimento 2

Com base nos dados observados no primeiro experimento, e sabendo que a atividade de um fármaco anti-helmíntico depende da capacidade de alcançar altas e constantes concentrações, suficientes (Alvaréz; Mottier; Lanusse, 2007), para posteriormente atingir a circulação sistêmica e tornar-se disponível no sítio de ação (Charkoftaki et al., 2010). Um segundo protocolo experimental foi realizado com a administração de doses consecutivas da pasta de limoneno aos animais, afim de prolongar seu tempo de permanência no ambiente gástrico para avaliação de sua eficácia.

Os resultados mostraram que a pasta de limoneno administrada por três dias consecutivos reduziu significativamente a contagem de ovos do *H. contortus* no exame OPG a partir de sete dias do início do tratamento. A inibição na postura de ovos foi constatada aos dezesseis dias do início do tratamento, com 100% de inibição, demonstrado nas tabelas 3 e 4. No entanto, a infecção aumentou novamente, embora manteve-se menor que o grupo controle até vinte e três dias do início do tratamento, quando apresentou 58,37% de redução da contagem de ovos. Apresentado nas tabelas 3 e 4.

Estudos sobre doses letais descrevem que são necessários longos períodos de tratamento ou doses muito acima do recomendado, para que ocorra quadros de intoxicações aos animais (Coles, 2005). O que não foi observado entre os animais do grupo tratado durante o segundo experimento.

**Tabela 3.** Experimento 2 – Grupo de animais tratados com 18g de limoneno/dia por 3 dias consecutivos.

ANIMAIS ID	OPG D+0	OPG D+2	OPG D+4	OPG D+7	OPG D+9	OPG D+16	OPG D+23
1	1450	3450	2600	1600	1800	0	3200
2	7950	13800	3900	3000	3000	0	850
3	9300	9150	2200	1050	4900	0	4500
4	8200	7050	6800	4100	2500	0	5250
5	5550	16100	3750	4950	3000	0	4000
6	13300	9100	10000	7700	6450	0	11050
MÉDIA	7625	9775	4875	3733,33	3608,33	0	4808,33
EFICÁCIA%	0	0	0	0	22,26	100	58,37

**Tabela 4.** Experimento 2 – Grupo controle.

ANIMAIS ID	OPG D+0	OPG D+2	OPG D+4	OPG D+7	OPG D+9	OPG D+16	OPG D+23
7	8300	6000	1700	2050	7350	20100	4650
8	6950	6150	4650	2950	3500	14250	7950
9	4750	5750	200	600	2550	4350	7650
10	2100	1950	2550	1950	4700	8850	9800
11	4700	12050	3450	5350	6700	9350	11200
12	8800	7000	5250	4650	3050	4950	28050
<b>MÉDIA</b>	<b>5933,33</b>	<b>6483,33</b>	<b>2966,67</b>	<b>2925</b>	<b>4641,67</b>	<b>10308,33</b>	<b>11550</b>

### 3.3. Teste de inibição da eclosão de ovos (TIEO)

No teste *in vitro* de inibição da eclosão de ovos (TIEO) observou-se a possibilidade de interferência da pasta de limoneno sobre a eclosão dos ovos do parasita *H. contortus* coletados das fezes do grupo tratado, apresentado na tabela 5.

Os resultados indicam que a pasta foi eficiente somente após 3 dias da administração, em relação aos dados do grupo controle. Porém, conforme indicam os resultados, a pasta de limoneno não mais apresentou efeito ovicida após 5 dias da última administração apresentando eficácia media similar ao grupo controle, como observado na tabela 5 e 6.

**Tabela 5.** Teste *in vitro* de eclodibilidade - Grupo de animais tratados com 18g de limoneno/dia por 3 dias consecutivos.

