

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CAROLINA SANTOS

AVALIAÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DA CASCA DOS  
CLADÓDIOS DA PALMA FORRAGEIRA (*Opuntia ficus- indica*) EM  
TESTES *IN VITRO* E INTERAÇÃO FARMACOLÓGICA CONTRA  
NEMATODAS GASTRINTESTINAIS DE OVINOS

CURITIBA  
2017

CAROLINA SANTOS

AVALIAÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DA CASCA DOS  
CLADÓDIOS DA PALMA FORRAGEIRA (*Opuntia ficus- indica*) EM  
TESTES *IN VITRO* E INTERAÇÃO FARMACOLÓGICA CONTRA  
NEMATODAS GASTRINTESTINAIS DE OVINOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Saúde Única, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Beltrão Molento

Co-orientadora: Prof. Dra. Juliana B. B. Maurer

CURITIBA  
2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS/UFPR -  
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, DOUGLAS ALEX JANKOSKI CRB 9/1167  
COM OS DADOS FORNECIDOS PELO(A) AUTOR(A)

S237a Santos, Carolina  
Avaliação do extrato da casca dos cladódios da palma  
forrageira (*Opuntia ficus-indica*) em testes in vitro e interação  
farmacológica contra nematodas gastrintestinais de ovinos /  
Carolina Santos. - Curitiba, 2017.  
104 f.: il., grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná.  
Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em  
Ciências Veterinárias.  
Orientador: Marcelo Beltrão Molento  
Coorientadora: Juliana Bello Baron Maurer

1. Ovino - Doenças - Controle. 2. Parasitologia veterinária. 3.  
Palma forrageira. 4. Plantas medicinais - Uso terapêutico. I.  
Molento, Marcelo Beltrão. II. Maurer, Juliana Bello Baron. III. Título.  
IV. Universidade Federal do Paraná.

CDU 619.6:636.32/38:633.3

Membro  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada “**Avaliação do extrato hidroalcoólico da casca dos cladódios da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*) em teste *in vitro* e interação farmacológica contra nematodas gastrintestinais de ovinos**” apresentada pela Mestranda **CAROLINA SANTOS** declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09–CEPE/UFPR, que considerou a candidata APROVADA para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 15 de Maio de 2017



Professor Dr. Marcelo Molento  
Presidente/Orientador



Professora Dra. Selma Faria Zawadzki Baggio  
Membro



Professor Dr. Luciano Campestrini  
Membro

À minha família, meus pais  
e irmãs por todo apoio e  
carinho.

Dedico.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente aos meus pais, por me proporcionarem todas as possibilidades de me desenvolver como pessoa e profissional, pelo apoio financeiro e psicológico, e principalmente por todo amor incondicional desde o princípio da minha vida. A vocês minha eterna gratidão.

As minhas irmãs, Fabiana, Patrícia e Valéria, por todo apoio, amor, amizade e carinho de sempre.

Ao meu namorado e companheiro, Luciano, por todo carinho, amizade e amor. Você foi o meu maior incentivador.

Aos meus amigos de Ponta Grossa, por serem meu porto seguro, distração e paz durante esses dois anos. Em especial, Bianca Ressetti por todo apoio, caronas, risadas e conselhos.

Ao meu colega do Laboratório de Doenças Parasitárias - UFPR, Douglas, por toda cooperação nesse trabalho e por ser uma pessoa tão especial para mim.

Aos meus colegas do NUPPLAMED – UFPR, Andressa, Melina, Fabio, Raquely minha gratidão por toda cooperação nesse trabalho.

Ao meu orientador, professor Dr. Marcelo Beltrão Molento, pela oportunidade, conhecimento, e aprendizagem durante todo o Mestrado.

A minha co-orientadora, professora Dra. Juliana Maurer, pelo acolhimento em seu laboratório e por todo o aprendizado.

Ao pesquisador Luciano Henrique Campestrini, pelas análises de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), tanto pela realização quanto pelo auxílio na interpretação dos resultados obtidos nessas análises.

A toda equipe de estagiários e funcionários do LAPOC, pela ajuda nas coletas de amostras, em especial, Karla.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias-UFPR, pelo incremento científico.

A coordenação de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Paraná.

Enfim, a todos que de alguma forma direta ou indiretamente contribuíram e ajudaram para que este objetivo fosse concluído com êxito.

Muito obrigada!

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.”

Charles Chaplin

## RESUMO

A produção de ovinos é crescente nas diferentes regiões do país e, na atualidade, este crescimento está aliado à busca por produtos de qualidade e com segurança alimentar. Para que se obtenham bons índices de produção na ovinocultura, é indispensável assegurar a saúde dos animais, principalmente, no que se refere à parasitose. Nesse contexto, a demanda por produtos livres de resíduos químicos e o intenso surgimento de parasitas gastrintestinais com resistência aos medicamentos antiparasitários convencionais, em decorrência do seu uso indiscriminado, fez surgir o interesse em buscar novas alternativas de controle parasitário. Dentre as diversas alternativas existentes, se destaca a fitoterapia, que utiliza as vantagens dos componentes bioativos das plantas para uso farmacológico. Entre as várias plantas estudadas está a *O. ficus-indica*, conhecida como palma forrageira. A *O. ficus-indica* possui diversos compostos bioativos tais quais os compostos fenólicos que apresentam atividade anti-inflamatória, antioxidante e potencialmente atividade anti-helmíntica. Contudo, os estudos que avaliam a composição e capacidade desta planta quanto ao seu efeito em nematódeos gastrintestinais de ovinos são escassos. Dessa forma, este estudo teve por objetivo caracterizar quimicamente o extrato da planta *O. ficus-indica* e determinar sua eficácia no controle *in vitro* de parasitos de ovinos. Para tanto, foi obtido o extrato hidroalcoólico da casca dos cladódios da *O. ficus-indica*, denominado OFIEOH. Este extrato foi avaliado quanto à sua composição química através de dosagens colorimétricas para o teor de carboidratos, proteínas, fenóis e taninos condensados, e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para caracterização do perfil de compostos fenólicos constituintes. O OFIEOH apresentou maiores teores de fenóis (52,15%  $\pm$ 7,48), identificados como flavonoides quercetínicos, além de ácido caféico. Para a avaliação da atividade antiparasitária *in vitro*, foram realizados testes de eclodibilidade do ovo (TEO) e o teste de migração de larvas (TML). OFIEOH foi utilizado nas concentrações de 12,5 a 100 mg/mL para TEO e nas concentrações de 12,5 a 200 mg/mL para TML. A atividade antiparasitária do OFIEOH foi promissora, uma vez que para TEO a dose de 100 mg/mL da OFIEOH apresentou eficácia de 90% ( $\pm$ 3,04) e para o TML, na concentração de 200 mg/mL o OFIEOH inibiu 77,26% ( $\pm$ 0,66) da migração larvar. Além disso, também foi realizado o TML em interação farmacológica, testando doses de ivermectina (IVM, 10 a 50 mg/mL) associadas a CL<sub>50</sub> da OFIEOH, e doses de OFIEOH (12,5 a 200 mg/mL) associadas a CL<sub>50</sub> da IVM. A interação destes compostos foi eficiente para promover a inibição da migração larvar, tendo sido verificada uma eficácia dose-dependente de 73,78% ( $\pm$ 06,11) para a associação de 50 mg/mL IVM + CL<sub>50</sub> da OFIEOH, e uma eficácia de 62,49% ( $\pm$ 2,1) para a associação da dose de 200 mg/mL da OFIEOH + CL<sub>50</sub> da IVM. Observou-se também que a associação das doses de IVM com a CL<sub>50</sub> da OFIEOH apresentaram um efeito de neutralização entre os compostos, enquanto que um antagonismo foi observado na interação das concentrações de OFIEOH associadas a CL<sub>50</sub> da IVM. Diante do exposto, foi evidenciado que o extrato de *O. ficus-indica* apresenta potencial atividade antiparasitária. Esta ação pode estar relacionada com a presença dos compostos fenólicos, principalmente, flavonoides quercetínicos que foram compostos identificados com maior intensidade no espectro. Com isso pode-se afirmar que o extrato da casca da palma forrageira (*O.ficus-indica*) possui compostos bioativos com características específicas que apresentam atividade antiparasitária sobre nematódeos gastrintestinais de ovinos.

Palavras-chave: parasitose, plantas medicinais, interação.

## ABSTRACT

The sheep production is increasing in the different regions of the country and, nowadays, this growth is allied to the searching for quality products and food security. In order to obtain a good sheep production rates, it is essential to ensure the animals healthy, especially with regard to parasitosis. In this context, the demand for free chemical residues and the intense emergence of gastrointestinal parasites with resistance to conventional antiparasites drugs, due to their indiscriminate use, raised the interest in finding new alternatives of parasitic control. Among the various alternatives, phytotherapy stands out, this uses the advantages of the bioactive components of plants for pharmacological use. Among the various plants studied is *O. ficus-indica*, known as "palma forrageira". *O. ficus-indica* has several bioactive compounds such as phenolic compounds that have anti-inflammatory, antioxidant and potentially anti-helminth activity. However, few studies have evaluated the composition and capacity of this plant for its effect on gastrointestinal nematodes of sheep. Thus, this study aimed to characterize chemically the extract of the plant *O. ficus-indica* and to determine its effectiveness in the in vitro control of sheep parasites. This work is divided into three chapters. The second one presents a literature review, contextualizing the theme on the main gastrointestinal nematodes of sheep, parasitic resistance and alternative controls, emphasizing phytotherapy. The third chapter presents the results of the chemical characterization of the extract of *O. ficus-indica* and its anthelmintic activity. For that, the hydroalcoholic extract of the cladodes bark of *O. ficus-indica*, denominated OFIEOH, was obtained. This extract was evaluated for its chemical composition through colorimetric dosages for the carbohydrate, protein, phenol and condensed tannin content, and by high performance liquid chromatography (HPLC) to characterize the profile of constituent phenolic compounds. The OFIEOH presented higher phenolic contents ( $52.15\% \pm 7.48$ ), and the quercetin flavonoids were characterized in greater quantity, besides that caffeic acid. In order to evaluate the antiparasitic activity in vitro, egg hatchability (TEO) and larval migration test (TML) were performed. OFIEOH was used at concentrations of 12.5 to 100 mg / mL for TEO and at concentrations of 12.5 to 200 mg / mL for TML. The antiparasitic activity of OFIEOH was promising, since for the 100 mg / mL dose of OFIEOH showed 90% efficacy ( $\pm 3.04$ ) and for TML, at the concentration of 200 mg / mL OFIEOH inhibited 77 , 26% ( $\pm 0.66$ ) of the larval migration. In addition, TML was also performed in drug-drug interaction by testing doses of ivermectin (IVM, 10 to 50 mg / mL) associated with OFIEOH LC50, and doses of OFIEOH (12.5 to 200 mg / mL) Associated with IVM LC50. It was found that the mixture of these compounds was efficient to promote inhibition of larval migration, and a dose-dependent efficacy of 73.78% ( $\pm 06.11$ ) was observed for the association of 50 mg / mL IVM + OFIEOH CL50 , And an efficacy of 62.49% ( $\pm 2.1$ ) for the combination of the 200 mg / mL dose of OFIEOH + LC50 from IVM. It was also observed in the drug-drug interaction that the association of the IVM doses with the OFIEOH LC50 showed a neutralizing effect between the compounds, while an antagonism was observed in the interaction of the IVM LC50 associated OFIEOH concentrations of IVM. In the above, was evidenced that the extract of *O. ficus-indica* presents potential antiparasitic activity. This action may be related to the presence of phenolic compounds, mainly quercetins flavonoids, which were indentified in more intensity in the spectra .With this, it can be stated that the extract of the bark of the "palma forrageira" (*O.ficus-indica*) has bioactive compounds with specific characteristics that present antiparasitic activity in gastrointestinal sheep nematodes.

Key words: parasitosis, medicinal plants, interaction.

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1</b> - CICLO DE VIDA DIRETO DE HELMINTOS.....	21
<b>FIGURA 2</b> - EDEMA SUBMANDIBULAR (PAPEIRA) CAUSADO POR <i>Haemonchus contortus</i> .....	22
<b>FIGURA 3</b> - IMAGEM DE CLADÓDIO DA PALMA FORRAGEIRA APRESENTANDO SINAIS DE RESSECAMENTO.....	55
<b>FIGURA 4</b> - PERFIL CROMATOGRÁFICO POR CLAE (388 NM) DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DA CASCA DOS CLADÓDIOS DA <i>O.ficus-indica</i> .....	64
<b>FIGURA 5</b> - ESTRUTURA QUÍMICA DA QUERCETINA NA FORMA AGLICONA (A) E GLICOSILADA, TENDO COMO EXEMPLO A QUERCETINA-3 GLUCOSÍDEO E A QUERCETINA 3-O-RUTINOSÍDEO (RUTINA).....	65
<b>FIGURA 6</b> - CURVA DO EFEITO DOSE-DEPENDENTE NO TESTE DE ECLODIBILIDADE COM O EXTRATO HIDROALCOÓLICO OBTIDO A PARTIR DA CASCA DA <i>O. ficus-indica</i> .....	67
<b>FIGURA 7</b> - CURVA DO EFEITO DOSE-DEPENDENTE NO TESTE DE MIGRAÇÃO LARVAR COM O EXTRATO HIDROALCOÓLICO OBTIDO A PARTIR DA CASCA DA <i>O. ficus-indica</i> .....	68
<b>FIGURA 8</b> - CURVA DO EFEITO DOSE-DEPENDENTE NO TESTE DE MIGRAÇÃO LARVAR COM A INTERAÇÃO DA IVM E A CL <sub>50</sub> DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO OBTIDO A PARTIR DA CASCA DA <i>O. ficus-indica</i> .....	71
<b>FIGURA 9</b> - CURVA DO EFEITO DOSE-DEPENDENTE NO TESTE DE MIGRAÇÃO LARVAR COM A INTERAÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO, OBTIDO A PARTIR DA CASCA DA <i>O. ficus-indica</i> COM A CL <sub>50</sub> DA IVM .....	71

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> - Rendimento do extrato hidroalcoólico da casca dos cladódios da <i>O. ficus indica</i> e análise química das dosagens colorimétricas do extrato hidroalcoólico da casca da <i>O. ficus-indica</i> .....	61
<b>TABELA 2</b> - Percentual médio ( $\pm$ desvio padrão) de inibição da eclosão larvar de nematódeos gastrintestinais no teste TEO com o extrato hidroalcoólico obtidos a partir da casca da <i>O.ficus-indica</i> .....	66
<b>TABELA 3</b> - Percentual médio ( $\pm$ desvio padrão) de inibição da migração larvar de nematódeos gastrintestinais no teste TML com o extrato hidroalcoólico obtido a partir da casca da <i>O.ficus-indica</i> .....	67
<b>TABELA 4</b> - Percentual médio ( $\pm$ desvio padrão) de inibição da migração larvar de nematódeos gastrintestinais no teste TML com a interação da IVM com a CL <sub>50</sub> do extrato hidroalcoólico obtido a partir da casca da <i>O.ficus-indica</i> .....	70
<b>TABELA 5</b> - Percentual médio ( $\pm$ desvio padrão) de inibição da migração larvar de nematódeos gastrintestinais no teste TML com a interação do extrato hidroalcoólico obtido a partir da casca da <i>O.ficus-indica</i> com a CL <sub>50</sub> da IVM .....	70

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

µL – microlitros

µg – microgramas

C- – controle negativo com água destilada

C+ – controle positivo com ivermectina 0,10 mg/mL

CL<sub>50</sub> – concentração letal para 50%

CLAE– cromatografia líquida de alta eficiência

FAO – Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura

FAOSTAT– Banco de dados estatísticos e corporativos da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – ácido sulfúrico

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IVM – Ivermectina

L1 – larva de primeiro estágio

L2 – larva de segundo estágio

L3 – larva de terceiro estágio

m – metros

mAU – mili unidades de absorção

mg – miligramas

MHz – mega-hertz

min – minutos

mL – mililitros

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> – carbonato de sódio

nm – nanômetros

OFIEOH– extrato hidroalcoólico da casca dos cladódios da *Opuntia ficus-indica*

rpm – rotações por minuto

TEO – Teste de eclodibilidade de ovos

TML – Teste de inibição da migração larvar

v/v – volume/volume

µm – micrômetros

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>1.1</b>	<b>HIPÓTESE</b> .....	<b>14</b>
<b>1.2</b>	<b>OBJETIVO GERAL</b> .....	<b>14</b>
<b>1.3</b>	<b>OBJETIVOS ESPECIFICOS</b> .....	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>ALTERNATIVAS DE TRATAMENTO, CONTROLE DE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DE OVINOS E RESISTÊNCIA PARASITÁRIA..</b>	<b>15</b>
	<b>RESUMO</b> .....	<b>15</b>
	<b>ABSTRACT</b> .....	<b>16</b>
<b>2.1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>2.2</b>	<b>OVINOCULTURA</b> .....	<b>19</b>
<b>2.3</b>	<b>PARASITAS GASTRINTESTINAIS DE OVINOS</b> .....	<b>20</b>
<b>2.3.1</b>	Infecção por <i>Hamenchus Contortus</i> .....	<b>21</b>
<b>2.4</b>	<b>MÉTODOS DE CONTROLE PARASITÁRIO</b> .....	<b>22</b>
<b>2.4.1</b>	Manejo e controle biológico .....	<b>22</b>
<b>2.4.2</b>	Medicamentos antiparasitários .....	<b>23</b>
<b>2.5</b>	<b>RESISTÊNCIA PARASITÁRIA</b> .....	<b>24</b>
<b>2.6</b>	<b>FITOTERAPIA</b> .....	<b>27</b>
<b>2.7</b>	<b>INTERAÇÃO FARMACOLÓGICA</b> .....	<b>30</b>
<b>2.7.1</b>	Sinergismo.....	<b>32</b>
<b>2.7.2</b>	Antagonismo.....	<b>32</b>
<b>2.8</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>34</b>
	<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>35</b>
<b>3</b>	<b>CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DA CASCA DA <i>Opuntia ficus-indica</i> E SUA ATIVIDADE OVICIDA E LARVICIDA <i>IN VITRO</i> COM INTERAÇÕES DROGA-DROGA CONTRA NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DE OVINOS</b> .....	<b>51</b>
	<b>RESUMO</b> .....	<b>51</b>
	<b>ABSTRACT</b> .....	<b>52</b>
<b>3.1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>53</b>
<b>3.2</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>55</b>

3.2.1	Material Vegetal.....	55
3.2.2	Preparação e obtenção do extrato vegetal .....	55
3.2.3	Dosagens espectrofotométricas.....	56
3.2.3.1	Dosagem de carboidratos.....	56
3.2.3.2	Dosagem de proteínas .....	56
3.2.3.3	Dosagem de fenol total.....	57
3.2.3.4	Dosagem de taninos condensados.....	57
3.2.4	Cromatografia em fase líquida de alta eficiência .....	58
3.2.4.1	Caracterização de compostos fenólicos .....	58
3.2.5	Testes <i>in vitro</i> .....	59
3.2.5.1	Coleta e recuperação de ovos .....	59
3.2.5.2	Teste de eclodibilidade de ovos (TEO).....	59
3.2.5.3	Teste de migração de larvas (TML) e de interação farmacológica .....	60
3.2.6	Análise estatística.....	60
<b>3.3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>61</b>
3.3.1	Redimentos do extrato da <i>O.ficus-indica</i> e dosagens colorimétricas.....	61
3.3.2	Perfil cromatográfico dos compostos fenólicos da <i>O.ficus-indica</i> .....	63
3.3.3	Teste de eclodibilidade de ovos (TEO) e de migração de larvas (TML) .	66
3.3.4	Teste de migração de larvas (TML) e interação farmacológica .....	69
<b>3.4</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>73</b>
	<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>74</b>
<b>4</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>80</b>
<b>5</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>81</b>
5.1	Aprovação do Comitê de Ética .....	82
5.2	Vita .....	83
	<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>84</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Desde o princípio da civilização, a ovinocultura é considerada uma prática de grande importância, difundindo-se por diversos países do mundo, sendo que mais de 800 raças de ovinos (*Ovis aries*) são manejadas nas mais diferentes formas e condições ambientais. O rebanho mundial de ovinos é de aproximadamente um bilhão de cabeças (MAGALHÃES et al., 2016; MCMANUS, 2010). No Brasil, inicialmente a ovinocultura foi símbolo de subdesenvolvimento por ter sido explorada e praticada em regiões marginais. Entretanto, essa visão vem mudando nas últimas décadas, em que pecuaristas e produtores começam a enxergar nessa atividade uma alternativa de rápido retorno financeiro (MAGALHÃES et al., 2016).

A ovinocultura vem se apresentando como uma atividade promissora no agronegócio brasileiro, em virtude de o Brasil possuir baixa oferta para o consumo interno da carne e dispor dos requisitos necessários para sua produção: extensão territorial para pecuária, clima tropical e mão-de-obra barata. O consumo de carne ovina no Brasil tem aumentado nos últimos anos e o mercado de carne ovina no país tende a expandir-se de forma significativa, entretanto, juntamente com o crescimento substancial da cultura existem problemas que se interpõem à expansão dessa atividade, tais como a qualidade do produto ofertado, a sanidade e a produção que não atende a demanda de mercado (BARCHET e FREITAS, 2012; MCMANUS, 2010; MAGALHÃES et al., 2016).