ANIMAL ID	EFICÁCIA D+3	EFICÁCIA D+5
1	100	8,75
2	100	15,3846
3	100	8,43373
4	100	10,2941
5	100	6,06061
6	100	7,40741
<b>EFICACIA MÉDIA</b>	<b>100</b>	<b>9,388414</b>



**Tabela 6.** Teste *in vitro* de eclodibilidade - Grupo controle

ANIMAL ID	EFICÁCIA D+3	EFICÁCIA D+5
7	15	19,46903
8	3	11,60714
9	9,5	7,33945
10	8,7	2,970297
11	14	5,319149
12	12	15,21739
<b>EFICACIA MÉDIA</b>	<b>10,37</b>	<b>10,32041</b>

Assim, como os dois experimentos realizados, outros testes *in vitro* com diferentes formulações e com variações nas concentrações (de 2 a 100%) de emulsão de óleo de laranja rica em limoneno, inibiram em pelo menos 90% a eclosão de ovos e mais de 50% de inibição da motilidade ou morte das larvas no estágio L3 de *H. contortus*. A partir desses resultados, o produto testado foi patenteado (Roskopf et al., 2008).

Outros testes *in vivo* foram realizados para avaliação da ação anti-helmíntica em gerbils infectados artificialmente com *H. contortus*. Aos animais foram administrados uma dosagem de 1200 mg/kg de emulsão de óleo essencial de laranja por cinco dias, apresentando resultado de 87,8% na redução dos parasitas. A atribuição nematicida constitui-se basicamente ao limoneno presente em 95% da composição total da emulsão usada (Squires et al., 2010).

Como também, através de testes *in vivo* realizados em ovelhas naturalmente infectadas com *H. contortus*. Aos animais foram administrados 1000mg/kg do extrato de *Artemisia absinthium*, que contem limoneno entre os componentes da sua composição. Os resultados foram altamente eficazes na redução de ovos nas fezes das ovelhas, o que não ocorreu nos testes realizados com gerbils tratados com o mesmo extrato (Tariq et al., 2008).

O uso de extratos de plantas não purificados pode gerar inconstâncias na formulação de um produto destinado ao tratamento. A pasta utilizada nesse estudo foi preparada com um composto purificado, no caso o limoneno. De acordo com a variação que pode ocorrer nos componentes ativos de extratos de plantas não purificados, devido ao modo de preparação dos extratos, diferenças bioquímicas, como também, cultivares ou maturidade das plantas quando colhidas, os resultados relatados não podem ser facilmente comparados (Squires et al., 2010). Por isso, o limoneno, constituinte majoritário do óleo de laranja, foi isolado para produzir a pasta utilizada nesse estudo. Portanto os resultados aqui obtidos podem colaborar com a possibilidade de utilização da pasta de limoneno como alternativa aos anti-helmínticos sintéticos em ovinos.



#### 4. CONCLUSÃO

A determinação da eficácia da anti-helmíntica da pasta de limoneno no controle de *H. contortus* em ovinos foi ineficaz na dosagem administrada nos testes realizados nesse experimento uma vez que foi capaz de controlar o parasita em um pequeno período de tempo observado tanto no teste *in vitro* como *in vivo*. Conclui-se que a pasta de limoneno deve ser mais estudada para ser uma possível alternativa aos efeitos negativos do *H. contortus*, sendo necessários mais testes para investigar os possíveis efeitos sobre o *H. contortus* e outros parasitas.

#### 5. AGRADECIMENTOS

Agradeço às professoras Dra. Luciana Morita Katiki e Dra. Cecília José Veríssimo por toda orientação, auxílio e apoio, agradeço a toda equipe do laboratório que de alguma maneira puderam colaborar durante o andamento do projeto.

Ao CNPQ, PIBIC (2019/134522/2019-2), ao Instituto de Zootecnia de Nova Odessa, pelo aprendizado e pela oportunidade e realização deste projeto de Iniciação Científica.

#### 6. REFERÊNCIAS

- ALVAREZ, L.I.; MOTTIER, M.L.; LANUSSE, C.E. Drug transfer into target helminth parasites. Trends in parasitology, v.23, p.97-104. 2007.
- AMARANTE, A.F.T.; BRICARELLO, P.A.; ROCHA, R.A.; GENNARI, S.M. Resistance of Santa Inês, Suffolk and Ile de France sheep to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. Veterinary Parasitology, v.120, p.91-106, 2004.
- ANVISA, BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, SECRETARIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução 104/99, de 26/04/1999. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. 14/05/99.
- BAPTISTELLA, L. H. B.; IMAMURA, P. M.; MELO, L. V. D.; CASTELLO, C.; QUIM. Nova 2009, 32, 1069.
- BRICARELLO, P.A.; GENNARI, S.M.; OLIVEIRA-SEQUEIRA, T.C.G.; VAZ, C.M.S.L.; DE GONÇALVES, I.G.; ECHEVARRIA, F.A.M. Response of Corriedale and Crioula Lanada sheep to artificial primary infection with *Haemonchus contortus*. Veterinary research communications, v. 26, p. 447-457, 2002.
- BOWMAN, D. Parasitologia veterinária de Georgis. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. 448p.
- COLES, G. C. Anthelmintic resistance—looking to the future: a UK perspective. Research in Veterinary Science, v.78, p.99-108, 2005.



COLES, G.C.; JACKSON, F.; POMROY, W.E.; PRICHARD, R.K.; VON SAMSONHIMMELSTJERNA, G.; SILVESTRE, A.; TAYLOR, M.A.; VERCROY, J. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, v. 136, p.167-185, 2006.

CHARKOFTAKI, G.; DOKOUMETZIDIS, A.; VALSAMI, G.; MACHERAS, P. Biopharmaceutical classification based on solubility and dissolution: A reappraisal of criteria for hypothesis models in the light of the experimental observations. *Basic Clinical Pharmacology Toxicology*, v.106, p.168–172, 2010.

FERREIRA, L.E., BENINCASA, B.I., FACHIN, A.L., FRANÇA, S.C., CONTINI, S.S., CHAGAS, A.C., BELEBONI, R.O., 2016. *Thymus vulgaris* L. essential oil and its main component thymol: anthelmintic effects against *Haemonchus contortus* from sheep. *Vet. Parasitol.* 228, 70-76.

JABBAR, A.; IQBAL, Z. KHAN, M.N. In vitro anthelmintic activity of *Trachyspermum ammi* seeds. *Pharmacognosy Magazine*, v. 2, p. 126-129, 2006.

MCCHESNEY JD, VENKATARAMAN SK, HENRI JT. Plante produtos naturais: de volta ao futuro ou em extinção? *Fitoquímica*. 2007; 68: 2015–22.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W.; MCKENZIE, R.A. Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.

ROSSKOPF, E.N., THERRIEN, L.L., ADKINS, S.T., IRIARTE, F., FOSTER, J.G., KOKALIS-BURELLE, N. 2008. Methods of reducing pests and treating gastrointestinal nematode infections (Patent Application 20080166437, filed 1/3/2008). <http://www.freshpatents.com/Methods-of-reducingpests-and-treating-gastrointestinal-nematode-infections-dt20080-710ptan20080166437.php?type=description7/22/08-4/23/09>.

SQUIRES, J.M., FERREIRA, J.F.S., LINDSAY, D.S., ZAJAC, A.M., 2010B. Effects of artemisinin and artemisia extracts on *Haemonchus contortus* in gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Vet. Parasitol.* (In press) DOI: 10.1016/j.vetpar.2010.09.011.

SOUSA, C. M. DE M.; SILVA, H. R. E; VIEIRA JR., G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, L. S. DA, ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D., BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. DE M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quím. Nova*, v. 30, n. 02, p. 351-355, 2007.

TARIQ, KA, CHISHTI, MZ, AHMAD, F., SHAWL, AS, 2008. Anthelmintic actividade de extratos de *Artemisia absinthium* contra nematóides ovinos. *Veterinario. Parasitol.* 160, 83–88.

VERÍSSIMO, C.J.; NICIURA, S.C.M.; ALBERTI, A.L.L.; RODRIGUES, C.F.C.; BARBOSA, C.F.C.; CHIEBAO, D.P.; CARDOSO, D.; SILVA, G.S.; PEREIRA, J.R.; MARGATHO, L.F.F.; COSTA, R.L.D.; NARDON, R.F.;



UENO, T.E.H.; CURCI, V.C.L.M.; MOLENTO, M.B. Multidrug and multispecies resistance in sheep flocks from São Paulo state, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v.187, n.1/2, p.209-216, 2012.

VIANA, J.G. 2008. Panorama Geral da Ovinocultura no Mundo e no Brasil. *Ovinos*, Ano 4, N° 12, Porto Alegre, Março de 2008.

VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R.; PEREIRA, M. F.; DANTAS, L. B.; XIMENES, L. J. F. Evaluation of anthelmintic efficacy of plants available in Ceará, North - East Brazil, for the control of goat gastrointestinal nematodes. *Revue Medicine Veterinary, Toulouse*, v. 150, n. 5, p. 447-452, 2003.