Os parasitas gastrintestinais são um grande obstáculo à ovinocultura, estando associado a perdas produtivas, aumento de conversão alimentar, reduzido ganho ponderal e déficit na produção de carne, lã e leite, além do déficit produtivo em infecções subclínicas, considerado o de maior impacto econômico (THOMAZ et al., 2004; VIEIRA, 2008). O controle dos parasitas gastrintestinais é normalmente realizado com a aplicação de anti-helmínticos e algumas práticas de manejo. Entretanto, falhas na metodologia de manejo nos rebanhos e a utilização indiscriminada dos medicamentos antiparasitários resultam na seleção de parasitas resistentes (SILVA, 2011; MEXIA et al., 2011).

A resistência parasitária é um fenômeno biológico no qual um medicamento não produz a mesma eficácia frente aos parasitas gastrintestinais, após certo tempo, quando utilizado nas mesmas condições. Devido ao efeito seletivo, a eficácia dos medicamentos antiparasitários pode diminuir intensamente, favorecendo a permanência da população resistente e a eliminação de indivíduos susceptíveis (THOMAZ-SOCCOL et al., 2004; MOLENTO, 2005; COLES et al., 2006).

Dessa forma, visando melhorar o atual cenário dos rebanhos de ovinos que enfrentam a problemática da resistência parasitária, algumas metodologias de manejo e ferramentas biotecnológicas estão sendo empregadas. Entre as alternativas de controle antiparasitário, a fitoterapia pode ser considerada uma metodologia viável e ecologicamente correta. A utilização de plantas medicinais na medicina humana e veterinária está em franca expansão como auxílio na prevenção e tratamento de diversas doenças (MARINHO et al., 2007).

Dentre as diversas plantas estudadas está a *O.ficus-indica*, uma planta popularmente conhecida no Brasil como palma forrageira, considerada uma fonte importante de compostos bioativos, apresentando diversas utilidades farmacológicas (SEMEDO, 2012). Nativa do México, *O.ficus-indica* também é encontrada na América Central e do Sul, Austrália e África. É uma planta xerófila, mas devido a sua grande variabilidade genética, se adapta em diferentes climas (FEUGANG et al., 2006). A boa adaptabilidade da palma forrageira e disponibilidade dessa planta no semiárido brasileiro são aspectos importantes para o incentivo, pesquisa e desenvolvimento de alternativas para o seu uso tanto na Medicina quanto na nutrição de pequenos ruminantes.

Considerando o constante crescimento da ovinocultura no país, a busca pela qualidade sanitária dos rebanhos, a problemática envolvendo as principais doenças parasitárias de ovinos e a resistência parasitária, este trabalho teve o objetivo de caracterizar quimicamente o extrato hidroalcoólico da *O. ficus-indica* e verificar, com testes *in vitro*, sua eficácia contra fases larvares de nematódeos gastrintestinais de ovinos. A presente dissertação está organizada em capítulos. O capítulo 2 apresenta uma revisão bibliográfica sobre os principais nematódeos gastrintestinais de ovinos, resistência parasitária e controles alternativos, destacando a fitoterapia. No capítulo 3 está descrito as informações sobre a espécie vegetal de estudo, *O. ficus-indica* assim como a caracterização química do extrato hidroalcoólico da planta por dosagens colorimétricas e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), e por fim os resultados da eficácia do extrato frente a nematódeos gastrintestinais de ovinos com testes *in vitro* juntamente com a interação do extrato com o produto comercial antiparasitário, ivermectina.

## 1.1 HIPÓTESE

O extrato da casca da palma forrageira (*O.ficus-indica*) possui compostos bioativos com características específicas que apresentam atividade antiparasitária sobre nematódeos gastrintestinais de ovinos.

## 1.2 OBJETIVO GERAL

Caracterizar compostos bioativos do extrato da casca da palma forrageira (*O.ficus-indica*) e determinar sua atividade contra nematódeos gastrintestinais de ovinos em testes *in vitro*.

## 1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Caracterizar quimicamente o extrato obtido da casca da palma forrageira (OFIEOH);
- b) Verificar a eficácia do extrato contra parasitas de ovinos por meio dos testes, *in vitro*, de eclodibilidade de ovos (TEO) e de inibição da migração larvar (TML).
- c) Verificar a eficácia da interação do extrato com a ivermectina, utilizando o teste de migração larvar (TML).

## 2. ALTERNATIVAS DE TRATAMENTO, CONTROLE DE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DE OVINOS E RESISTÊNCIA PARASITÁRIA

### RESUMO

A ovinocultura se destaca como uma atividade com grande potencial produtivo e econômico que está passando por mudanças importantes, sobretudo quanto aos aspectos de eficiência produtiva e qualidade de seus produtos. Juntamente com o crescimento da atividade, existe a preocupação com o aspecto sanitário do rebanho que tem como grande entrave as doenças parasitárias gastrintestinais. A perda da produtividade resultante da infecção parasitária por nematódeos gastrintestinais é um dos maiores problemas enfrentados na ovinocultura. Entre os parasitas gastrintestinais de maior importância estão os pertencentes à família *Trichostrongylidae* em que se destacam os gêneros *Haemonchus sp.*, *Trichostrongylus sp.* e *Cooperia sp.* Comumente, o controle dos nematódeos gastrintestinais é realizado com utilização de medicamentos anti-helmínticos (lactonas macrocíclicas, benzimidazóis), entretanto o desenvolvimento da resistência parasitária e a poluição ambiental são fatores que limitam a utilização desses medicamentos. Atualmente, existe a grande necessidade de buscar alternativas viáveis e eficientes no que diz respeito ao controle desses parasitas, e entre elas destaca-se a Fitoterapia. A Fitoterapia é o estudo das plantas medicinais e sua aplicação no tratamento das doenças é uma prática milenar difundida no mundo inteiro. As plantas são fontes de uma variedade de compostos biologicamente ativos, metabólitos primários e secundários. Uma variedade desses metabólitos possui atividade farmacológica, entre elas atividade antimicrobiana, antioxidante e também antiparasitária. No tratamento das infecções parasitárias, a utilização de plantas medicinais pode ser considerada uma alternativa viável, eficiente e ecologicamente correta. Além disso, compostos antiparasitários à base de extratos vegetais são alternativas frente à resistência parasitária, pois considerando que os parasitas não foram expostos a esses compostos, o desenvolvimento da resistência parasitária pode ser menos acelerado.

**Palavras-chave:** nematódeos, fitoterapia, resistência parasitária.

## TREATMENT AND CONTROL ALTERNATIVES OF GASTRINTESTINAL SHEEP NEMATODES AND PARASITIC RESISTANCE

### ABSTRACT

The sheep production stands out as an activity with great productive and economic potential that is undergoing important changes, especially with regard to aspects of productive efficiency and quality of these products. Along with the growth of activity, there is concern about the health aspect of the herd that has as a major obstacle to gastrointestinal parasitic diseases. Loss of productivity resulting from parasitic infection by gastrointestinal nematodes is one of the main problems faced in sheep rearing. Among the most important gastrointestinal parasites are those belonging to the family *Trichostrongylidae*, in which the genera *Haemonchus sp.*, *Trichostrongylus sp.* *E Cooperia sp.* However, the control of gastrointestinal nematodes is performed using anthelmintic drugs (macrocyclic lactones, benzimidazoles), but the development of parasitic resistance and environmental pollution are factors that limit the use of these drugs. Nowadays, there is a great need to search for viable and efficient alternatives regarding the control of these parasites, among them Phytotherapy. Phytotherapy is the study of medicinal plants and its application in the treatment of diseases is an ancient practice spread throughout the world. Plants are sources of a variety of biologically active compounds, primary and secondary metabolites. A variety these metabolites have pharmacological activity, including antimicrobial, antioxidant and antiparasitic activity. In the treatment of parasitic infections, the use of medicinal plants can be considered a viable, efficient and ecologically alternative. Besides that, antiparasitic compounds based on plant extracts are alternatives to parasite resistance, considering that parasites have not been exposed to these compounds, the development of parasitic resistance may be less accelerated.

**Keywords:** nematodes, phytotherapy, parasitic resistance.

## 2.1 INTRODUÇÃO

Atualmente a população de ovinos no Brasil é de aproximadamente 18,4 milhões, distribuídos por toda extensão do país (IBGE, 2015). A ovinocultura é uma atividade em constante crescimento no Brasil, e segundo dados da FAOSTAT (2012) apresentou um crescimento exponencial comparado à última década, sendo considerado desde 2011, o maior produtor de carne ovina das Américas. Entretanto, juntamente com esse crescimento substancial, existe a preocupação com o aspecto sanitário e a qualidade da produção de ovinos.

No que se refere à saúde do rebanho e as perdas econômicas, os nematódeos gastrintestinais em ovinos, são considerados um dos principais entraves na produção causando graves prejuízos diretos e indiretos ao produtor (LIMA et al., 2010), pois além da perda de peso e aumento da conversão alimentar, ocorre também anemia e inapetência, que em somatória diminuem significativamente a produtividade dos rebanhos e favorecem o aumento da mortalidade dos animais (SANTOS et al., 2012; MAVROT et al., 2015).

Os ovinos podem ser parasitados por diversos gêneros de parasitas gastrintestinais, tais como *Strongyloides*, *Bunostomum*, *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Cooperia*, *Oesophagostomum*, *Trichuris*, *Nematodirus* e *Haemonchus* (VLASSOF et al., 2001; MILLER et al., 2012). Em clima tropical, a maior prevalência é das espécies *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus colubriformis*, sendo que o *H. contortus* é o mais prevalente (BASSETO et al., 2009), e também o mais patogênico (VERÍSSIMO et al., 2012).

O controle dos nematódeos gastrintestinais é realizado com o uso frequente de medicamentos anti-helmínticos, sendo que as principais classes usadas atualmente são os benzimidazóis, imidotiazóis e lactonas macrocíclicas (GOUVEIA et al., 2009). Contudo, o uso indiscriminado destes produtos e o manejo inadequado dos rebanhos favoreceram a ocorrência de populações de helmintos resistentes (MELO, 2005). Além disso, o uso desses produtos químicos e os processos de produção animal e vegetais não naturais estão sendo cada vez mais questionados e se tornaram uma preocupação dos consumidores. Sabe-se ainda que os antiparasitários deixem níveis consideráveis de resíduos na carne, no leite e no meio ambiente, gerando danos à saúde humana (PADILHA et al., 2000). Relatos descrevem que os principais efeitos toxicológicos causados por resíduos de antiparasitários são: reações alérgicas (com risco de choque

anafilático em indivíduos mais sensíveis a essas substâncias), náuseas e vômitos (PRESTES 2013).

Dessa forma, a adoção de programas estratégicos de controle de parasitas (GILLEARD, 2004) ou ainda a associação dos tratamentos convencionais a métodos alternativos pode ser altamente favorável aos sistemas de criação de ovinos, visando uma produção mais sustentável. Entende-se como programa estratégico de controle de parasitas, medidas que englobam estratégias que visam reduzir a contaminação parasitária dos animais e das pastagens, assim como manter a eficácia das drogas antiparasitárias (CEZAR et al., 2008; MOLENTO et al., 2004).

O manejo de pastagem, controle biológico, seleção genética e a utilização da fitoterapia são alguns dos controles alternativos utilizados contra os nematódeos gastrintestinais de ovinos (BERTONE et al., 2005; VILELA et al., 2011; MOLENTO et al., 2013). O manejo de pastagem pode ser adotado no controle da infecção parasitária, utilizando o pastejo rotacionado (divisão do pasto em áreas distintas com animais alocados por curto período de tempo), juntamente com a alternância de animais de diferentes espécies que não possuam nenhum gênero de nematódeos gastrintestinais semelhantes entre si. Essa técnica dificulta e/ou anula o estabelecimento do parasita no hospedeiro, pois animais de espécies diferentes não são considerados hospedeiros preferenciais (FERNANDES et al., 2004; PEREIRA, 2008; TORRES-ACOSTA e HOSTE, 2008). O controle biológico é baseado na utilização de microrganismos (bactérias, fungos, vírus) que são competidores naturais agindo no ambiente sobre as larvas, exercendo assim um controle indireto sobre os nematódeos gastrintestinais. As alternativas citadas acima podem ser consideradas estratégias viáveis e promissoras, reduzindo assim a frequência de uso de medicamentos antiparasitários (TERRIL et al., 2004; EPE et al., 2005). Além disso, a fitoterapia que é considerada uma das mais antigas práticas terapêuticas usadas pelo homem, pode ser considerada uma estratégia viável e ecologicamente correta no controle e prevenção de diversas doenças. Por definição, a fitoterapia é a ciência que estuda as plantas medicinais e o uso das mesmas no tratamento de doenças. As plantas e seus extratos contêm importantes compostos bioativos, que podem agir no combate de diversas doenças, inclusive doenças parasitárias (MENDONÇA et al., 2014).

Martins (2011) relatou que as propriedades terapêuticas das plantas são atribuídas a uma combinação de compostos bioativos: metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são fundamentais para crescimento, desenvolvimento e reprodução da planta. Já os metabólitos secundários não estão diretamente relacionados a estas

atribuições, mas desempenham funções estruturais e de proteção para a manutenção da vida planta. Embora ambos os metabólitos possam exercer ações farmacológicas positivas no organismo, os compostos secundários vêm sendo mais amplamente abordados quanto aos seus efeitos medicinais (CUNHA et al., 2016).

## 2.2 OVINOCULTURA

Dentre os diversos ramos do agronegócio, a ovinocultura vem se destacando nos últimos anos por seu rápido giro financeiro (VIANA e SILVEIRA, 2009). De acordo com a FAO (2015), o rebanho mundial de ovinos é da ordem de 1,2 bilhões de dólares. O Brasil possui em torno de 18 milhões de cabeças ovinas distribuídas por todo o país, e atualmente concentradas em grande número no estado do Rio Grande do Sul e na região nordeste (IBGE, 2015). O Rio Grande do Sul continua sendo o principal produtor de ovinos do país, possuindo 3, 946 milhões de cabeças e 46 mil propriedades cadastradas, o que representa 23% do rebanho nacional (IBGE, 2015).

Com relação ao consumo de carne ovina no Brasil, ainda existe uma limitação em comparação a outros produtos de origem animal (VIANA, 2008). O consumo per capita anual de carne de aves é estimado em 46,9 kg; bovina (33,80 kg); suína (13,4 kg) (ANUALPEC, 2013); peixe (6,0 kg); ovina e caprina de 0,70 kg (FAO, 2012). No entanto, 50% do total consumido no país, não são supridos pela produção interna. Mesmo com um consumo interno baixo em comparação aos demais tipos de carne, existe um excesso de demanda (ALVES et al., 2014). Determinando assim, a necessidade de compra do produto no mercado externo, havendo, conseqüentemente, importações do Uruguai, Argentina e Nova Zelândia (ARO et al., 2006).

De acordo com Santos (2006), a ovinocultura se destaca como uma atividade com grande potencial produtivo e econômico que está passando por mudanças importantes, sobretudo quanto aos aspectos de eficiência produtiva e qualidade de seus produtos. A atividade ainda precisa de um maior avanço, integração e coordenação entre seus elos: criadores, abatedouros, varejo e mercado institucional, tendo como objetivo atender o consumidor final (SOUZA, 2006). Além dos aspectos econômicos, é fundamental a validação do controle sanitário, que gera a qualidade da carne e dos produtos derivados da cadeia produtiva de ovinos. Portanto, juntamente com crescimento substancial, existe a preocupação com a sanidade do rebanho, que pode afetar diretamente a rentabilidade e lucratividade da cadeia produtiva dos ovinos. As doenças que mais afetam a

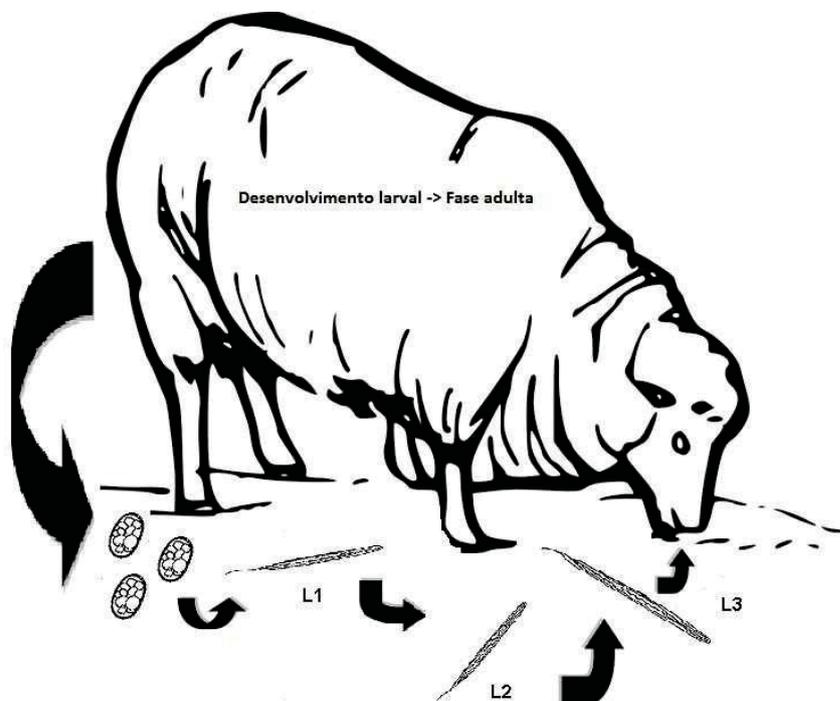
produtividade desses animais são especificamente doenças de origem parasitária (FOX, 1997).

### 2.3 PARASITAS GASTRINTESTINAIS DE OVINOS

Os ovinos são os animais de produção mais acometidos por parasitas gastrintestinais durante toda a sua vida produtiva (SOUZA et al., 2005). As endoparasitoses constituem-se no principal entrave da ovinocultura, devido às perdas econômicas causadas pela diminuição da produtividade dos animais (VIEIRA, 2008). A maior parte dos animais criados a campo, em criação extensiva, apresenta parasitismo por uma ou mais espécies de helmintos, sendo que os helmintos da classe *Nematoda*, ordem *Strongylda*, família *Trichostrongylidae*, são os mais importantes (JACKSON e COOP, 2000).

O ciclo de vida dos nematódeos compreende duas fases. A primeira é de vida livre e ocorre nas pastagens. Nesta fase, os parasitas eliminam seus ovos nas fezes do animal e em condições adequadas de oxigênio, umidade e temperatura, em 24 horas é formada uma larva dentro do ovo, caracterizando-se por um ovo embrionado; essa larva posteriormente eclode e é chamada de larva de primeiro estágio (L1). Se as condições do meio permanecerem favoráveis ao desenvolvimento da larva, a L1 realizará duas mudas (trocas de cutícula), para larva de segundo estágio (L2) e terceiro estágio (L3). Isto pode variar de cinco a 10 dias normalmente. Somente a L3 pode se desenvolver quando ingerida pelo animal na pastagem por isso é considerada a fase infectante (VIEIRA et al., 2002; MARTINEZ, 2010).

A segunda fase se dá no hospedeiro após a ingestão da L3 juntamente com o pasto. As larvas ingeridas fixam-se no abomaso dando prosseguimento ao desenvolvimento larval até a fase adulta, que ocorre em aproximadamente três semanas. Após isso, ocorre a reprodução e deposição dos ovos, dando início a mais um ciclo evolutivo (Figura 1) (VIEIRA et al., 2002; MARTINEZ, 2010).



**FIGURA 1-** Ciclo de vida direto de um nematoda. Observar a L: larva de 1<sup>a</sup> estágio; L2: larva de 2<sup>o</sup> estágio e L3: larva de 3<sup>o</sup> estágio – larva infectante.  
 FONTE: A autora (2017).

### 2.3.1 Infecção por *Haemonchus contortus*

A haemoncose é a infecção causada pelo nematódeo *H. contortus*, sendo uma das principais parasitoses que acomete os pequenos ruminantes (O'CONNOR et al., 2006; SOUZA et al., 2009).

O *H. contortus* é um parasita hematófago que se aloja no abomaso de ruminantes e os animais, particularmente os jovens, portadores de carga parasitária elevada de *H. contortus* podem apresentar anemia e edema submandibular (Figura 2) como principais sinais clínicos, e isto é decorrente da ação espoliativa do parasito que se alimenta de sangue em quantidades que podem chegar a 0,05 mL por helminto por dia (ROWE et al., 1988). A lesão da mucosa do abomaso causa uma inflamação podendo levar a uma morte súbita por gastrite hemorrágica em infecções agudas (DIAS, 2007).

O diagnóstico da haemoncose aguda, de uma forma geral, pode ser realizado pela observação dos sinais clínicos, entretanto é necessário sustentar o diagnóstico com exames coprológicos, monitoramento dos animais doentes e achados de necropsia para a avaliação de lesões patológicas. Essas medidas também devem ser realizadas para o diagnóstico da infecção subclínica de *H. contortus* (ZARLENGA et al., 2016). Além disso, é de suma importância avaliar a influência dos fatores epidemiológicos que contribuem no

desenvolvimento da doença. Potenciais efeitos do ambiente, manejo, estado nutricional do animal e sazonalidade são fatores pertinentes no desenvolvimento da doença (ZARLENGA et al., 2016).



**FIGURA 2**-Sinal clínico de edema submandibular causado pelo parasita nematoda *Haemonchus contortus*.  
FONTE: MOLENTO (2003).

Em geral, a integração das informações clínicas, laboratoriais e epidemiológicas pode confirmar rapidamente o diagnóstico da haemoncose (ZARLENGA et al.,2016).O tratamento comumente utilizado é feito pelo uso de anti-helmínticos, injetável ou oral,entre os mais utilizadoso albendazole (10mg/kg via oral), IVM (0,2 mg/kg subcutânea) e levamisole (5 a 8mg/kg via oral)(MOLENTO e VERÍSSIMO, 2003).

## 2.4 MÉTODOS DE CONTROLE PARASITÁRIO

### 2.4.1 Manejo e controle biológico

A realização de práticas simples de manejo do rebanho ovino pode propiciar um controle eficiente de parasitas gastrintestinais nos animais. Entre as medidas de controle de manejo em pequenos ruminantes, diversas estratégias de controle vêm sendo estudadas na tentativa de contribuir com a diminuição da contaminação nos pastos, como o uso de pastejo rotacionado e a integração entre diferentes espécies animais (FERNANDES et al., 2004).

O controle biológico consiste no uso de antagonistas naturais (vírus, bactérias, insetos, ácaros, fungos, protozoários) para restringir a um limiar subclínico e economicamente aceitável a ação de parasitas, por meio da diminuição da fonte de infecção para os hospedeiros finais (CEZAR et al., 2008). É uma alternativa sustentável de combate às parasitoses, possibilitando redução da frequência de tratamentos com quimioterápicos (FONTENOT et al., 2003).

Diversos estudos de controle biológico utilizando fungos nematófagos têm demonstrado que este é um método promissor no controle de nematoides gastrintestinais de animais domésticos (LARSEN, 1994; ARAÚJO et al., 2004). Os fungos nematófagos são antagonistas dos nematóides, presentes no ambiente, podendo ser isolados do solo; em fezes frescas coletadas diretamente do reto de animais; ou em bolos fecais em decomposição. Estes fungos podem ser classificados de acordo com seu modo de ação nos seguintes grupos: ovicidas, endoparasitas, produtores de metabólitos tóxicos aos nematoides e predadores, os quais agem de maneira tóxica sobre a larva, ou na produção de metabólitos com efeitos ovicidas, ocasionando de maneira direta o controle e eliminação dos parasitas no ambiente (CEZAR et al., 2008).

A utilização do controle biológico com fungos nematófagos baseia-se na redução de larvas infectantes na pastagem e, em consequência, o melhor local para ação destes microrganismos tem mostrado serem os bolos fecais eliminados, onde a grande maioria dos nematoides de importância para os animais de rebanho passa desde os estágios de ovo até a forma infectante, antes de migrar para a pastagem (LARSEN, 1994; ARAÚJO et al., 2004). Jackson e Miller (2006) consideram que estes microrganismos são uma importante alternativa a ser empregado em formulações biológicas para o controle de infecções parasitárias em ruminantes, podendo ser incluídos como forma auxiliar em programas de manejo sanitário.

#### 2.4.2 Medicamentos antiparasitários

O controle das helmintoses é comumente baseado na utilização de medicamentos anti-helmínticos, que, dependendo da classe, atuam eliminando as formas adultas do parasita, limitando a eliminação de ovos e larvas nas fezes, ou ainda eliminando os estágios imaturos no hospedeiro. De qualquer forma, por consequência, estes mecanismos podem reduzir o número de estágios infectantes na pastagem (SPINOSA et al., 2002).

Os anti-helmínticos estão agrupados em duas categorias: amplo espectro, que atuam contra praticamente todos os nematódeos, e de curto espectro, que agem em alguns gêneros de helmintos (KERBOEUF et al., 2003). Entre os anti-helmínticos utilizados destaca-se o albendazole da classe dos benzimidazóis. O mecanismo de ação deste composto atua sobre os parasitas de duas formas: interferindo no sistema enzimático, inibindo a absorção ou o metabolismo da glicose, resultando no esgotamento das reservas energéticas e morte do parasito; ou agindo na despolimerização da proteína tubulina do parasita interrompendo processos vitais para a função celular (THOMAZ et al., 2004; LAGARES,2008).

Outro importante anti-helmíntico no mercado é o levamisole da classe dos Imidotiazóis, que tem ação sobre parasitas adultos e também em estágios imaturos dos nematódeos, atuando sobre os neurotransmissores e causando paralisia espástica no parasita(KERBOEUF et al., 2003).Por fim a ivermectina da classe avermectinas,que age em nematódeos adultos potencializando os transmissores inibitórios levando a uma paralisia flácida dos parasitas (LIMA, 2010).

A dependência da utilização destes produtos químicos para o controle da parasitose (MOLENTO et al., 2013) e o uso indiscriminado destes produtos, como o tratamento massivo dos animais e o tratamento constante e repetitivo, favoreceram o aparecimento da resistência parasitária a estes grandes grupos de anti-helmínticos, de maneira individual ou ainda simultaneamente (resistência múltipla) (TORRES-ACOSTA et al., 2012; KAPLAN e VIDYASHANKAR, 2012; FORTES e MOLENTO, 2013).Diante disso,é extremamente necessário utilizar métodos e alternativas que visem prolongar a vida útil dos produtos existentes, como através do tratamento estratégico (FORTES e MOLENTO, 2013) ou ainda buscando novas alternativas ao controle com produtos químicos convencionais, tal qual a utilização de compostos naturais provenientes de plantas em potencial, a fitoterapia.

## **2.5 RESISTÊNCIA PARASITÁRIA**

A resistência parasitária é a capacidade de populações de parasitos em sobreviver a doses anti-helmínticas e pode ser definida como um processo que impede um fármaco de manter a mesma eficácia contra os parasitas, se utilizados nas mesmas condições e após um determinado período de tempo (CONDER e CAMPBELL, 1995; TORRES-ACOSTA e HOLTE, 2008).Considera-se como resistência, quando uma determinada droga não

apresenta eficácia superior a 95% frente a um parasita (COLES et al., 2006; THOMAZ-SOCCOL et al., 2004). Quanto maior a pressão de seleção da droga, maior será o processo de seleção por organismos resistentes. A resistência parasitária é agravada devido à sobrevivência dos parasitas resistentes e a transferência dos seus genes a prole, fazendo com que a população resistente permaneça e aumente a cada geração (MOLENTO, 2005).

Vários fatores podem predispor o desenvolvimento da resistência parasitária entre eles o curto intervalo de tempo entre os tratamentos antiparasitários, eliminar o parasita antes que o mesmo complete seu ciclo de vida; a rápida alternância de diferentes grupos de anti-helmínticos; medicamentos de longa persistência; e a presença de animais que possam conter cepas resistentes (WOLSTENHOLME et al., 2004).

O primeiro relato de resistência aos anti-helmínticos no controle de nematódeos gastrintestinais de ovinos foi descrito na década de 1960, após avaliação de tratamentos com o tiabendazole (DRUDGE et al., 1964). No Brasil, o primeiro relato de resistência aos anti-helmínticos em ovinos foi no Rio Grande do Sul (SANTOS e GONÇALVES, 1967). Em ovinos e caprinos, há relatos de resistência a todos os grupos de anti-helmínticos: benzimidazóis, lactonasmacrocíclicas, imidotiazóis e salicilanidas (COLES et al., 2006).

Ramos et al. (2002) avaliaram 65 rebanhos ovinos no Estado de Santa Catarina e identificaram 77% de resistência à ivermectina, 65% ao albendazole, 15% ao levamisole e 13% a oxfendazole, comprovando a multirresistência nos rebanhos estudados. Melo et al. (2003) mostraram que em algumas propriedades no Ceará, houve casos de resistência à oxfendazole, levamisole, closantel e ivermectina. Sczesny-Moraes et al. (2010) ao avaliarem os gêneros de nematóides presentes na coprocultura pré e pós-tratamento com diferentes anti-helmínticos no estado do Mato Grosso do Sul, observaram que 80% de *H. contortus* presentes pré-tratamento estavam presentes após o tratamento, demonstrando quadro de resistência parasitária.

Os relatos de resistência parasitária (RP) se estendem em todo mundo (KAPLAN e VIDYASHANKAR, 2012) e tem causado grande impacto na produção de ovinos, em países da Europa (TAYLOR et al.; 2009; BORGSTEEDE et al., 2010; GALLIDIS et al., 2011; PAPADOPOULOS et al., 2012), Estados Unidos (HOWELL et al., 2008), África do Sul (VATTA e LINDBERB, 2006), Austrália (LOVE, 2007) Nova Zelândia (WRIGLEY et al., 2006; MCKENNA, 2010), Argentina (MEJIA et al., 2003) e no Brasil (SCZESNY-MORAES et al., 2010; VERÍSSIMO et al., 2010; VIEIRA e CAVALCANTE, 2014; COSTA et al., 2017).

Na África do Sul, Tsotetsi et al. (2013) estudaram cinco propriedades de pequeno porte e em todas foi detectado casos de RP a ivermectina, albendazole e levamisole, sendo a um ou mais princípios. Na Austrália, um dos países com grande incidência da resistência parasitária, Brown e Fogarty (2016) em um estudo feito em diversas propriedades, detectaram a resistência a anti-helmínticos em 90% do rebanho, apresentando 85% de resistência aos benzimidazoles e 65% ao levamisole.

De maneira geral, após a exposição dos parasitos aos produtos químicos é inevitável o processo de seleção e presença de helmintos resistentes nos rebanhos (GOLDBERG et al., 2012; FORTES e MOLENTO, 2013), visto que este processo está relacionado ao próprio mecanismo de ação dos anti-helmínticos (MOLENTO et al., 2013).

Entretanto, algumas práticas de manejo podem minimizar os efeitos deletérios da resistência, sendo recomendados esquemas estratégicos e seletivos para tratamento e, desta forma, com o objetivo de manter uma maior quantidade de larvas de helmintos em refugia (grupo de larvas que permanece na pastagem, ou no animal, sem sofrer ação das drogas) (COLES et al., 2006). As larvas em refugia permanecem com seu caráter susceptível, pois ficam livres de qualquer medida de seleção. Dessa forma, as larvas em refugia podem contribuir para a diluição dos genes que codificam para resistência nas próximas gerações (VAN WYK, 2001).

Dentre as medidas para retardar o aparecimento da resistência, cita-se a realização do tratamento anti-helmíntico dos animais baseado em informações do ciclo biológico dos helmintos e condições climáticas da propriedade e região. Também se destaca o tratamento realizado de forma seletiva, em que se tratam apenas os animais altamente parasitados (GOLDBERG et al., 2012).

Esta forma de tratamento antiparasitário seletivo baseia-se em critérios de identificação e seleção de animais doentes, como o realizado através do método Famacha. Neste método, observa-se o grau de coloração da conjuntiva ocular (MALAN et al., 2001) e através da pontuação do escore na escala de 1 (vermelho) a 5 (mucosa pálida) é possível a correlação com o grau de anemia, nível de hematócrito e contagem de ovos por grama de fezes (OPG) (LOPES et al., 2013). O tratamento antiparasitário seletivo pode também ser realizado através da associação do Famacha com a avaliação da carga parasitária por OPG e a avaliação do ganho de peso, buscando identificar animais com alto OPG e retardo no desenvolvimento. Dentre as vantagens da utilização destes métodos seletivos para tratamento dos animais se destacam: identificar animais resistentes e resilientes, diminuir o número de tratamentos, gerar grande economia na produção e prolongar a eficácia das drogas anti-helmínticas (GOLDBERG et al., 2012).

Visto que o desenvolvimento da RP é mais rápido que a introdução de novas classes de drogas, os programas de controle de parasitos devem ser repensados a fim de serem mais sustentáveis e menos intensivos (KAPLAN e VIDYASHANKAR, 2012). A gravidade e a generalização da RP exigem soluções rápidas, assim como o aprimoramento das técnicas e desenvolvimento de novas biotecnologias para contornar a situação (COLES et al., 2006; GOLDBERG et al., 2012). E é neste contexto, que outros métodos mais naturais de controle dos helmintos gastrintestinais de ovinos, como a utilização de compostos de plantas, ganha destaque e estimula diversos pesquisadores a melhor elucidar estes compostos e consolidá-los como uma possível alternativa para controle parasitário.

## 2.6 FITOTERAPIA

A fitoterapia é a forma de medicina mais antiga utilizada pelo homem (BORGES et al., 2005). O conhecimento sobre as plantas medicinais tem caráter empírico e é passado de geração para geração, e ao longo do tempo, a fitoterapia tem contribuído substancialmente para o desenvolvimento da medicina tradicional e pesquisas científicas de novos produtos e princípios ativos (PETROVSKA, 2012).

Em sua composição, as plantas apresentam diversos metabólitos que são divididos em dois grupos, os metabólitos primários e os secundários. Os metabólitos primários são as substâncias envolvidas nas funções básicas essenciais da vida celular, tais quais fotossínteses, respiração, assimilação de nutrientes e biossíntese de aminoácidos e outras substâncias necessárias para a vida da célula (BRAZ FILHO, 2010). Já os metabólitos secundários, estão envolvidos na adaptação das plantas, favorecendo sua sobrevivência e convivência com seu ambiente (BRAZ FILHO, 2010; OOTANI et al., 2013).

Os metabólitos secundários não fazem parte do crescimento e reprodução celular, embora possam atuar em processos de polinização pela atração de agentes vivos, ou contribuir para a resistência e defesa das plantas às pragas e doenças (OOTANI et al., 2013). Segundo García e Carril (2009), nem todas as plantas produzem todos os metabólitos secundários, pois eles são sintetizados em pequenas quantidades e não de forma generalizada. Assim, alguns metabólitos podem ter sua produção restringida a um determinado gênero de plantas, família, ou ainda a apenas algumas espécies. Contudo, apesar do grande uso de plantas medicinais, apenas um pequeno percentual das

espécies vegetais foi adequadamente estudado (PEREIRA e CARDOSO, 2012), e assim, o conhecimento pleno de plantas potencialmente terapêuticas e todas suas propriedades ainda está em desenvolvimento.

Os metabólitos secundários vegetais são divididos em três grupos principais: terpenos, compostos fenólicos (cumarinas, flavonoides, lignina e taninos), e compostos que contêm nitrogênio (TAIZ e ZEIGER, 2006). Os terpenos compõem a maior classe dos metabólitos secundários, e são geralmente insolúveis em água (TAIZ e ZEIGER, 2006). Nesse grupo, estão inseridos os hormônios, os pigmentos, óleos essenciais, esteróis e os derivados dos esteróis, como os glicosídeos cardíacos e saponinas (GARCÍA e CARRIL, 2009). Determinados terpenos exercem função no crescimento e desenvolvimento das plantas e por isso, podem ser considerados metabólitos primários, como por exemplo, esteróis e os pigmentos carotenoides amarelo, vermelho e laranja (TAIZ e ZEIGER, 2006). Nas plantas, os terpenos podem protegê-las contra ataques de herbívoros e insetos, já no enfoque farmacêutico e medicinal, os terpenos apresentam propriedade anticarcinogênicas, antiulcerosas e antimicrobianas (GARCÍA e CARRIL, 2009). O principal uso dos terpenos, possivelmente é através do uso dos diferentes óleos essenciais devido sua grande diversidade de propriedades biológicas, como antioxidante, analgésica, anti-inflamatória, fungicida, antitumoral e antiparasitária (PADUCH et al., 2007; MACHADO e FERNANDES JÚNIOR, 2011).

Nos compostos que contêm nitrogênio estão presentes os alcaloides, os glicosídeos cianogênicos e os glucosinolatos (TAIZ e ZEIGER, 2006). Alguns destes compostos, como os alcaloides e os glucosídeos, são bem reconhecidos por sua toxicidade e aplicação medicinal. Muitos alcaloides funcionam como defesa contra predadores, e podem ser tóxicos para humanos e animais quando em quantidade suficiente, como, por exemplo, na intoxicação por estricnina e a atropina. Em contrapartida, em doses baixas, muitos alcaloides são úteis farmacologicamente, como a morfina, a codeína e a escopolamina (TAIZ e ZEIGER, 2006).

Os compostos fenólicos apresentam uma grande variedade de compostos, dos quais alguns são solúveis apenas em solventes orgânicos, alguns são ácidos carboxílicos e glicosídeos solúveis em água e outros são polímeros insolúveis (TAIZ e ZEIGER, 2006). São componentes desta classe as cumarinas, flavonoides, ligninas e taninos (GARCÍA e CARRIL, 2009). Segundo Taiz e Zeiger (2006), nas plantas, muitos compostos fenólicos servem de defesa contra herbívoros e patógenos, outros funcionam como suporte mecânico ou absorvendo radiação ultravioleta. Os compostos fenólicos se destacam por constituírem uma das principais classes de antioxidantes naturais (MORAIS et al., 2009),

além disso podem apresentar também ação antioxidante, antimicrobiana e antitumoral (SEMEDO, 2012; DALBONE, 2010).

Diante da variedade de compostos presentes nas diversas plantas potenciais para uso medicinal e a crescente importância da fitoterapia, é necessário aprofundar os efeitos terapêuticos das plantas, buscando validar sua eficácia de utilização.

No que diz respeito à atividade antiparasitária dos metabolitos secundários, algumas plantas e seus extratos já foram descritos na literatura (COSTA et al., 2006). São muitas as plantas pesquisadas na atualidade, e dentre estas plantas com possível atividade antiparasitária sobre nematódeos de ovinos, alguns trabalhos descrevem resultados favoráveis ou não, com relação ao alho (*Allium sativum*) (SUNADA et al., 2011; SANTOS et al., 2012), plantas taniníferas (OLIVEIRA et al., 2011), Neem (*Azadirachta indica*) (IGARASHI et al., 2013), banana (*Musa spp.*) (OLIVEIRA et al., 2010) e batata-de-purga (*Operculina hamiltonii*) (SILVA et al., 2010), por exemplo.

A aceitação de drogas derivadas de plantas e a utilização da fitoterapia na medicina científica só ocorrerão se estes produtos cumprirem os mesmos critérios de eficácia, segurança e controle de qualidade que os produtos sintéticos (RATES, 2001), para tanto, é fundamental a realização de maiores estudos a fim de esclarecer estes pontos e tornar viável a utilização de diferentes compostos naturais.

Apesar da utilização com finalidades medicinais das plantas tenha sido empregada desde o início da civilização, sua aplicação é realizada ainda frequentemente de maneira empírica. São diversas as plantas utilizadas e se conhece apenas o essencial com relação aos compostos bioativos. Contudo, estas plantas possuem misturas de substâncias ativas, parcialmente ativas e inativas, que, por muitas vezes atuam por alvos farmacológicos diferentes (FERREIRA e PINTO, 2010), e o esclarecimento e comprovação científica destes mecanismos é ainda muito recente.

Nesse sentido, é preciso prudência na utilização dos fitoterápicos, pois muitas vezes, ao se considerar o produto “natural”, acredita-se não existir efeitos colaterais (FERREIRA e PINTO, 2010). Entretanto, as informações técnicas ainda são insuficientes para grande parte das plantas de uso medicinal, impossibilitando garantir completamente a qualidade, eficácia e segurança de uso das mesmas (FIRMO et al., 2011).

Em relação ao controle de parasitas, para além da ocorrência dos possíveis efeitos adversos, um possível, e sério, impacto prejudicial seria a ineficiência de sua utilização em decorrência da resistência, o que já é conhecido em princípios fitoterápicos. Um exemplo claro desta condição diz respeito à planta *Artemisa annua*, a Artemísia,

largamente utilizada no controle da malária, doença causada pelo protozoário *Plasmodium* sp. (ASHLEY et al., 2014).

Inicialmente, em surtos da malária, foram utilizados de maneira curativa e preventiva o quinino e seus derivados, como a cloroquina; contudo, seu uso extensivo favoreceu o aparecimento de resistência a estes principais medicamentos antimaláricos (SÁ, 2013). Para contornar este problema no tratamento da malária, os chineses isolaram uma substância terpenoide, a artemisinina, a partir da planta *A. annua* L., onde ela e outros derivados a *A. annua* seriam utilizados como uma alternativa promissora à cloroquina (SÁ, 2013). Desde então, extratos da *A. annua* são administrados em conjuntos com outras drogas antimaláricas, como uma terapia combinada, a fim de retardar o aparecimento de resistência a fármacos (WEATHERS et al., 2014).

Apesar desses esforços, indícios de resistência parcial aos extratos de Artemísia já foram relatados (NOEDL et al., 2008; DONDORP et., 2009) e podem estar associados à mutação no domínio hélice do gene Kelch 13 (K13), levando a um atraso de *clearance* do parasita, com parasitemia persistente (WHO, 2010; WHO, 2014). Como o tratamento da malária é realizado em uma terapia combinada (chamada *Artemisina-based combination therapy*, ACT), a resistência poderia facilitar a seleção dos medicamentos combinados, e se isso ocorrer, a ineficiência dos tratamentos tenderia a aumentar, comprometendo a eliminação da malária nos países (WHO, 2016).

Diante deste cenário, mais uma vez, ressalta-se a importância de explorar o conhecimento dos componentes e mecanismo de ação através dos quais os fitocomponentes bioativos exercem sua atividade, esclarecendo seus efeitos e permitindo a melhor avaliação para o uso seguro e eficiente das plantas como um aliado viável e duradouro para o controle dos parasitas.

## 2.7 INTERAÇÃO FARMACOLÓGICA

A interação medicamentosa refere-se à possibilidade de um fármaco afetar o efeito de outro, quando administrados concomitantes (TATRO, 1996; ALMEIDA et al., 2007).

O conhecimento destas possíveis relações é importante a fim de buscar a total eficácia de determinada droga, a complementaridade entre os princípios ou evitar seu uso simultâneo, devido a possíveis efeitos adversos da interação delas.

Atualmente muito se fala sobre as relações de medicamentos e também de medicina integrativa, com o objetivo de alinhar o tratamento farmacológico com alternativas viáveis

para o controle de diversas doenças (FLORIO, 2011). Um exemplo seria a integração entre a fitoterapia com os químicos alopáticos convencionais para o tratamento e controle da malária, conforme previamente citado. Roulston et al. (1980) citam que a associação ou combinação de diferentes princípios ativos com o intuito de potencializar o efeito dos fármacos pode promover o controle mais efetivo das doenças e até a diminuição da resistência.

Neste contexto, após surgimento da resistência aos grupos de drogas anti-helmínticas, misturas de princípios de diferentes famílias têm sido propostas como uma estratégia válida para retardar o desenvolvimento de resistência dos parasitas nematódeos (MOLENTO, 2005). Esta abordagem de combinação de princípios nas preparações anti-helmínticas baseia-se no fato de parasitas poderem ter menor grau de resistência a uma formulação com componentes múltiplos, em que cada um atua com diferente modo de ação, em comparação de quando se utiliza apenas um composto (ALVAREZ et al., 2008).

No entanto, potenciais interações farmacocinéticas e farmacodinâmicas entre os componentes podem ocorrer, e dessa forma, precisam ser abordadas a fim de entender as vantagens ou desvantagens do uso de drogas misturadas para o controle de parasitas (LANUSSE et al., 2013). A interação entre drogas coadministradas pode induzir mudanças no comportamento farmacocinético das moléculas, como a mudança de concentração de uma ou ambas as drogas utilizadas, ou uma mudança na relação entre a concentração da droga e sua resposta no organismo (ALVAREZ et al., 2008; LANUSSE et al., 2013).

Lanusse et al. (2013) citam que em explorações onde existe a resistência múltipla, a utilização de combinações de fármacos, entre dois ou mais anti-helmínticos, pode ser uma ferramenta farmacológica para melhorar o seu controle químico. Contudo, é necessária uma avaliação integrada sobre as características farmacológicas a fim de otimizar a atividade e conseguir uma utilização sustentável dos anti-helmínticos existentes. Dessa forma, a avaliação farmacológica dos efeitos modificados que podem ocorrer na interação entre drogas precisa ser melhor esclarecida, visto que as combinações são agora amplamente utilizadas como uma alternativa para controlar a parasitose no rebanho (ALVAREZ et al., 2008).

### 2.7.1 Sinergismo

Sinergismo é um tipo de resposta farmacológica obtida a partir da associação de dois ou mais medicamentos, cuja resultante é maior do que a simples soma dos efeitos isolados de cada um deles (OGA et al., 1994). O sinergismo pode ocorrer com medicamentos que possuem os mesmos mecanismos de ação (aditivo); que agem por diferentes modos (somação) ou com aqueles que atuam em diferentes receptores farmacológicos (potencialização) (SUAREZ et al., 2014). Segundo Florio (2011), o efeito combinado de dois ou mais medicamentos é igual a soma dos efeitos isolados de cada um deles. Esse tipo de sinergismo é utilizado com fins terapêuticos.

Referindo-se a interações farmacodinâmicas em medicamentos antiparasitários, efeitos aditivos foram observados entre os benzimidazóis e levamisol (ANDERSON et al., 1991; BARTLEY et al., 2004). No estudo conduzido por Echevarria et al. (1996) em 182 fazendas no Estado do Rio Grande do Sul, constatou que a resistência anti-helmíntica foi menor à associação benzimidazole e imidotiazole do que aos princípios utilizados isoladamente, mostrando o efeito benéfico da associação dos princípios no controle da parasitose e retardo da resistência.

No caso do sinergismo por potencialização, são comuns as duas substâncias não atuarem pelo mesmo mecanismo de ação. Neste caso, uma das substâncias potencializa a outra por interferir na sua biotransformação, distribuição ou excreção, e muitas vezes o agente potencializador, por si só, não atua de maneira efetiva contra o agente. Este é o caso, por exemplo, do butóxico de piperonila, que não apresenta efeito farmacológico, e associado aos praguicidas do grupo dos piretroides confere a este uma maior potencialização na atividade antiparasitária (FLORIO, 2011).

Outro exemplo seria a utilização do verapamil, um agente bloqueador de cálcio que, quando em combinação com agentes terapêuticos antitumorais pode aumentar significativamente o efeito contra alguns tipos de células. A ação seria através do bloqueio da fosfo-glicoproteína (P-gp). O uso combinado do verapamil com os anti-helmínticos ivermectina e moxidectina em intervalos de 12 horas a ovinos aumentou o pico de concentração e a disponibilidade plasmática da ivermectina (MOLENTO et al., 2004b).

### 2.7.2 Antagonismo

No antagonismo, a resposta farmacológica de um medicamento é suprimida ou reduzida na presença de outro, muitas vezes pela competição destes pelo mesmo sítio receptor (RANG et al., 2012).

No antagonismo competitivo, os fármacos que se ligam aos receptores podem bloquear o sítio de ligação do agonista, devido à competição entre o agonista e o antagonista pelo receptor e, normalmente, os antagonistas apresentam maior afinidade pelos receptores comparados aos agonistas do mesmo receptor (CELSO, 2015).

Os efeitos antagonistas são favoráveis quando se busca reverter os efeitos farmacológicos de determinado produto. Isso pode ser essencialmente interessante, quando se trata de agentes tóxicos onde é desejável anular os efeitos colaterais. Ainda, fármacos antagonistas são muito utilizados na sedação para avaliação de animais selvagens, em que após os procedimentos, é interessante a rápida recuperação do animal e soltura no ambiente (CEREJO e MATTOS JÚNIOR, 2015). Neste caso, exemplifica-se a utilização de antagonistas de alfa 2-adrenérgicos (ioimbina e atipamezole), dos receptores benzodiazepínicos (flumazenil) e dos opióides (naltrexona).

Contudo, esta atividade antagonista entre as drogas não é desejada quando se associam químicos para o tratamento de determinadas doenças, pois, desta forma, seus efeitos contrários acabariam por anular o efeito farmacológico desejado. Um exemplo seria o uso de óleo de primula (*Oenothera biennis*) em pacientes epiléticos tratados com fenotiazínicos, em que o uso do óleo pode provocar um quadro de epilepsia do lóbulo temporal (VEIGA JÚNIOR et al., 2005).

## 2.8 CONCLUSÃO

As infecções por nematódeos gastrintestinais de ovinos são consideradas um grande entrave para a pecuária nacional e mundial. Atualmente o controle parasitário apresenta muitas falhas, e juntamente com o rápido desenvolvimento da resistência parasitária, justifica-se a pesquisa por novas alternativas e produtos anti-helmínticos. A fitoterapia para fins medicinais pode ser considerada uma alternativa viável e ecologicamente correta, todavia, são inúmeras as plantas possíveis para uso como recurso medicinal, e apesar disso, os estudos científicos que de fato avaliem seu potencial antiparasitário, identificando suas propriedades, mecanismo de ação e posologia ainda são carentes, limitando sua utilização imediata com segurança e confiabilidade. Dessa forma, é necessário estimular estudos com estes compostos, visando esclarecer tais questões e permitir a adoção das plantas para o controle de parasitas como um novo método, ou método complementar, favorecendo a manutenção da sanidade dos animais nos sistemas em que são produzidos.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, S. M.; GAMA, C. S.; AKAMINE, N. Prevalência e classificação de interações entre medicamentos dispensados para pacientes em terapia intensiva. **Einstein**, v. 5, n. 4, p. 347-51, 2007.

ALVAREZ, L.; LIFSCHITZ, A.; ENTROCASSO, C.; MANAZZA, J.; MOTTIER, L.; BORDA, B.; VIRKEL, G.; LANUSSE, C. Evaluation of the interaction between ivermectin and albendazole following their combined use in lambs. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 31, n. 3, p. 230-239, 2008.

ALVES, L. G. C.; OSÓRIO, J. D. S.; FERNANDES, A. R. M.; RICARDO, H. D. A.; CUNHA, C. M. Produção de carne ovina em foque no consumidor. **Enciclopédia Biosfera**, v.10, n. 18, p. 2399-2415, 2014.

ANDERSON, N.; MARTIN, P. J.; JARRET, R.G. The efficacy of mixtures of albendazole sulphoxide and levamisole against sheep nematodes resistant to benzimidazole and levamisole. **Australian Veterinary Journal**, v. 68, p. 127-132, 1991.

ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira**, ed 20º p.304, 2013.

ARAÚJO, P.R.; FERREIRA, M.A.; BRASIL, L. H.; SANTOS, D.C.; VERAS, S.C.; SANTOS, M.V.; BISPO, S.; AZEVEDO, M. Substituição do milho pela palma forrageira em dietas para vacas em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n.6, p. 1850, 2004.

ARO, D. T.; POLIZER, K. A.; PENA, S. B. O agronegócio na ovinocultura de corte no Brasil. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 3, n.7, p. 1-4, 2006.

ASHLEY, E. A.; DHORDA, M.; FAIRHURST, R. M.; AMARATUNGA, C.; LIM, P.; SUON, S.; SRENG, S.; ANDERSON, J. M.; MAO, S.; SAM, B.; SOPHA, C.; CHUOR, C. M.; NGUON, C.; SOVANNAROTH, S.; PUKRITTAYAKAMEE, S.; JITTAMALA, P.; CHOTIVANICH, K.; et al. Spread of artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. **New England Journal of medicine**, v. 371, n. 5, p. 411-423, 2014.

BARCHET, I.; FREITAS, C. A. Integração de preços entre o Rio Grande do Sul, Uruguai, Brasil e Austrália nos mercados da carne ovina e da lã. **Espacios**, v. 33, n. 7, p. 5-11, 2012.

BARTLEY, D.J.; JACKSON, F.; JACKSON, E.; SARGISON, N. Characterization of two triple resistant field isolation of *Teladorsagia* from Scottish lowland sheep farm. **Veterinary Parasitology**, v.23, p. 189-199, 2004.

BASSETO, C.C.; SILVA, B.F.; FERNANDES, S.; AMARANTE, A.F.T. Pasture contamination with infective larvae of gastrointestinal nematodes after grazing by sheep resistant or susceptible to parasitic infection. v. 18, p. 63-68, 2009.

BERTONE, M.; GREEN, J.; WASHBURN, S.; POORE, M.; SORENSON, C., WATSON, D. W. Seasonal activity and species composition of dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae and Geotrupidae) inhabiting cattle pastures in North Carolina. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 98, p. 309-321, 2005.

BORGES, L.M.F.; FERRI, P.H.; SILVA, W.C.; SILVA, W.J. Ação do Extrato hexânico de frutos Maduros de *Melia Azedarach* (*Meliaceae*) sobre *Boophilus microplus* em bezerros infestados artificialmente. **Revista de Patologia Tropical**, v. 34, p.53-59, 2005.

BORGSTEEDE, F.; VERKAIK, J.; MOLL, L.; DERCKSEN, D.; VELLEMA, P.; BAVINCK, G. How widespread is resistance to ivermectin among gastrointestinal Inematodes in sheep in The Netherlands? **Tijdschrift voor diergeneeskunde**, v. 135, p. 782-785, 2010.

BRAZ FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.

BROWN D. J.; FOGARTY N. M. Genetic relationships between internal parasite resistance and production traits in Merino sheep. **Animal Production Science**, v. 57, p. 209-215, 2016.

CEREJO, S. A.; MATTOS JÚNIOR, E. Contenção farmacológica em felinos silvestres. **Investigação**, v. 14, n. 1, P. 39-65, 2015.

CEZAR A. S.; CATTO J. B.; BIANCHIN, I. Controle alternativo de nematódeos gastrintestinais dos ruminantes: atualidade e perspectivas. **Ciência Rural**, v. 38, p. 2083-2091, 2008.

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

CONDER, G.A.; CAMPBELL, W.C. Chemotherapy of nematode infections of veterinary importance, with special reference to drug resistance. **Advances in Parasitology**, v. 35, p. 1-83, 1995.

COSTA, C. T.; BEVILAQUA, C. M.; MACIEL, M. V.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L.; MORAIS, S.M.; MONTEIRO, M.V.; FARIAS, V.M.; SILVA, M.V.; SOUZA, M.M. Anthelmintic activity of *Azadirachta indica* against sheep gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 137, p. 306-310, 2006.

COSTA, P. T.; COSTA, R. T.; MENDONÇA, G.; VAZ, R. Z. Eficácia anti-helmíntica comparativa do Nitroxinil, Levamisol, Closantel, Moxidectina e Fenbendazole no controle parasitário em ovinos. **Boletim de Indústria Animal**, v. 74, n. 1, p. 72-78, 2017.

CUNHA, A. L.; MOURA, K. S.; BARBOSA, J. C.; SANTOS, A. F. Os metabólitos secundários e sua importância para o organismo. **Diversitas Journal**, v. 1, n. 2, p. 175-181, 2016.

DALBONE, C. A. C. Importância ecologia e evolutiva dos principais grupos de metabólitos secundários nas espécies vegetais. *In: Anais do Congresso de educação do Norte Pioneiro Jacarezinho*, p. 396-404, 2010.

DIAS, S. A. Relação entre larvas recuperadas da pastagem e contagem de ovos por gramas de fezes (opg) de nematóides gastrintestinais de bovinos na microrregião de Viçosa, **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.16, n.1, p.33-36, 2007.

DONDORP A. M.; NOSTEN, F.; YI, P.; DAS, D.; PHYO, A. P.; TARNING, J.; LWIN, K. M.; ARIEY, F.; HANPITHAKPONG, W.; LEE, S. J.; RINGWAL, P.; SILAMUT, K.; IMWONG, M.; CHOTIVANICH, K.; LIM, P.; HERDMAN, T.; AN, S. S.; TEUNG, S.; SINGHASIVANON, P. DAY, N. P. J.; LINDEGARDH, N.; SOCHEAT, D.; WHITE, N. J.

Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. **New England Journal of Medicine**, v. 361, n. 5, p. 455-467, 2009.

DRUDGE, J. H.; SZANTO, J.; WYATT, Z. N.; ELAM, G. Field studies on parasite control in sheep: Comparison of thiabendazole, ruelene, and phenothiazine. **American Journal of Veterinary Research**, v. 25, n. 1, p. 1512-1518, 1964.

ECHEVARRIA, F. A. M.; BORBA, M. F. S.; PINHEIRO, A. C.; WALLER, P. J.; HANSEN, J. W. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin América: Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 62, p. 199- 206, 1996.

EPE, C.; SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; WIRTHERLE, N.; et al. Efficacy of toltrazuril as a metaphylactic and therapeutic treatment of coccidiosis in first-year grazing calves. **Parasitology Research**, v. 97, p. 127-133, 2005.

FAO - Food and agriculture organization of the United Nations. 2012. Disponível em <<http://www.faostat.fao.org.com>>. Acesso em 22 de fevereiro de 2017.

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**, v. 56, n. 6, p. 733-740, 2004.

FERREIRA, V. F.; PINTO, A. C. A fitoterapia no mundo atual. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1829-1829, 2010.

FEUGANG, J. M.; KONARSKI, P.; ZOU, D.; STINTZING, F. C.; ZOU, C. Medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp) cladodes and fruits. **Frontiers in Bioscience**, v. 11, n. 1, p. 2574-2589, 2006.

FIRMO, W. D. C. A.; MENEZES, V. D. J. M.; PASSOS, C. E. C., DIAS; C. N.; ALVES, L. P. L.; DIAS, I. C. L.; SANTOS NETO, M.; OLEA, R. S. G. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cadernos de Pesquisa**, v.18, 2011.

FLORIO J. C.; SPINOSA H.; GÓRNIAC S. L; BERNARDI M.M. Mecanismo de ação e relação dose/resposta. In: **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**, 5ª ed, São Paulo: GUANABARA KOOGA. cap 3. p. 21-21, 2011.

FONTENOT, M.E.; MILLER J.E.; PEÑA M. T.; LARSEN M.; GILLESPIE A. Efficiency of feeding *Duddingtonia flagrans* chlamydospores to grazing ewes on reducing availability of parasitic nematode larvae on pasture. **Veterinary Parasitology**, v.118, p. 203-213, 2003.

FORTES, F. S.; MOLENTO, M. B. Resistência anti-helmíntica em nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes: avanços e limitações para seu diagnóstico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 12, p. 1391-1402, 2013.

FOX, M. T. Pathophysiology of infection with gastrointestinal nematodes in domestic ruminants: recent developments. **Veterinary Parasitology**, v. 72, n. 3-4, p. 285-308, 1997.

GALLIDIS, E.; ANGELOPOULOU, K.; PAPADOPOULOS, E. Detection of benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* using allele-specific PCR. In: **Second greek veterinary congress for farm animal medicine, food safety and hygiene and consumer protection**, Thessaloniki, Greece, p. 128, 2011.

GARCÍA, A. A.; CARRIL, E. P. U. Metabolismo secundario de plantas. **Reduca**, v. 2, n. 3, 2009.

GILLEARD J. S. The use of *Caenorhabditis elegans* in parasitic nematode research. **Parasitology**, v. 128: p. 49-70, 2004.

GOLDBERG V, CIAPPESONI G, AGUILAR I. Genetic parameters for nematode resistance in periparturient ewes and post-weaning lambs in Uruguayan Merino sheep. **Livestock Science**, v.147, p. 181-187, 2012.

GOUVEIA, A. M. G.; GUIMARAES, A. S.; HADDAD, J. P. A. Características zoossanitárias da ovinocultura em Minas Gerais. **Revista Veterinária e Zootecnia**, v. 102, p. 34-40, 2009.

HOWELL, S. B.; BURKE, J. M.; MILLER, J. E.; TERRILL, T. H.; VALENCIA, E.; WILLIAMS, M. J.; WILLIAMSON, L. H.; ZAJAC, A. M.; KAPLAN, R. M. Prevalence of anthelmintic resistance on sheep and goat farms in the southeastern United States. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 233, p. 1913-1919, 2008.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2015. Rio de Janeiro. Disponível em <[www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br)>. Acesso em 22 de fevereiro de 2017.

IGARASHI, M.; CARVALHO, D. M. G.; BUCCI, F. C.; MIRANDA, Y.; RODRIGUES, Z. M.; ALMEIDA, M. C. F.; PIONA, M. N. M. Efeito do Neem (*Azadirachta indica*) no controle de nematódeos gastrintestinais em ovinos suplementados a pasto no período seco. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 1, p. 301-310, 2013.

JACKSON, F.; COOP, R. L. The development of anthelmintic resistance in sheep nematodes. **Parasitology Research**. v. 120, p. 95–107, 2000.

JACKSON, F.; MILLER, J. E. Alternative approaches to control. **Veterinary Parasitology**, v. 139, p. 371-384, 2006.

KAPLAN, R. M.; VIDYASHANKAR, A. N. An inconvenient truth: global warming and anthelmintic resistance. **Veterinary Parasitology**, v. 186, n. 1, p. 70-78, 2012.

KERBOEUF, D.; BLACKHALL, W.; KAMINSKY, R.; SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. V. P-glycoprotein in helminths: function and perspectives for anthelmintic treatment and reversal of resistance. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 3, p. 332-346. 2003.

LAGARES, A. F. B. F. **Parasitoses de pequenos ruminantes na região da Cova da Beira**. (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, 2008.

LANUSSE, C.; ALVAREZ, L. Resistant nematodes in cattle: Pharmaco-therapeutic assessment of the ivermectin-ricobendazole combination. **Veterinary Parasitology**, v. 234, p. 40-48, 2013.

LARSEN, J.W.; ANDERSON, N.; VIZARD, A.L., ANDERSON, G.A.; HOSTE, H. Diarrhoea in merino ewes during winter: association with trichostrongylid larvae. **Australian Veterinary Journal**. v.71, p.365-372, 1994.

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

LOPES, J.; SANCHES, J.M.; BRAGA, R.M.; MELO, D.R. Avaliação dos diferentes princípios ativos no controle de helmintos gastrintestinais em rebanho ovino na região do Taiano – Roraima. **AgroEducare**, v.1, p. 85-103, 2013.

LOVE, S. Drench resistance and sheep worm control. **Primefact**, v. 478, p. 1-5, 2007.

MACHADO, B. F. M. T.; FERNANDES JÚNIOR, A. Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. **Cadernos Acadêmicos**, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.

MAGALHÃES, L. G.; FILARDI, R. S.; LAURENTIZ, R. S. Ovicidal and larvicidal activity of extracts of *Opuntia ficus-indica* against gastrointestinal nematodes of naturally infected sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 226, p. 65-68, 2016.

MALAN, F.S., VAN WYK, J.A., WESSELS, C.D. Clinical evaluation of anaemia in sheep: early trials. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v.68, p.165-174, 2001.

MARINHO, M. L.; ALVES, M. S.; RODRIGUES, M. L. C.; ROTONDANO, T. E. F.; VIDAL, I. F.; SILVA, W. W.; ATHAYDE, A. C. R. A utilização de plantas medicinais em medicina veterinária: um resgate do saber popular. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, p. 64-69, 2007.

MARTINEZ, C. O. M. **Mecanismos de acción de las plantas ricas en taninos sobre La población adulta de nematodos gastrointestinales de los pequeños rumiantes.** 2010. 154 f. Tese (Doutorado em Ciências Agropecuárias) – Université de Toulouse, Mérida, Yucatán, México, 2010.

MARTINS, S. C. C. Avaliação do potencial biológico de *O. ficus-indica* (Figueira da Índia). Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, **Universidade Fernando Pessoa**, Faculdade de Ciências da Saúde, 54 p., 2011.

MAVROT, F.; HERTZBERG, H.; TORGERSON, P. Effect of gastrointestinal nematode infection on sheep performance: a systematic review and meta-analysis. **Parasites and Vectors**, v. 557, n. 8, p.1-11, 2015.

MCKENNA, P.B. Update on the prevalence of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of sheep in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 58, p. 172-173, 2010.

MCMANUS, C.; PAIVA, S.R.; ARAUJO, R.O. Genetics and breeding of sheep in Brazil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, suppl., p. 236-246, 2010.

MEJÍA, M. E.; IGARTÚA, B. M. F.; SCHMIDT, E. E.; CABARET, J. Multispecies and multiple anthelmintic resistance on cattle nematodes in a farm in Argentina: the beginning of high resistance? **Veterinary Research**, v. 34, n. 4, p. 461-467, 2003.

MELO, A. C. F. L.; BEVILAQUA, C. M. L. Abordagem genética da resistência anti-helmíntica em *Haemonchus contortus*. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 100, p. 141-146, 2005.

MENDONÇA, V. M.; SANTOS, A.J.; NASCIMENTO, I.R.; OLIVEIRA, M.A.S.; ROCHA, S.S.; CABRAL, E.S. Perspectivas da Fitoterapia Veterinária: Plantas Potenciais na Terapia dos Animais de Produção. **Cadernos de Agroecologia**, v. 9, n. 4, p.1-5, 2014.

MEXIA, A. A.; MACEDO, F. A. F.; OLIVEIRA, C. A. L.; ZUNDT, M.; YAMAMOTO, S. M.; SANTELLO, G. A.; CARNEIRO, R. C.; SASA, A. Susceptibilidade a nematóides em

ovelhas Santa Inês, Bergamácia e Texel no Noroeste do Paraná. **Ciências Agrárias**, v.32, supl. 1, p.1921-1928, 2011.

MOLENTO, M. B.; VERÍSSIMO, C. J. Método Famacha – Nova estratégia no controle de endoparasitoses em pequenos Ruminantes. **Veterinária in Foco**, v. 1, p. 17-18. 2003.

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

MOLENTO, M. B.; LIFSCHITZ, A.; SALLOVITZ, J.; LANUSSE, C.; PRICHARD, R. Influence of verapamil on the pharmacokinetics of the antiparasitic drugs ivermectin and moxidectin in sheep. **Parasitology Research**, v. 92, n. 2, p. 121-127, 2004b.

MOLENTO, M. B.; VERÍSSIMO, C. J.; AMARANTE, A. T.; VAN WYK, J.; CHAGAS, A. C. S.; ARAÚJO, J. D.; BORGES, F. A. Alternativas para o controle de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 80, n. 2, 253-263, 2013.

MOLENTO, M. B. Resistência parasitária dos helmintos de equídeos e propostas de manejo. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1469-1477, 2005.

MORAIS, S. A. L.; AQUINO, F. J. T.; NASCIMENTO, P. M.; NASCIMENTO, E. A.; CHANG, R. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café conilon submetido a diferentes graus de torra. **Química Nova**, v.32, p.327-331, 2009.

NOEDL H.; SE, Y.; SCHAECHER, K.; SMITH, B. L.; SOCHEAT, D.; FUKUDA, M. M. Evidence of artemisinin-resistant malaria in western Cambodia. **New England Journal of Medicine**, v. 359, n. 24, p. 2619-2620, 2008.

O'CONNOR, L. J.; WALKDEN- BROWN, S. W.; KAHN, L. P. Ecology of the free living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. **Veterinary Parasitology**, v.142, p. 1–15, 2006.

OGA, S.; BASILE, A. C. **Medicamentos e suas interações**. São Paulo, Atheneu, 1994.

OLIVEIRA, L. N.; DUARTE, E. R.; NOGUEIRA, F. A.. Eficácia de resíduos da bananicultura sobre a inibição do desenvolvimento larval em *Haemonchus spp.* provenientes de ovinos. **Ciência Rural**, v. 40, n. 2, 2010.

OLIVEIRA, L. M. B.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, S. M.; CCAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; MACEDO, I. T. F. Plantas taniníferas e o controle de nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, v. 41, n. 11, 2011.

OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W.; RAMOS, A. C.; BRITO, D. R.; SILVA, J. B. D.; CAJAZEIRA, J. P. Use of essential oils in agriculture. **Journal of Biotechnology and biodiversity**, v. 4, n. 2, p. 162-175, 2013.

PADILHA, T.; MARTINEZ, M.L.; GASBARRE, L.; VIEIRA, L.S. Genética: a nova arma no controle de doenças. **Balde Branco**, v. 36, n. 229, p.58, 2000.

PADUCH, R.; KANDEFER-SZERSZEŃ, M.; TRYTEK, M.; FIEDUREK, J. Terpenes: substances useful in human healthcare. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 55, n. 5, p. 315-327, 2007.

PAPADOPOULOS, E.; GALLIDIS, E.; PTOCHOS, S. Anthelmintic resistance in sheep in Europe: a selected review. **Veterinary parasitology**, v. 189, n. 1, p. 85-88, 2012.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

PEREIRA, R. H. M. A.; AHID, S. M. M.; BEZERRA, A. C. D. S.; SOARES, H. S.; FONSECA, Z. A. A. S. Diagnóstico da resistência dos nematóides gastrintestinais a anti-helmínticos em rebanhos caprino e ovino do RN. **Acta Veterinária Brasileira**, v. 2, n. 1, p. 16-19, 2008.

PETROVSKA B.B. Historical review of medicinal plants' usage. **Pharmacognosy Reviews**, v. 6, p. 1-5, 2012.

PRESTES, O. D.; O Estado da arte na determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal empregando técnicas cromatográficas acopladas à espectrometria de massas. **Química Nova**, Vol. 36, No. 5, 697-710, 2013.

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**, v. 32, n. 3, 2002.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. **Farmacologia**. 7ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, p. 603-613, 2001.

ROWE, J. B.; NOLAN, J. V.; CHANEET, G.; TELENI, E.; HOLMES, P. H. The effect of haemonchosis and blood loss into the abomasum on digestion in sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 59, n. 1, p. 125-139, 1988.

SÁ, I. M. **Resignificando a natureza: a P&D de medicamentos antimaláricos a partir da *Artemisia annua*-1960 a 2010**. Tese (Doutorado em História das Ciências e da Saúde). Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 264 p., 2013.

SANTOS, B. F. S. **Resultados econômicos e desempenho de ovelhas e cordeiros sob distintos manejos alimentares e idades a desmama, em sistema intensivo de produção de carne**. 2006. 74p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP. Botucatu – SP. 2006.

SANTOS, V.T.; GONÇALVES, P.C. Verificação de estirpe de *Haemonchus* resistente ao thiabendazole no Rio Grande do Sul (Brasil). **Revista da Faculdade de Agronomia e Veterinária**. v.9, p.201-209, 1967.

SANTOS, F. C. C.; MONTEIRO, S. G.; VOGEL, F. S. F. Extrato aquoso de alho (*Allium sativum*) sobre nematóides gastrintestinais de ovinos. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 7, n.1, p. 139-144, 2012.

SCZESNY-MORAES, E. A.; BIANCHIN, I.; SILVA, K. F. Resistência anti-helmíntica de nematóides gastrintestinais em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n.3, p.229-236, 2010.

SEMEDO, A.C. **Compostos bioativos de *Opuntia ficus indica***. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Controle da Qualidade e Toxicologia dos Alimentos, Universidade de Lisboa Faculdade de Farmácia, Lisboa, 119 p., 2012.

SILVA, C. F.; ATHAYDE, A. C. R.; SILVA, W. W.; RODRIGUES, O. G.; VILELA, V. L. R.; MARINHO, P. V. T. Avaliação da eficácia de taboa (*Typha domingensis Pers.*) e batata-de-purga [*Operculina hamiltonii* (G. Don) DF Austin & Staples] in natura sobre nematóides gastrintestinais de caprinos, naturalmente infectados, em clima semi-árido. **Revista Brasileira de plantas medicinais**, v. 12, n. 4, p. 466-471, 2010.

SILVA, J. B.; FONSECA, A. H. Suscetibilidade racial de ovinos a helmintos gastrintestinais. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, supl. 1, p.1935-1942, 2011.

SOUZA, E. Q. **Análise e segmentação de mercado na ovinocultura do Distrito Federal**. 2006. 112p. Dissertação (Mestrado em Agronegócios) Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Universidade Federal de Goiás, Universidade de Brasília. 2006.

SOUZA, H. D.; SENO, M. C. Z.; FERNANDES, L. H.; VALÉRIO FILHO, W. V. Efeito de dois métodos de pastejo rotacionado no controle dos parasitas gastrintestinais e no desenvolvimento ponderal de cordeiros do nascimento ao desmame. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 93-102, 2005.

SOUZA, P. N. S. **Eficácia de extratos vegetais para controle das helmintose ovina, no norte de Minas Gerais**. 2009. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2009.

SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. Farmacologia aplicada à medicina veterinária, 3ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2002.

SUÁREZ, A. I.; BLANCO, Z.; COMPAGNONE, R. S.; SALAZAR-BOOKAMAN, M. M.; ZAPATA, V.; ALVARADO, C. Anti-inflammatory activity of *Croton cuneatus* aqueous extract. **Jounal Ethnopharmacoly**, v. 105, p. 99-101, 2006.

SUNADA, N. S.; ORRICO JUNIOR, M. A. P.; ORRICO, A. C. A.; OLIVEIRA, A. B. M.; CENTURION, S. R.; LIMA, S. R. N.; FERNANDES, R. M.; VARGAS JUNIOR, F. M. Controle parasitário utilizando levamizol, ivermectina e alho desidratado (*Allium sativum*) em ovelhas da raça Santa Inês. **Revista Agrarian**, v. 4, n. 12, p. 140-145, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**, 4<sup>a</sup> ed. Sinauer Associates. Sunderland, MA. 764 p., 2006.

TATRO, D. S. **Textbook of therapeutics, drug and disease management**. 6<sup>a</sup> ed. Baltimore: William and Wilkins, p.33-44, 1996.

TAYLOR, M.A.; LEARMOUNT, J.; LUNN, E., MORGAN, C.; CRAIG, B.H. Multipleresistance to anthelmintics in sheep nematodes and comparison of methods used for their detection. **Small Ruminant Research**, v. 86, p. 67–70, 2009.

TERRIL, T.H.; LARSEN, M.; SAMPLES, O.; HUSTED, S.; MILLER, J.E.; KAPLAN, R.M.; GELAYE, S. Capability of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* to reduce infective larvae of gastrointestinal nematodes in goat feces in the Southeastern United States: dose titration and dose time interval studies. **Veterinary Parasitology**, v.120, p. 285-296, 2004.

THOMAZ, S. V.; SOUZA, F. P.; SOTOMAIOR, C. Resistance of gastrointestinal nematodes of anthelmintics in sheep (*Ovis aries*). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, n. 1, p. 41-47, 2004.

THOMAZ-SOCCOL, V.; CASTRO, E. A.; LUZ, E.; DEREURE, J.; PRATLONG, F.; MEMBRIVE, N.; DEDET, J. P. *Leishmania* species in two regions of Paraná, Brazil: biochemical characterization by isoenzyme electrophoresis. **New Horizons in Biotechnology Dordrecht**, p. 429-43, 2003.

TORRES-ACOSTA, J. F. L.; HOSTE, H. Alternative or improved methods to limit gastro intestinal parasitism in grazing sheep and goats. **Small Ruminant Research**, v. 77, n. 2-3, p. 159-173, 2008.

TORRES-ACOSTA, J. F. J.; MENDOZA-DE-GIVES, P.; AGUILAR-CABALLERO, A. J.; CUÉLLAR-ORDAZ, J. A. Anthelmintic resistance in sheep farms: update of the situation in the American continent. **Veterinary Parasitology**, v. 189, n. 1, p. 89-96, 2012.

TSOTETSI, A. M., NJIRO, S., KATSANDE, T. C., MOYO, G.,; MPOFU, J. Prevalence of gastrointestinal helminths and anthelmintic resistance on small-scale farms in Gauteng Province, South Africa. **Tropical animal health and production**, v. 45, n. 3, p. 751-761, 2013.

VAN WYK, J. A. Refugia – overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance. **Journal of Veterinary Research**, v. 68, p. 55-67, 2001.

VATTA, A. F.; LINDBERB, A.L.E. Managing anthelmintic resistance in small ruminant livestock of resource-poor farmers in South Africa. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 77, p. 2-8, 2006.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura. **Química nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VERÍSSIMO, C.J.; NARDON, R. F.; GÊNOVA, L. G.; LOURENÇO, A.T. A.; RODRIGUES, M.M.C., NICIURA, S.C. M.; MOLENTO, M.B. Anthelmintic resistance in sheep at Paranapanema region, São Paulo State. In: **47<sup>a</sup> Reuniao Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Salvador, Brazil, p. 27–30, 2010.

VERÍSSIMO, C. J.; NICIURA, S. C. M.; ALBERTI, A. L. L.; RODRIGUES, C. F. C.; BARBOSA, C. M. P.; CHIEBAO, D. P.; CARDOSO, D.; SILVA, G. S.; PEREIRA, J. R.; MARGATHO, L. F.; COSTA, R. L.; NARDON, R. F.; UENO, T. E. H.; CURCI, V. C. L. MOLENTO, M. B. Multidrug and multispecies resistance in sheep flocks from São Paulo state, Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 187, n. 1, p. 209-216, 2012.

VIANA, J. G. A. Panorama Geral da Ovinocultura no Mundo e no Brasil. **Revista Ovinos**, Ano 4, n° 12, Porto Alegre, 2008.

VIANA, J. G. A.; SILVEIRA, V. C. P. Análise econômica da ovinocultura: estudo de caso na metade sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 39, p. 1176-1181, 2009.

VIEIRA, L. S. Métodos alternativos de controle de nematódeos gastrintestinais em caprinos e ovinos. **Tecnologia e Ciências agropecuárias**, v. 2, n. 2, p. 49-56, 2008.

VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R, XIMENES, L. J. F. Epidemiologia e controle das principais parasitoses de caprinos nas regiões semiáridas do Nordeste. **Embrapa CNPC**, v. 4, p. 50, 2002.

VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R. Resistência anti-helmíntica em rebanhos caprinos no Estado do Ceará. **Pesquisa veterinária brasileira**, v. 19, n. 3/4, p. 99-103, 2014.

VILELA, L.; JUNIOR, M.; BUENO, G.; MACEDO, M. C. M.; MARCHÃO, R. L.; GUIMARÃES JÚNIOR, R.; PULRONNIK, K.; MACIEL, G. A. Integrated crop-livestock systems in the Cerrado region. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n.10, p. 1127-1138, 2011.

VLASSOFF, A.; LEATHWICK, D. M.; HEATH, A. C. G. The epidemiology of nematode infections of sheep. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 49, n. 6, p. 213-221, 2001.

WEATHERS, P. J.; TOWLER, M.; HASSANALI, A.; LUTGEN, P.; ENGEU, P. O. Dried-leaf *Artemisia annua*: A practical malaria therapeutic for developing countries?. **World journal of pharmacology**, v. 3, n. 4, p. 39, 2014.

WHO - World Health Organization. Artemisinin and artemisinin-based combination therapy resistance - Status report, 2016. Disponível em <<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/250294/1/WHO-HTM-GMP-2016.11-eng.pdf>>. Acesso em 29 de abril de 2017.

WHO - World Health Organization. Global report on antimalarial drug efficacy and drug resistance: 2000-2010, 2010. Disponível em

<[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44449/1/9789241500470\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44449/1/9789241500470_eng.pdf)>. Acesso em 29 de abril de 2017.

WHO - World Health Organization. Status report on artemisinin resistance, 2014. Disponível em <[http://www.who.int/malaria/publications/atoz/status\\_rep\\_artemisinin\\_resistance\\_jan2014.pdf](http://www.who.int/malaria/publications/atoz/status_rep_artemisinin_resistance_jan2014.pdf)>. Acesso em 29 de abril de 2017.

WOLSTENHOLME, A. J.; FAIRWEATHER, I.; PRICHARD, R.; SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. V.; SANGSTER, N. C. Drug resistance in veterinary helminths. **Trends in Parasitology**, v. 20, n. 10, p. 469-476. 2004.

WRIGLEY, J., MCARTHUR, M., MCKENNA, P.B., MARIADASS, B. Resistance to a triple combination of broad-spectrum anthelmintics in naturally acquired *Ostertagia circumcincta* infections in sheep. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 54, p. 47-49, 2006.

ZARLENGA, D.S.; HOBERG, E. P.; TUO, W. The identification of *Haemonchus* species and diagnosis of haemonchosis. **Haemonchus contortus and Haemonchosis Past, Present and Future Trends**, v. 93, p. 145 -180, 2016.

### 3. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DA CASCA DOS CLADÓDIOS DA *O.ficus-indica* E SUA EFICÁCIA CONTRA NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAS DE OVINOS EM TESTE *IN VITRO*

#### RESUMO

A *O.ficus-indica* é uma planta xerófila, originária da América tropical e subtropical e atualmente encontra-se em diferentes regiões do continente americano, africano, asiático, europeu e Oceania, de forma cultivada ou silvestre. A *O.ficus-indica*, popularmente conhecida no Brasil como palma forrageira, possui papel fundamental na base da nutrição animal do semiárido Nordeste, assim como as diversas utilidades na medicina tradicional, visto que apresenta compostos bioativos que lhe confere propriedades biológicas e farmacológicas. Nesse contexto, a palma forrageira pode ser considerada também como um produto potencial para o combate de infecção parasitária, pois seus metabólitos podem agir direta e/ou indiretamente sob os parasitas gastrintestinais de ovinos. Com isso objetivo desse trabalho foi caracterizar quimicamente o extrato hidroalcoólico da *O.ficus-indica* (OFIEOH) a fim de determinar a sua eficácia contra nematódeos gastrintestinais em testes *in vitro* e avaliar a interação do seu extrato com o produto comercial, ivermectina. Inicialmente o extrato hidroalcoólico da casca dos cladódios da *O.ficus-indica* foi produzido por maceração por um período de 21 dias. Para a caracterização química do extrato foram realizados testes de dosagens colorimétricas para carboidratos, proteínas, fenóis e taninos condensados. Também foi realizada a caracterização dos compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Observou-se que o OFIEOH apresentou maiores teores de compostos fenólicos, tendo sido identificados como ácido caféico, quercetina-3 rutosídeo-6-glucosídeo, quercetina-6-glucosídeo, rutina, quercetina-3 glucosídeo e quercetina. Em seguida foram realizados testes *in vitro* de eclodibilidade de ovos (TEO) e migração larvar (TML) utilizando diferentes concentrações do OFIEOH (de 12,5 a 100 mg/mL para o TEO e 12,5 a 200 mg/mL para TML). No TEO, a eficácia do OFIEOH variou de 90,00 ± 3,04% na maior concentração a 19,33 ± 2,74% na menor concentração. No teste TML os valores encontrados para o extrato foram de 5,78% a 77,26% para a maior e menor concentração, respectivamente. Ambos os testes apresentaram dose dependência e os resultados indicam que a planta apresenta potencial atividade antiparasitária. A interação droga-droga foi avaliada através do TML, em que se utilizou o OFIEOH na concentração da CL<sub>50</sub> da migração larvar (82,80 mg/dL) associada a IVM nas doses de 10 a 50 mg/mL, e também a OFIEOH nas concentrações de 12,5 a 200 mg/mL com a CL<sub>50</sub> da ivermectina (22,5 mg/dL). No teste TML da interação droga-droga foi observado interação droga-droga, os melhores valores de eficácia foram encontrados nas maiores concentrações com a CL<sub>50</sub> dos compostos, evidenciando também um efeito dose-dependente. Assim como pode se evidenciar na análise das curvas de interação entre a ivermectina e a OFIEOH, que a inclusão da CL<sub>50</sub> do extrato de *O. ficus-indica* nas diferentes doses de ivermectina não afetou a eficácia deste produto sobre a motilidade das larvas causando um efeito de neutralização. Por outro lado, a adição da CL<sub>50</sub> da ivermectina nas diferentes doses da OFIEOH apresentou efeito antagônico, reduzindo a eficiência do extrato sobre as larvas dos helmintos. Os resultados encontrados nesse trabalho indicam que a Palma forrageira pode ser considerada uma potencial alternativa no controle dos parasitos gastrointestinais de ovinos, entretanto são necessários novos estudos a fim de maximizar sua eficácia.

**Palavras-chave:** compostos fenólicos, eclodibilidade, antiparasitária.

## CHEMICAL CHARACTERIZATION OF THE *Opuntia ficus-indica* HYDROALCOOLIC EXTRACT AND ITS EFFICIENCY AGAINST GASTROINTESTINAL SHEEP NEMATODES *IN VITRO* TESTS

### ABSTRACT

The *O.ficus-indica* is a xerophilous plant, originating in tropical and subtropical America and is found in different regions in American, African, Asian, European and Oceanian continents in a cultivated or wild way. *O.ficus-indica*, popularly known in Brazil as "palma forrageira", plays a fundamental role in the animal nutrition base of the Northeastern semi-arid region, as well as several utilities in traditional medicine, since it presents bioactive properties that confer biological and pharmacological properties. In this context, "palma forrageira" can also be considered as a potential product to combat parasitic infection, since its metabolites can act directly and / or indirectly under the gastrointestinal parasites of sheep. The objective of this study was to chemically characterize the *O.ficus indica* hydroalcoholic extract (OFIEOH) in order to determine its efficacy against gastrointestinal nematodes *in vitro* tests and evaluate the interaction of its extract with the commercial product, ivermectin. Initially the *O.ficus indica* hydroalcoholic bark extract bark was produced by maceration in a period for 21 days. For the chemical extract characterization, colorimetric dosage tests were performed for carbohydrates, proteins, phenols and condensed tannins. The characterization of the phenolic compounds by high performance liquid chromatography (HPLC) was also performed. It was observed that OFIEOH presented levels of phenolic compounds, being identified as caffeic acid, quercetin-3 rutoside-6-glucoside, quercetin-6-glucoside, rutin, quercetin-3 glucoside and quercetin. *in vitro* tests of egg hatchability (TEO) and larval migration (TML) using different concentrations of OFIEOH (from 12.5 to 100 mg / mL for TEO and 12.5 to 200 mg / mL for TML) were performed. , The effectiveness of OFIOH varied from  $90.00 \pm 3.04\%$  in the highest concentration to  $19.33 \pm 2.74\%$  in the lowest concentration. In the TML test the values found for the extract were from 5.78% to 77.26% For the highest and lowest concentrations, respectively. Both tests showed dose dependence and the results indicate that the plant has potential antiparasitic activity. The drug-drug interaction was evaluated through TML, using OFIEOH at LC50 concentration of larval migration (82.80 mg / dL) associated with IVM at doses of 10 to 50 mg / mL, as well as OFIEOH at concentrations of 12.5 to 200 mg / mL with ivermectin LC50 (22.5 mg / dL). In the TML test of drug-drug interaction drug-drug interaction was observed, the best efficacy values were found in the highest concentrations with the LC50 of the compounds, evidencing also a dose-dependent effect. As can be evidenced in the analysis of the interaction curves between ivermectin and OFIEOH, the inclusion of the LC50 *O. ficus-indica* extract at the different doses of ivermectin did not affect the efficacy of this product on the motility of the larvae causing a neutralization effect. On the other hand, the addition of ivermectin LC50 in the different doses of OFIEOH presented an antagonistic effect, reducing the efficiency of the extract on the helminth larvae. The results found in this work indicate that the "palma forrageira" may be considered a potential alternative in the sheep gastrointestinal parasites control, however new studies are necessary in order to maximize the effectiveness.

**Keywords:** phenolic compounds, hatchability, antiparasitic

### 3.1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a utilização de plantas medicinais na medicina humana e veterinária está em franca expansão como auxílio na prevenção e tratamento de diversas doenças, sendo uma alternativa viável e ecologicamente correta (MARINHO et al., 2007). No Brasil, a utilização de plantas medicinais para tais fins apresenta fundamentalmente influências da cultura indígena, africana e europeia (MENDONÇA et al., 2014). Entre as diversas plantas estudadas para fins farmacológicos está a *Opuntia ficus-indica*, planta popularmente conhecida no Brasil como palma forrageira (SEMEDO, 2012). A palma forrageira pertence à divisão *Embryophyta*, subdivisão *Angiospermea*, classe *Dicotyledoneae*, subclasse *Archiclamideae*, ordem *Opuntiales* e família *Cactaceae*. Existem três tipos mais comuns de palma cultivadas no Nordeste do Brasil: a palma gigante também conhecida como palma forrageira, a palma redonda e a palma miúda (MENEZES et al., 2005).

No Brasil, e especificamente no semiárido nordestino, a palma foi introduzida no final do século XIX, com o intuito da produção de corante carmim. Foi após a grande seca ocorrida em 1932 que a palma foi descoberta como uma excelente alternativa forrageira (WANDERLEY et al., 2012).

A *O. ficus-indica* é conhecida por diferentes nomes populares, conforme os países de localização, a exemplo, na Espanha ela é conhecida pelo nome “higo de Índicas”, em Portugal “Figo da Índia” ou “Piteira”, na Itália é conhecida por “Fico d’India”, na França como “Fique de Barbarie”, e nos Estados Unidos e África do Sul como “Prickly pear” ou “Cactus pear” (SAENZ et al., 2002). A palma forrageira é uma planta arbustiva, dividida em raiz, parte vegetativa, fruto e flor. A parte vegetativa é chamada de cladódios, que são adaptações dos caules que substituem as folhas na sua função de fotossíntese e são capazes de armazenar grande quantidade de água (FEUGANG et al., 2006). Segundo os mesmos autores, seus frutos possuem um formato que lembra a pêra e variam em coloração entre branco, verde, amarelo, alaranjado, vermelho, roxo e marrom. É fruto doce, pulposo e apresenta bastantes sementes.

No Brasil, a utilização da *O.ficus-indica* é amplamente realizada como alimento para os animais, principalmente nas regiões do semiárido apresentando-se como um importante recurso forrageiro nas épocas de estiagens, embora o valor nutricional varie segundo a espécie, idade, época do ano e manejo cultural (RODRIGUES et al., 2016). Bispo et al. (2007) avaliaram o efeito da inclusão de palma forrageira em substituição ao feno de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*) em até 56% na dieta de ovinos, e

observaram melhoria na digestão e aproveitamento dos nutrientes da dieta. Em outro estudo, Gebremariam et al. (2006) avaliaram a substituição de palha de tefe (*Eragrostis tef*) em até 50% pela *O. ficus-indica* e verificaram igualmente a boa digestibilidade e consumo das dietas pelos ovinos, tendo um ganho de peso positivo dos animais. Além disso, novos usos vêm sendo estudados para a *O.ficus-indica*. Nesse contexto enfoca-se a utilização medicinal e farmacêutica da planta.

A Palma forrageira é conhecida por ter uma grande quantidade de compostos bioativos que lhe proporciona atividade anticancerígena, antiviral, anti-inflamatória e antioxidante (STINTZING e CARLE, 2005; FEUGANG et al., 2006). Estes efeitos são decorrentes dos compostos bioativos presentes na planta, como os compostos fenólicos (SHEDBALKAR et al., 2010; SEMEDO, 2012). Existem relatos que os cladódios de palma forrageira são utilizados em casos de conjuntivites, psoríase, edema, dores musculares, afecções no controle da diabetes, tratamento de doenças do aparelho respiratório, digestivo e tratamento de feridas (SHEDBALKAR et al., 2010). As flores são utilizadas na medicina popular na forma de infusão, e possuem propriedades diuréticas (CACIOPPO, 1991). O fruto é amplamente utilizado no México para tratamento de gastrite e diabetes (CUNHA SILVA e ROQUE, 2003). Entre os compostos bioativos encontrados na planta; os fenólicos, betalainas e carotenoides da classe dos metabólitos secundários têm por característica a atividade antioxidante, atuando na prevenção dos danos causados por radicais livres.

Apesar do conhecimento das principais funções dos componentes secundários da palma forrageira, ainda poucos são os estudos realizados a fim de se comprovar sua provável atividade anti-helmíntica e quais os compostos envolvidos nessa função. Féboli (2015) atribui esta ação à somatória dos efeitos dos fitoconstituintes, como as saponinas, os flavonóides, os pigmentos da planta e principalmente dos taninos. Contudo, conforme mencionado existe a carência e a necessidade de maiores investigações acerca da planta visando elucidar estas lacunas e possibilitar a utilização da *O.ficus-indica*, além do seu potencial nutricional, como um recurso alternativo no controle das parasitoses.

Tendo em vista a importância da espécie vegetal, *O.ficus-indica* na região semiárida do Brasil, além de, apresentar boa adaptabilidade e potencial uso farmacêutico, o principal objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização química do extrato hidroalcoólico das cascas de *O.ficus-indica*, avaliando os compostos químicos da planta utilizando ensaios espectrofotômetros e cromatografia em fase líquida de alta eficiência e posteriormente, realizar testes *in vitro* de eclodibilidade de ovos (TEO), migração larvar

(TML) e interação do extrato com a ivermectina para avaliara eficácia da planta contra nematódeos gastrintestinais de ovinos.

## 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.2.1 Material Vegetal

As amostras de palma forrageira utilizadas foram coletadas em setembro de 2015 no Capril Rancho Colorado, localizado em Macaíba, RN, na estrada Macaíba-Pajuçara, km 3, situado na mesorregião Leste Potiguar. Uma exsicata do material vegetal foi depositada no Herbário da Universidade Federal do Paraná, UFPR sendo identificada pelo técnico Fernando B. Matos, com o número de UPCB 85365. A preparação, extração e caracterização da palma forrageira foram realizadas no laboratório do Núcleo de Pesquisa Científica e Educacional de Plantas Medicinais (NUPPLAMED), no setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

Para a realização do experimento foram utilizados apenas os cladódios da planta (Figura 1).



**Figura 3**-Imagem de cladódio da palma forrageira apresentando sinais de ressecamento  
Fonte: A autora (2016).

### 3.2.2 Preparação e obtenção do extrato vegetal

Inicialmente os cladódios da planta foram separados em partes distintas; casca e polpa. Foram pesados 2,1kg da casca do material vegetal fresco, cortado em tamanhos

distintos e posteriormente realizada a secagem do material em estufa a 40°C por 72h. Para a preparação do extrato hidroalcoólico (EOH) foram pesadas 191,5g da casca (correspondente a totalidade do material seco) e adicionado 1L de etanol 80%, acondicionadas em balão de vidro, ao abrigo de luz.

A mistura foi mantida em maceração, a 4°C por um período de 21 dias, durante esse período foram realizadas trocas do solvente extrator no 7º e 14º dia. No 21º dia os extratos foram reunidos, filtrados e evaporados em evaporador rotatório a 40°C. Após isso o extrato foi congelado e liofilizado, correspondendo ao extrato hidroalcoólico da *O.ficus-indica* denominado OFIEOH.

### 3.2.3 Dosagens Espectrofotométricas

#### 3.2.3.1 Dosagem de Carboidratos

A dosagem de carboidratos foi realizada através do microensaio descrito por Fox e Robyt (1991). Para a curva padrão da dosagem foi utilizada D-glucose obtida da Sigma-Aldrich (St. Louis-MO, EUA), em concentrações de 4 a 40 µg/mL. A fração de OFIEOH foi solubilizada em H<sub>2</sub>O na concentração de 1 mg/mL, e 40 µL dessa solução foi transferida para microtubos de 2 mL em triplicata. Após isso, 40 µL de fenol a 5% (m/v) foram misturados às soluções. Por fim, 200 µL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrado foram adicionados.

A solução foi aquecida a 100°C (em estufa) por 10 min, e depois foi realizado resfriamento em banho de gelo. Posteriormente, uma alíquota de 200 µL foi transferida para uma placa de leitura de 96 poços e a absorbância foi lida a 490 nm. Nesse ensaio, carboidratos, reagem com ácido sulfúrico sofrendo desidratação e complexação com o fenol, gerando uma coloração amarelo-alaranjada. Todo o ensaio foi realizado em triplicata.

#### 3.2.3.2 Dosagem de Proteínas

A dosagem de proteínas foi adaptada e realizada pela metodologia de Bradford (1976). Primeiramente, para a curva padrão da dosagem, foi utilizada a albumina bovina sérica obtida da Sigma-Aldrich (St. Louis-MO, EUA), com o limite de sensibilidade de 4 a 40 µg/mL. Posteriormente, as frações de OFIEOH foram solubilizadas em H<sub>2</sub>O destilada

na concentração de 1 mg/mL. Foram transferidos 40 µL das soluções para microtubos de 2 mL e após isso foi adicionado 400 µL do reagente de proteínas (40 mg de Coomassie Blue G, 20 mL de etanol 95% (v/v), 40 mL de ácido fosfórico 85% (v/v) e 1000 mL de H<sub>2</sub>O destilada). Após agitação, uma alíquota de 200 µL foi transferida para uma placa de leitura de 96 poços e a absorbância foi lida a 595 nm. Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

O reagente de proteínas de Bradford contém como seu principal componente o corante Coomassie Brilliant Blue G-250 obtido da Sigma-Aldrich (St. Louis-MO, EUA), em solução ácida. A interação entre o Coomassie com a proteína estabiliza a forma aniônica do corante, causando uma mudança de coloração inicialmente do castanho para tons de azul, de acordo com a concentração de proteína. Para determinar a concentração de proteína da amostra foi realizada a comparação dos resultados com a curva padrão descrita anteriormente. Todo o ensaio foi realizado em triplicata.

#### 3.2.3.3 Dosagem de Fenol Total

O teor de fenol total foi determinado através da metodologia de Morais et al. (2009). A curva padrão foi preparada utilizando soluções de ácido gálico nas concentrações de 1, 5, 10, 20, 30, 40 e 50 µg/mL. As frações de OFIEOH, na concentração de 1 mg/mL em H<sub>2</sub>O, foram adicionadas em tubos de ensaio (250 µL, em triplicata). Em seguida, foram adicionados 1,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (10 % (v/v) em H<sub>2</sub>O destilada) obtido da Cromato (São Paulo, BR). Os tubos foram agitados, e em seguida, 1 mL de carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 7,5% (v/v) foram adicionados às soluções, que foram novamente agitadas. Após aquecimento em banho-maria a 50 °C durante 5 min, a absorbância foi lida a 760 nm. O princípio do método é a reação entre o reagente de Folin-Ciocalteu, que possui coloração amarelo-esverdeada e os fenóis resultando na formação de um complexo azul. Essa reação é favorecida com o meio em pH alcalino, obtido pela adição de carbonato. Todo o ensaio foi realizado em triplicata.

#### 3.2.3.4 Dosagem de Taninos Condensados

A dosagem de taninos condensados foi realizada de acordo com Queiroz et al. (2002). Este método utiliza vanilina sulfúrica como reagente. Para tal, 1 mL de amostra ressuspendida em água (5 mg/mL) foi misturada a 2 mL de solução de vanilina sulfúrica 2

% (v/v). A mistura permaneceu em banho de água a 20 °C por 5 min. Uma alíquota de 200 µl foi transferida para uma placa de leitura de 96 poços e foi realizada a verificação da absorvância num espectrofotômetro modelo ELX800 da marca Biotek (Vermont, EUA) a 500 nm. Utilizou-se epicatequina comercial para a construção da curva padrão em concentrações de 1,25 a 30 µg/mL ( $R^2= 0,991$ ). O ensaio foi realizado em triplicata para cada amostra.

### 3.2.4 Cromatografia em fase líquida de alta eficiência (CLAE)

#### 3.2.4.1 Caracterização de compostos fenólicos

O conteúdo de compostos fenólicos da fração OFIEOH foi analisado utilizando a técnica de cromatografia em fase líquida de alta eficiência em um cromatógrafo líquido Shimadzu modelo LC20A (Japão) equipado com detector DAD, injetor automático de amostras (20 µL), equipado com uma coluna de fase reversa C<sub>18</sub> (150 x 2,1 mm - Agilent) e tamanho de partícula de 5 µm, mantida em um forno a temperatura de 30°C utilizando os comprimentos de onda de 280, 235, 388 e 525 nm. As fases móveis de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram preparadas com acetonitrila padrão CLAE da J.T. Baker (9093-03, 99.98%, Xalostoc, MEX), ácido fórmico da Merck ( $\geq 99\%$ ). Foram utilizados como padrões; ácido caféico, ácido ferúlico, ácido gálico, ácido cumárico, ácido siríngico, ácido vanílinico, catequina, epicatequina, epicatequina galato, polidatina, procianidina B1, quercetina, quercetina 3-β-D-glicosilada, resveratrol, rutina, ácido hidroxicinâmico. Todos os padrões comerciais foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis-MO, EUA). A eluição foi realizada com um gradiente de solventes constituídos por: (A) ácido fórmico a 0,5% e (B) acetonitrila + ácido fórmico 0,5%. O gradiente constituiu-se: 8% de B inicialmente, 10% em 5 min, 17% em 10 min, 25% em 15 min, 50% em 25 min, 90% em 30 min, 50% em 32 min, 8% em 35 min. Os compostos fenólicos foram identificados comparando seus tempos de retenção e seus espectros de absorção aos obtidos dos compostos padrões.

### 3.2.5 Testes *in vitro*

#### 3.2.5.1 Coleta e recuperação de ovos

As amostras de fezes utilizadas para o experimento foram obtidas de 10 ovinos naturalmente infectados, provenientes do Laboratório de Pesquisa de Ovinos e Caprinos (LAPOC) situado na Fazenda Experimental Canguiri da Universidade Federal do Paraná, localizada no município de Pinhais, Paraná.

As fezes foram coletadas diretamente da ampola retal de ovinos previamente selecionados, com OPG superior a 1600. Para a recuperação dos ovos foi utilizado a metodologia adaptada de COLES et al. (1992). Inicialmente foram pesados 20g de fezes, após isso as fezes foram maceradas e homogeneizadas em água aquecida a 40°C. Foram realizadas lavagem e filtração do conteúdo em uma sequência de peneiras com malhas contendo poros de 400, 250, 150, 75 e 25 µm, com o objetivo de limpar todo o conteúdo e recuperar os ovos. Após esta sequência de lavagem, os ovos foram coletados diretamente da última peneira e distribuídos em tubos tipo Falcon de 50 mL para centrifugação. A primeira centrifugação ocorreu em 2000 rpm por 5 min, após isso foi descartado o sobrenadante e adição de solução salina para que o sedimento fosse ressuspenso. Posteriormente o conteúdo foi centrifugado a 2000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante foi lavado com água destilada na peneira de 25 µm, até a retirada total da solução salina. Por fim, os ovos foram recuperados e transferidos para um Becker. Posteriormente foi realizada a quantificação dos ovos em alíquotas de 55 µL com aproximadamente 200 ovos.

#### 3.2.5.2 Teste de eclodibilidade de ovos (TEO)

Para a realização do teste de eclodibilidade de ovos (TEO) foi utilizada a metodologia descrita por COLES et al. (1992). Após a lavagem, recuperação e quantificação dos ovos, foram realizadas a colocação dos mesmos em placas de 24 poços (aproximadamente 100 ovos/poço) onde estas continham três repetições para cada concentração (valores) do extrato hidroalcoólico da casca *O.ficus-indica* (OFIEOH).

As placas foram incubadas por período de 24h a 27°C e, posteriormente, foram lidas em microscópio invertido para calcular a porcentagem de eclodibilidade dos ovos em cada poço utilizando a seguinte fórmula: Eclodibilidade (%) =  $L1 / (\text{ovos} + L1) \times 100$ , onde L1 corresponde às larvas de primeiro estágio.

### 3.2.5.3 Teste de migração de larvas (TML) e de interação farmacológica

Para realização do TML foi utilizada a metodologia descrita por D'Assonville et al. (1996) e modificado por Molento e Prichard (2001) com adaptações. Inicialmente as larvas L3 foram desembainhadas usando 0,3% (v/v) de hipoclorito de sódio no período de 1h. Posteriormente, as larvas foram lavadas três vezes por centrifugação com água destilada e após quantificação, foram adicionadas em placas de 24 poços (aproximadamente 200 larvas/ poço). As concentrações finais do extrato testadas foram 12.5; 25; 50; 100; 150 e 200 mg/mL. Para cada concentração, foram utilizadas 3 repetições. Após 6 h de incubação a 27°C, toda a solução contendo as larvas, extrato e/ou controle positivo e negativo, foram transferidas para o aparato previamente preparado. Esses aparatos foram incubados a 27°C acima com um foco de luz de 150 MHz para estimular a motilidade larvar da solução. Após 18 h, essa solução foi transferida para tubos de 50 ml onde foram centrifugados a 3.000 rpm durante 2 min. Uma alíquota de 2 mL foi transferida do decantado de cada tubo para poços de uma placa de 24 poços. A leitura do teste foi feita em microscópio invertido realizando a contagem de L3. A média da quantidade de larvas migradas em cada concentração foi transformada em porcentagem de migração pelo programa GraphPad Prism® 7 para Windows. O controle positivo foi feito por ivermectina e o negativo por água destilada.

O TML também foi utilizado para a avaliação da eficácia do extrato juntamente com o antiparasitário comercial, ivermectina. Para tal, foram utilizadas as concentrações da concentração letal (CL<sub>50</sub>) de ambos. Inicialmente foram testadas as concentrações de 12,5; 25; 50; 100; 150 e 200 mg/mL com a adição de 22,50 mg/mL de ivermectina correspondente a CL<sub>50</sub>. Posteriormente foram utilizadas as concentrações de 10; 20;30;40;50 mg/mL de ivermectina com a adição de 82,50 de OFIEOH, correspondente a CL<sub>50</sub>. Ambos os testes foram realizados utilizando a metodologia do TML descrita nesse parágrafo.

### 3.2.6 Análise Estatística

Os resultados de eficiência antiparasitária foram avaliados por análise de variância, e foram considerados estatisticamente os que apresentaram probabilidade de ocorrência da hipótese de nulidade menor que 5% (P<0,05). O cálculo da concentração letal para 50% (CL<sub>50</sub>) foi realizado ajustando a regressão não-linear usando distribuições normais e logísticas. Todas as análises foram realizadas usando o programa GraphPad Prism 7.

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.3.1 Rendimento do extrato da *O.ficus-indica* e dosagens colorimétricas

O rendimento do extrato hidroalcoólico foi calculado em relação à massa do vegetal seco para o extrato bruto (Tabela 1). O baixo rendimento observado (9,09%) era esperado devido à grande quantidade de água presente nos cladódios da Palma, em média 90% (SANTOS et al., 2002). A palma é considerada uma planta suculenta e altamente hidratada, além disso, essa elevada umidade é considerada uma característica importante para regiões semiáridas, que além da sua aplicação como forragem na nutrição de ovinos, pode ser uma alternativa de fornecimento de água para esses animais no Nordeste brasileiro (RANGEL et al., 2009). Apesar disso, o rendimento do extrato da *O. ficus-indica* pode variar de acordo com as condições agrícolas ou ainda sazonalidade (GINESTRA et al., 2009).

Tabela 1. Rendimento e dosagens colorimétricas do extrato hidroalcoólico da casca dos cladódios da *Opuntia ficus-indica*.

Variável	Quantificação	Desvio padrão
Carboidrato Total (%) <sup>a</sup>	25,54	± 3,500
Proteína (%) <sup>b</sup>	0,24	± 0,0007
Fenol (%) <sup>c</sup>	52,15	± 7,4800
Taninos Condensados (%) <sup>d</sup>	0,76	± 0,0078

FONTE: O autor (2016)

NOTA: OFIEOH (extrato hidroalcoólico da *Opuntia ficus-Indica*); <sup>a</sup> R= 0,99 Determinado pelo microensaio fenol-ácido sulfúrico (FOX e ROBBIT, 1991); <sup>b</sup> R=0,99 Determinado de acordo com Bradford (1976); <sup>c</sup> R= 0,95 Determinado através de microensaio utilizando reagente de Folin-Ciocalteu, adaptado de Morais et al. (2009).

Quanto ao teor de carboidrato total, o extrato da casca da palma forrageira apresentou o resultado de 25,54% (250,54 mg de equivalente de D-glucose por grama de extrato bruto)(Tabela 1). Quanto ao teor de proteína, o extrato apresentou uma concentração 0, 245% (2,4 mg de equivalente a albumina bovina por grama de extrato bruto) (Tabela 1). Acredita-se que os valores encontrados para o OFIEOH possam ser aceitáveis, visto que os teores de carboidratos e proteínas no cladódio *in natura* também não são elevados (3-7% e 0,5-1%, respectivamente, segundo Stintzing e Claude, 2005). Também, a composição da planta, conforme previamente citado, depende das condições

edafoclimáticas, do sítio de cultivo, da estação e da idade da planta. Além disso, também não se tem conhecimento se o processo de extração pode promover degradação e perdas destes componentes durante o processo.

Quanto ao teor de fenol total, o extrato apresentou a concentração de 520,15 mg de equivalente a ácido gálico por grama de extrato bruto (Tabela 1). Estes valores observados no estudo são superiores aos encontrados por Lee et al. (2002), que verificaram concentração de 180,3 mg/g no extrato etanólico da *O.ficus-indica* var. *saboten*. As diferenças entre as concentrações verificadas podem também ser decorrentes da metodologia de extração, já que alguns fatores podem influenciar na extração dos compostos fenólicos, como a temperatura, que atua positivamente (JORGE et al., 2013).

Os compostos fenólicos se enquadram em diversas categorias, como fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzoico e cinâmico), cumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisados e ligninas (NACZK e SHAHIDI, 2004). Os fenóis atualmente recebem grande destaque pelas suas propriedades antioxidantes (SILVA et al., 2010), embora recentemente, também outros compostos, como os taninos, recebam destaque quanto ao seu efeito anti-helmíntico (MARTÍNEZ-ORTÍZ-DE-MONTELLANO et al., 2010; MAX, 2010; HOSTE et al., 2012).

Com relação a estes últimos, a dosagem de taninos condensados no OFIEOH correspondeu a uma concentração de 0,76%, conforme apresentado na Tabela 1. Neste sentido, destaca-se que apesar da grande quantidade de compostos fenólicos, outros componentes, que não exatamente os taninos, compuseram predominantemente o OFIEOH deste estudo. Similarmente, Damasceno (2014) não observou a presença de taninos nos extratos obtidos de *O.ficus-indica* (L.) Mill, e o mesmo foi verificado por Brás (2011) no extrato hidroalcoólico de cladódios da *O. ficus-indica* (L.) Mill.

Por outro lado, Cardador-Martínez et al. (2011) em seu estudo com extratos da pele do fruto e as sementes de *Opuntia* spp. verificaram que os taninos foram os principais compostos fenólicos, representando quase 50%. Da mesma forma, Féboli (2015) verificou em seus extratos de cladódios e nos frutos de *O.ficus-indica* grande quantidade de taninos. Essa variação demonstra que diferentes porções da planta variam em sua composição fitoquímica, e isto ressalta a importância dos estudos com as diferentes frações visando ampliar este conhecimento e aperfeiçoar sua utilização conforme as ações farmacológicas predominantes.

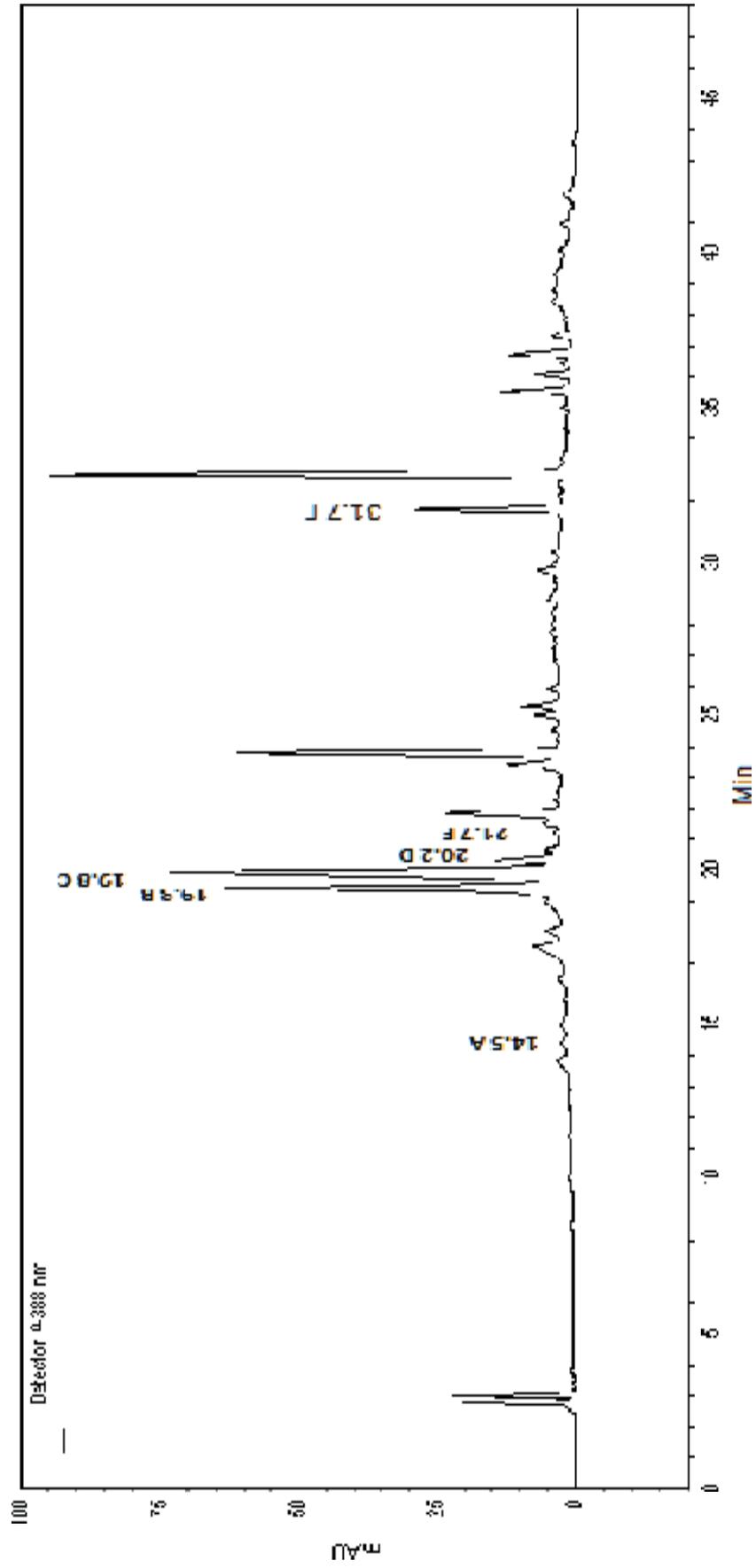
### 3.3.2. Perfil cromatográfico dos compostos fenólicos do extrato da *O.ficus-indica*.

Com o intuito de caracterizar o conteúdo de compostos fenólicos do extrato OFIEOH o mesmo foi submetido à análise por CLAE. O perfil de CLAE do extrato OFIEOH apresentou cerca de 21 picos, e 6 picos foram identificados como ácido caféico, quercetina-3 rutosídeo-6-glucosídeo, quercetina-6-glucosídeo, rutina, quercetina-3 glucosídeo e quercetina conforme apresentado na Figura 4. Dentre os compostos identificados os compostos quercetina-3 rutosídeo-6-glucosídeo, quercetina-6-glucosídeo e quercetina apresentaram maior intensidade nas condições utilizadas para a análise.

Os compostos fenólicos das plantas dividem-se em dois grupos, os flavonoides (polifenóis) e não-flavonoides (fenóis simples ou ácidos) (SILVA et al., 2010). Os flavonoides representam uma das maiores classes de fenóis das plantas (TAIZ e ZEIGER, 2006) e apresentam-se sob muitas variações, como flavonóis, flavonas, flavanonas, flavanóis ou catequinas, antocianinas, isoflavonas, chalconas e dihidrochalconas (PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2010; SILVA et al., 2010).

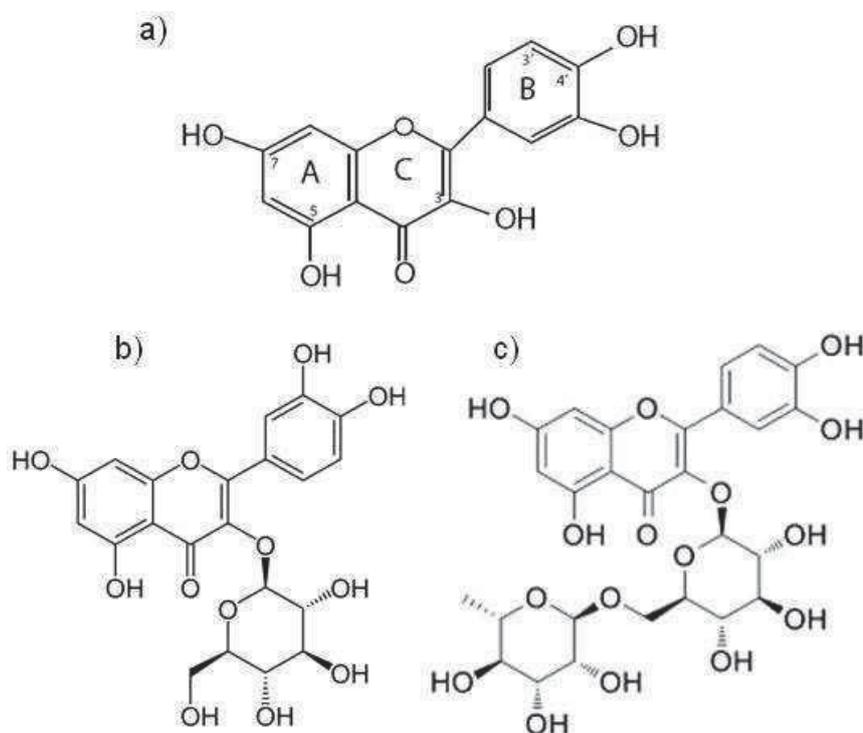
Da subclasse dos flavonóis, estão presentes as quercetinas (3,3',4',5,7-pentahidroxiflavona) (RUSSO et al., 2014) que podem ser encontradas nas formas aglicona (Figura 5a) ou, mais comumente, nas formas de glicosídeos e/ou derivados metilados ou acilados (Figura 5b e c1) (ALVES et al., 2010; RUSSO et al., 2014).

A quercetina é conhecida como um potente antioxidante e anti-inflamatório e tem sido associada à prevenção e terapia de doenças cardiovasculares e câncer (RUSSO et al., 2012). O efeito antiparasitário das quercetinas foi mais recentemente estudado, embora evidências já tenham sido verificadas. Akkari et al. (2014) avaliaram o extrato etanólico de *Artemisia campestris* e verificaram que derivados quercetínicos foram os compostos fenólicos mais predominantes. Além disso, os autores observaram, em testes *in vitro*, 100% de inibição de eclosão de ovos e motilidade das larvas de *Haemonchus contortus* a uma dose de 2 mg/mL do extrato. De maneira semelhante, Lasisi e Kareem (2011), relataram que a quercetina presente no extrato da casca do tronco de *Bridelia ferruginea* Benth promoveu a mortalidade das larvas de parasitas após um período médio de exposição aos extratos de 36 minutos, apresentando, portanto, atividade antiparasitária.



**Figura 4-** Perfil de CLAE a 388 nm do extrato hidroalcoólico da casca dos cladódios da *O. ficus-indica*. FONTE: O autor (2016).

NOTA: A: Ácido caféico, B: quercetina-3 rutosídeo-6-glucosídeo, C: quercetina-6-glucosídeo, D:rutina, E: quercetina-3 glucosídeo, F: quercetina.



**Figura 5** – Estrutura química da quercetina na forma aglicona (a) e glicosilada, tendo como exemplo a quercetina-3 glucosídeo (b) e a quercetina 3-O-rutinosídeo (rutina) (c). (FONTE: Adaptado de Alves et al. (2010) e Russo et al. (2014)).

### 3.3.3 Teste de eclodibilidade de ovos (TEO) e Teste de migração de larvas (TML)

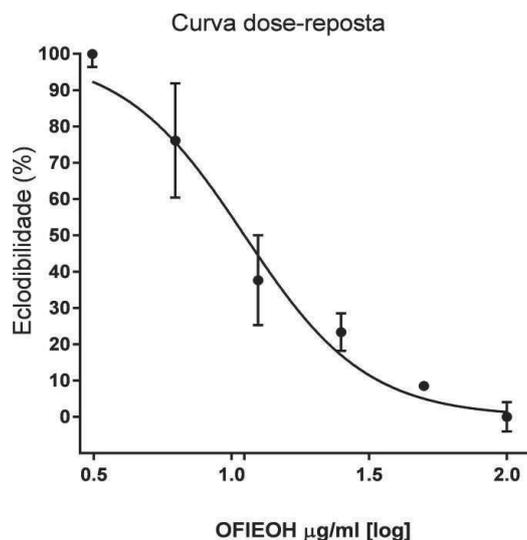
Os resultados do TEO e TML foram dose-dependentes, em que os melhores valores de eficácia obtidos foram encontrados nas maiores concentrações. Para o TEO a concentração de 100 mg/mL (Tabela 2) e para o TML a concentração de 200 mg/mL (Tabela 3), portanto, apresentaram maior controle na eclodibilidade dos ovos e migração das larvas, respectivamente, tendo seus resultados semelhantes ao controle positivo ( $P > 0,05$ ).

Efeitos positivos na inibição da eclodibilidade dos ovos também foram verificados por Féboli et al. (2016) que avaliaram o extrato do cladódio da *O. ficus-indica*. Em seu estudo, os autores encontraram eficácia de 93% na dose de 100 mg/mL do extrato, valores muito próximos ao do presente ensaio (90%). Contudo, no mesmo estudo, Féboli et al. (2016) obtiveram maior eficácia no TML, pois na dose de 100 mg/mL foi verificada inibição da migração larval em 95,6%, enquanto que neste trabalho o valor encontrado para a maior dose (200 mg/mL) foi de 77,3%.

Tabela 2. Percentual médio ( $\pm$  desvio padrão) de inibição da eclosão larvar de nematódeos gastrintestinais no teste de eclodibilidade de ovos, com o extrato hidroalcoólico obtidos da casca da *O. ficus-indica*.

Concentração OFIEOH (mg/mL)	Inibição da eclosão de ovos (%)
100	90,00 $\pm$ 3,04
50	80,67 $\pm$ 0,96
25	70,67 $\pm$ 3,94
12,5	61,00 $\pm$ 9,39
6,25	33,67 $\pm$ 11,92
3,125	19,33 $\pm$ 2,74
H <sub>2</sub> O	5,33 $\pm$ 2,98
Ivermectina	90,67 $\pm$ 3,63
CL <sub>50</sub>	11,15 mg/mL

CL<sub>50</sub>= Concentração letal para 50% dos ovos.

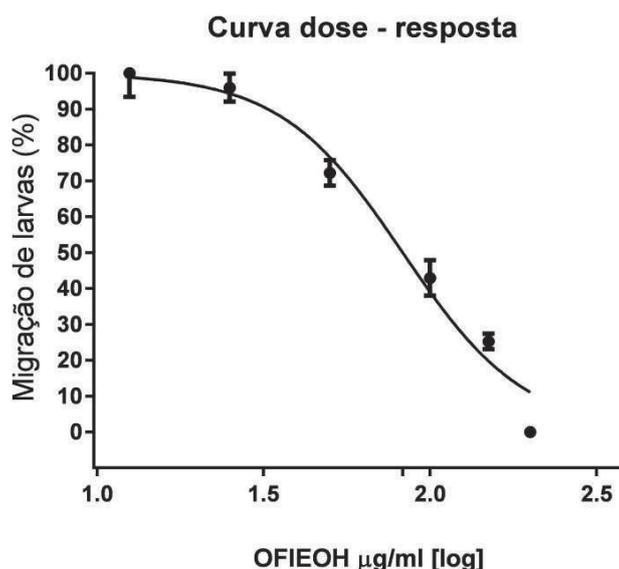


**Figura 6-** Curva do efeito dose-dependente no teste de eclodibilidade ovos com o extrato hidroalcoólico obtido a partir da casca da *O.ficus-indica*.

Tabela 3. Percentual médio ( $\pm$  desvio padrão) de inibição da migração larvar de nematódeos gastrintestinais no teste de migração larvar com o extrato hidroalcoólico obtidos a partir da casca da *O. ficus-indica*.

Concentração da OFIEOH (mg/mL)	Taxa de inibição da migração larvar (%)
200	77,26 $\pm$ 0,66
150	59,21 $\pm$ 1,77
100	49,57 $\pm$ 4,22
50	25,63 $\pm$ 2,88
25	8,66 $\pm$ 3,11
12,5	5,78 $\pm$ 5,33
H <sub>2</sub> O	1,08 $\pm$ 4,44
Ivermectina	87,00 $\pm$ 4,66
CL <sub>50</sub>	82,79 mg/mL

CL<sub>50</sub> = Concentração letal para 50% dos ovos.



**Figura 7-** Curva do efeito dose-dependente no teste de migração larvar com o extrato hidroalcoólico obtido a partir da casca da *O.ficus-indica*.

Os testes *in vitro* da eficácia do OFIEOH demonstram o potencial da planta como antiparasitário natural, embora os testes tenham sido realizados com o extrato bruto, e assim, seria difícil atribuir estes efeitos de controle parasitário a uma classe ou componente específico dos fitoconstituintes. Entretanto, ao se analisar a composição do extrato, verifica-se que os efeitos de controle verificados nos testes *in vitro* são decorrentes da grande fração de compostos fenólicos, e mais especificamente dos flavonoides quercetínicos. Em contrapartida, Féboli (2015) testou a eclodibilidade dos ovos e a migração larvar nos extratos particionados dos cladódios, e verificou que maior eficácia ocorria para os extratos que continham taninos.

Muitos estudos que avaliam o potencial de plantas para uso fitoterápico contra os helmintos gastrointestinais destacam os taninos pelos seus efeitos diretos contra os parasitas, por promover alterações estruturais nos parasitos, reduzir o desenvolvimento dos estágios larvares, além de comprometer a fertilidade das fêmeas dos parasitas e a eclodibilidade dos ovos (MARTÍNEZ-ORTÍZ-DE-MONTELLANO et al., 2010; MAX, 2010; HOSTE et al., 2012). Entretanto, a concentração elevada deste componente não ficou evidenciada neste estudo. Dessa forma, os achados desta pesquisa sugerem que outros compostos fenólicos, como os flavonóides quercetínicos, também possam exercer atividade antiparasitária, e, ainda, que é provável que exista um efeito sinérgico entre estes compostos verificados em maior concentração e que os demais fitoquímicos do

extrato da planta possam ter contribuído para o efeito antiparasitário verificado neste estudo (AKKARI et al., 2014; RUSSO et al., 2014).

O efeito sinérgico entre os fitoconstituintes das plantas foi verificado por Klongsiriwetet al. (2015) que avaliaram o efeito combinado ou isolado de diferentes compostos flavonoides através de testes de desembainhamento larvar. Os autores verificaram que as quercetinas tiveram um efeito sinérgico com os taninos condensados. Ainda, os autores verificaram que os efeitos sinérgicos entre estes compostos ocorreram em baixas concentrações de taninos. Estas condições foram semelhantes às verificadas neste estudo e sugerem que os taninos tiveram sua atividade significativamente aumentada pela adição da quercetina.

### 3.3.4 Teste de migração de larvas (TML) e interação farmacológica

No TML com a interação droga-droga, os melhores valores de eficácia foram encontrados nas maiores concentrações com a CL<sub>50</sub> dos compostos, evidenciando um efeito dose-dependente. Nesse sentido, a concentração de 50 mg/mL IVM+ 82,80 mg/mL CL<sub>50</sub> OFIEOH e de 200 mg/mL OFIEOH + 22,50 mg/mL CL<sub>50</sub> IVM apresentaram maior efeito sobre a motilidade das larvas.

Os resultados da inibição da migração larvar utilizando a combinação das concentrações da ivermectina com a CL<sub>50</sub> do extrato hidroalcoólico da casca da *O.ficus-indica* estão ilustrados na Tabela 4. Já os resultados da inibição da migração larvar utilizando a interação das concentrações do extrato hidroalcoólico da casca da *O.ficus-indica* com CL<sub>50</sub> da ivermectina estão ilustrados na Tabela 5.

O interesse em se realizar combinações anti-helmínticas decorre do problema crescente de resistência dos parasitos, e dessa forma, a associação dos princípios permitiria um controle mais eficaz, retardando o aparecimento da resistência e controlando as populações de parasitas resistentes (GEARY et al., 2012). Entretanto, interações desfavoráveis entre os compostos ativos são possíveis, e precisam ser consideradas (CANTON et al., 2017).

Tabela 4. Percentual médio ( $\pm$  desvio padrão) de inibição da migração larvar de nematódeos gastrintestinais no TML com a interação da IVM com a concentração equivalente a CL<sub>50</sub> do OFIEOH

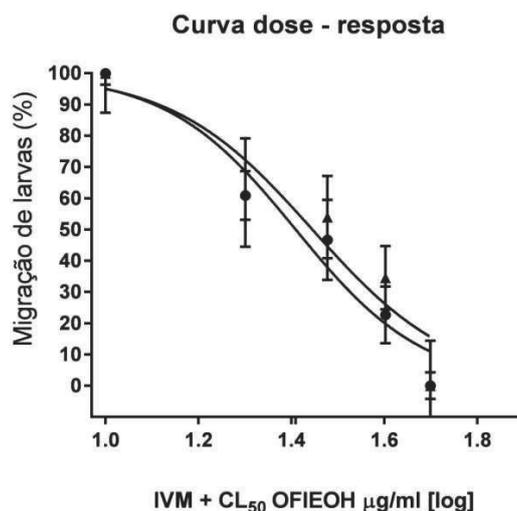
Concentração (mg/mL)	INTERAÇÃO
	TML (%)
IVM+ CL <sub>50</sub> OFIEOH	
50 + 82,80	73,78 $\pm$ 6,11
40+ 82,80	53,85 $\pm$ 4,11
30+ 82,80	42,66 $\pm$ 5,53
20+ 82,80	38,11 $\pm$ 6,68
10+ 82,80	16,08 $\pm$ 1,33
H <sub>2</sub> O	0,70 $\pm$ 2.22
CL <sub>50</sub>	25,75 mg/mL

CL<sub>50</sub> = Concentração letal para 50% das larvas.

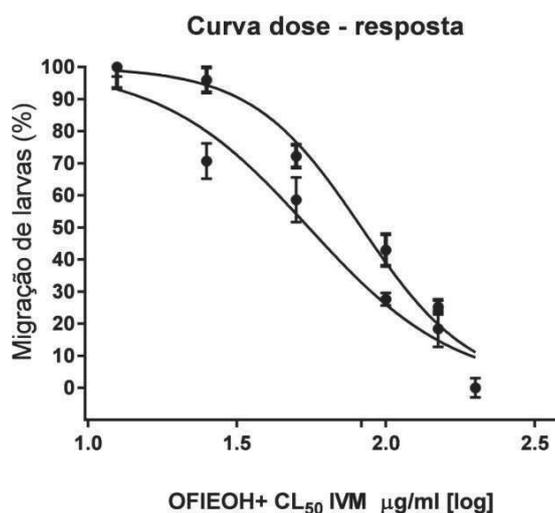
Tabela 5. Percentual médio ( $\pm$  desvio padrão) de inibição da migração larvar de nematódeos gastrintestinais no TML com a interação do extrato hidroalcoólico obtido a partir da casca da *O. ficus-indica* com a CL<sub>50</sub> da IVM.

Concentração (mg/mL)	INTERAÇÃO
	TML (%)
OFIEOH+ CL <sub>50</sub> IVM	
200 + 22,50	62,49 $\pm$ 2,11
150+ 22,50	45,82 $\pm$ 4,22
100+ 22,50	37,48 $\pm$ 1,33
50+ 22,50	9,35 $\pm$ 5,33
25+ 22,50	3,09 $\pm$ 7,33
12,5 + 22,50	1,53 $\pm$ 4,11
H <sub>2</sub> O	0,35 $\pm$ 3,33
CL <sub>50</sub>	82,79 mg/mL

CL<sub>50</sub> = Concentração letal para 50% das larvas.



**Figura 8-** Curva do efeito dose-dependente no teste de migração larvar com a interação da IVM e a CL<sub>50</sub> do OFIEOH obtido a partir da casca da *Opuntia ficus-indica*



**Figura 9-** Curva do efeito dose-dependente no teste de migração larvar com a interação do extrato hidroalcoólico obtido a partir da casca da *O. ficus-indica* com a CL<sub>50</sub> da ivermectina.

Ao analisar as curvas de interação entre a ivermectina e a OFIEOH, observa-se que a inclusão da CL<sub>50</sub> do extrato de *O.ficus-indica* nas diferentes doses de ivermectina não afetou a eficácia deste produto sobre a motilidade das larvas (efeito de neutralização) (Figura 3). Por outro lado, a adição da CL<sub>50</sub> da ivermectina nas diferentes doses da OFIEOH apresentou efeito antagônico, reduzindo a eficiência do extrato sobre as larvas dos helmintos (Figura 4). Sunada et al. (2011) avaliaram o efeito da interação droga-droga entre fitoterápicos e anti-helmínticos, pesquisando o efeito do fornecimento de alho desidratado (*Allium sativa*) para ovelhas associadas ou não à administração de levamisole ou ivermectina. Os autores verificaram efeito sinérgico de sua utilização com os

antiparasitários convencionais, com redução na contagem de ovos após 30 dias de avaliação, com 71,3; 63,5; 60,9; 62,6 e 65,9% para os tratamentos alho, alho + levamisole, alho + ivermectina, ivermectina elevamisole, respectivamente, recomendando a utilização do fitoterápico 'isolado' contra parasitas gastrintestinais.

Contudo, de maneira geral, os dados experimentais das interações planta-droga são limitados (FUGH-BERMAN, 2000). Com relação a combinação de extrato vegetais e outras drogas, os estudos ainda são insuficientes sobre este tipo de interação o que impossibilita a comparação direta dos resultados verificados neste estudo. Além disso, a interação e o mecanismo de ação dos compostos fenólicos e dos flavonóides sobre os parasitas gastrointestinais de ovinos, ainda precisa de aprofundamentos, e dessa forma, a maneira com que um mecanismo de ação influenciou o outro para justificar os resultados obtidos nas curvas de interação, não podem ser precisamente reconhecidos.

### 3.4 CONCLUSÃO

O extrato hidroalcoólico dos cladódios da *O.ficus-indica* apresenta-se constituído por compostos fenólicos, dentre os quais foram identificados como ácido caféico, quercetina-3 rutosídeo-6-glucosídeo, quercetina-6-glucosídeo, rutina, quercetina-3 glucosídeo e quercetina. O extrato apresentou um efeito dose-dependente, em que se verificou a maior eficácia na eclodibilidade dos ovos e na motilidade de larvas para as maiores concentrações estudadas. O efeito de interação entre a ivermectina e o extrato de *O.ficus-indica* não apresentou um padrão, mas indicam que a associação deste com a ivermectina pode apresentar efeito antagônico. O extrato demonstrou desempenho promissor como antiparasitário natural, porém novos estudos devem ser realizados buscando maximizar sua eficácia.

## REFERÊNCIAS

AKKARI, H.; RTIBI, K.; B'CHIR, F.; REKIK, M.; DARGHOUTH, M. A.; GHARBI, M. *In vitro* evidence that the pastoral *Artemisia campestris* species exerts an anthelmintic effect on *Haemonchus contortus* from sheep. **Veterinary research communications**, v. 38, n. 3, p. 249-255, 2014.

ALVES, A. M. P.; ALVES E. P. B.; BUTTOW, N. C.; PERLES, J. V. C. M.; ZANONI, J. N.; STABILLE, S. R. Aspectos gerais e abordagem terapêutica da quercetina sobre as complicações do diabetes causadas pelo estresse oxidativo. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 14, n. 2, p. 179-186, 2010.

BISPO, S. V.; FERREIRA, M. D. A.; VÉRAS, A. S. C.; BATISTA, A. M. V.; PESSOA, R. A. S.; BLEUEL, M. P. Palma forrageira em substituição ao feno de capim-elefante. Efeito sobre consumo, digestibilidade e características de fermentação ruminal em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 6, p. 1902-1909, 2007.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248- 254, 1976.

BRÁS, A. A. Q. **Caracterização do extrato de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill e avaliação da sua atividade fotoprotetora**. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Farmácia). Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande. 21 p., 2011.

CANTON, C.; CEBALLOS, L.; FIEL, C.; MORENO, L.; YAGÜEZ, P. D.; BERNAT, G.; LANUSSE, C.; ALVAREZ, L. Resistant nematodes in cattle: Pharmacotherapeutic assessment of the ivermectin-ricobendazole combination. **Veterinary Parasitology**, v. 234, p. 40-48, 2017.

CARDADOR-MARTÍNEZ, A.; JIMÉNEZ-MARTÍNEZ, C.; SANDOVAL, G. Revalorization of cactus pear (*Opuntia spp.*) wastes as a source of antioxidants. **Food Science and Technology**, v. 31, n. 3, p. 782-788, 2011.

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

CUNHA, A. P.; SILVA, A. P.; ROQUE, O. R.. **Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia**. Fundação Calouste Gulbenkian, 2003.

D'ASSONVILLE, J.A., JANOVSKY, E., VERSTER, A. In vi tro screening of Haemonchus contortus third stage larvae for ivermectin resistance. **Veterinary Parasitology** , v. 61, p. 73-80, 1996.

DAMASCENO, G. A. B. **Obtenção de extratos da *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill e suas aplicações em formulações cosméticas: avaliação *in vivo* do sensorial e da eficácia hidratante**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, Rio Grande do Norte, 102p., 2014.

FÉBOLI, A. Estudos fitoquímicos e avaliação do potencial anti-helmíntico da *Opuntia ficus-indica*. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita”, 65p., 2015.

FÉBOLI, A.; LAURENTIZ, A. C.; SOARES, S. C.; AUGUSTO, J. G.; ANJOS, L. A.; MAGALHÃES, L. G.; FILARDI, R. S.; LAURENTIZ, R. S. Ovicidal and larvicidal activity of extracts of *Opuntia ficus-indica* against gastrointestinal nematodes of naturally infected sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 226, p. 65-68, 2016.

FEUGANG, J.M.; KONARSKI, P.; ZOU, D.; STINTZING, F.C.; ZOU, C. Medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp) cladodes and fruits. **Frontiers in Bioscience**, Nova York, v. 11, n. 1, p. 2574-2589, 2006.

FOX, J.D.; ROBYT, J.F. Miniaturization of three carbohydrate analysis using a micro sample plate reader. **Analytical Biochemistry**, v.195, n.1, p.93-96, 1991.

FUGH-BERMAN, A. Herb-drug interactions. **The Lancet**, v. 355, p. 134-138, 2000.

GEARY, T. G.; HOSKING, B. C.; SKUCE, P. J.; SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; MAEDER, S.; HOLDSWORTH, P.; POMROY, W.; VERCRUYSSSE, J. World association for the advancement of veterinary parasitology (W.A.A.V.P.) guideline: anthelmintic combination products targeting nematode infections of ruminants and horses. **Veterinary Parasitology**, v. 190, p. 306–316, 2012.

GEBREMARIAM, T.; MELAKU, S.; YAMI, A. Effect of different levels of cactus (*Opuntia ficus-indica*) inclusion on feed intake, digestibility and body weight gain in tef (*Eragrostis tef*) strawbased feeding of sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v.131, p.43-52, 2006.

GINESTRA, G.; PARKER, M. L.; BENNETT, R. N.; ROBERTSON, J.; MANDALARI, G.; NARBAD, A.; CURTO, R. B. L.; BISIGNANO, G.; FAULDS, C. B.; WALDRON, K. W. Anatomical, chemical, and biochemical characterization of cladodes from prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 21, p. 10323-10330, 2009.

HOSTE, H.; MARTINEZ-ORTIZ-DE-MONTELLANO, C.; MANOLARAKI, F.; BRUNET, S.; OJEDA-ROBERTOS, N.; FOURQUAUX, I.; TORRES-ACOSTA, J. F. F.; SANDOVAL-CASTRO, C. A. Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate legumes against nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v. 186, n. 1, p. 18-27, 2012.

JORGE, A. J.; DE LA GARZA, T. H.; ALEJANDRO, Z. C.; RUTH, B. C.; NOÉ, A. C. The optimization of phenolic compounds extraction from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) skin in a reflux system using response surface methodology. **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, v. 3, n. 6, 436-442, 2013.

KLONGSIRIWET, C.; QUIJADA, J.; WILLIAMS, A. R.; MUELLER-HARVEY, I.; WILLIAMSON, E. M.; HOSTE, H. Synergistic inhibition of *Haemonchus contortus* exsheathment by flavonoid monomers and condensed tannins. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 5, n. 3, 127-134, 2015.

LASISI, A. A.; KAREEM, S. O. Evaluation of anthelmintic activity of the stem bark extract and chemical constituents of *Bridelia ferruginae* (Benth) *Euphorbiaceae*. **African Journal of Plant Science**, v. 5, n. 8, p. 469-474, 2011.

LEE, E. B.; HYUN, J. E.; LI, D. W.; MOON, Y. I. Effects of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* stem on gastric damage in rats. **Archive of Pharmacologic Research**, v. 25, 67–70, 2002.

MARINHO, M. L.; ALVES, M. S.; RODRIGUES, M. L. C.; ROTONDANO, T. E. F.; VIDAL, I. F.; SILVA, W. W.; ATHAYDE, A. C. R. A utilização de plantas medicinais em medicina veterinária: um resgate do saber popular. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, p.64-69, 2007.

MARTÍNEZ-ORTÍZ-DE-MONTELLANO, C.; VARGAS-MAGAÑA, J. J.; CANUL-KU, H. L.; MIRANDA-SOBERANIS, R.; CAPETILLO-LEAL, C.; SANDOVAL-CASTRO, C. A.; HOSTE, H.; TORRES-ACOSTA, J. F. J. Effect of a tropical tannin-rich plant *Lysiloma latisiliquum* on adult populations of *Haemonchus contortus* in sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 172, n. 3, p. 283-290, 2010.

MAX, R. A. Effect of repeated wattle tannin drenches on worm burdens, faecal egg counts and egg hatchability during naturally acquired nematode infections in sheep and goats. **Veterinary Parasitology**, v. 169, n. 1, p. 138-143, 2010.

MENDONÇA, V.M.; SANTOS, A.J.; NASCIMENTO, I.R.; OLIVEIRA, M.A.S.; ROCHA, S.S.; CABRAL, E.S. Perspectivas da Fitoterapia Veterinária: Plantas Potenciais na Terapia dos Animais de Produção. **Cadernos de Agroecologia**, v. 9, n. 4, p.1-5, nov. 2014.

MENEZES, R. S. C.; SIMÕES, D. A.; SAMPAIO, E. V. S. B. **A palma no Nordeste do Brasil – Conhecimento atual e novas perspectivas de uso**. Recife: Ed. Universitária da UFRPE, 2005, v. 1, p. 44. 2005.

MOLENTO, M.B., PRICHARD, R. K. Effect of multidrug resistance modulators on the activity of ivermectin and moxidectin against selected strains of *Haemonchus contortus* infective larvae. **Revista Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, p. 117-121, 2001

MORAIS, S. A. L.; AQUINO, F. J. T.; NASCIMENTO, P. M.; NASCIMENTO, E. A.; CHANG, R. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café conilon submetido a diferentes graus de torra. **Química Nova**, v.32, p.327-331, 2009.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, n. 1, p. 95-111, 2004.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; NEVEU, V.; VOS, F.; SCALBERT, A. Systematic analysis of the content of 502 polyphenols in 452 foods and beverages: an application of the phenol-explorer database. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 8, p. 4959-4969, 2010.

QUEIROZ, C. R. A. A.; MORAIS, S. A. L; NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta. **Sociedade de Investigações Florestais**, v. 26, n. 4, p. 485-492, 2002.

RANGEL, A. H. N.; LIMA JUNIOR, D. M.; BRAGA, A. P.; SIMPLÍCIO, A. A.; AGUIAR, E. M. et al. Suprimento e demanda de nutrientes em sistemas em não equilíbrio. **Revista Verde** , v.4, n.1, p.14-30. 2009.

RODRIGUES, A. M.; PITACAS, F. I.; REIS, C. G.; BLASCO, M. Nutritional value of *O ficus-indica* cladodes from Portuguese ecotypes. **Bulgarian Journal of Agricultural Sciences**, v. 22, p. 40-45, 2016.

RUSSO, M.; SPAGNUOLO, C.; TEDESCO, I.; BILOTTO, S.; RUSSO, G. L. The flavonoid quercetin in disease prevention and therapy: facts and fancies. **Biochemical pharmacology**, v. 83, n. 1, p. 6-15, 2012.

RUSSO, G. L.; RUSSO, M.; SPAGNUOLO, C. The pleiotropic flavonoid quercetin: from its metabolism to the inhibition of protein kinases in chronic lymphocytic leukemia. **Food & function**, v. 5, n. 10, p. 2393-2401, 2014.

SANTOS, D.C.; FARIAS, I.; LIRA, M.A. et al. **Manejo e utilização da palma forrageira (Opuntia e Nopalea) em Pernambuco: cultivo e utilização**. Recife: IPA, (IPA. Documentos,). 45p. 2002.

SAENZ, C. Cactus pear fruits and cladodes: a source of functional compounds for foods. **Acta Horticulturae**, v. 581, p. 253-263, 2002.

SEMEDO, A.C. **Compostos bioativos de Opuntia ficus indica**. 2011. 119f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Controle da Qualidade e Toxicologia dos Alimentos, Universidade de Lisboa Faculdade de Farmácia, Lisboa, 2012.

SHEDBALKAR, U. U.; ADKI, V. S.; JADHAV, J. P.; BAPAT, V. A. *Opuntia* and other cacti: applications and biotechnological insights. **Tropical plant biology**, v. 3, n. 3, p. 136-150, 2010.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTOS SANTANA, A.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

STINTZING, F.C.; CARLE, R. Cactus stems (*Opuntia spp.*): a review on their chemistry, technology, and uses. **Molecular Nutrition Food Research**, Weinheim, v. 49, n.2, p. 175–194, 2005.

SUNADA, N. S.; ORRICO JUNIOR, M. A. P.; ORRICO, A. C. A.; OLIVEIRA, A. B. M.; CENTURION, S. R.; LIMA, S. R. N.; FERNANDES, R. M.; VARGAS JUNIOR, F. M. Controle parasitário utilizando levamisol, ivermectina e alho desidratado (*Allium sativum*) em ovelhas da raça Santa Inês. **Revista Agrarian**, v. 4, n. 12, p. 140-145, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**, 4<sup>a</sup> ed. Sinauer Associates. Sunderland, MA. 764 p., 2006.

WANDERLEY, W. L. et al. Consumo, digestibilidade e parâmetros ruminais em ovinos recebendo silagens e fenos em associação à Palma forrageira. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 13, n. 2, p. 444- 456, 2012.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em vista o crescimento no setor da ovinocultura, uma relação harmônica entre as tecnologias de produção, sanidade e o bem-estar animal devem ser priorizadas, a fim de se produzir com eficiência e atender as exigências do mercado consumidor. A saúde animal é um elo trivial para os sistemas de criação, e o controle parasitário de ovinos, no cenário atual, é um grande desafio para técnicos, pesquisadores e produtores, em decorrência da ampla dependência da utilização de produtos químicos, que por serem empregados de maneira indiscriminada, favoreceu a seleção de parasitas resistentes aos princípios ativos disponíveis. Diante disso, a utilização de alternativas de controle, como a fitoterapia, pode ser uma ferramenta de auxílio para driblar a resistência aos princípios antiparasitários, ou ainda ser um instrumento que auxilie a prolongar a vida útil destes compostos.

Apesar da ampla variedade de plantas ditas com atividade antiparasitária, é necessária ainda a realização de estudos que validem sua eficácia, tornando efetiva sua utilização. Neste contexto, o presente estudo teve por objetivo determinar o potencial da planta *O.ficus-indica* no controle de parasitos nematódeos de ovinos, bem como avaliar seu efeito quando em associação ao anti-helmíntico convencional ivermectina.

Os resultados desta pesquisa demonstram que o extrato da *O.ficus-indica* apresentou grande quantidade de compostos fenólicos, principalmente os flavonóis quercetínicos, que, conforme previamente citado, dentre suas ações farmacológicas sugere-se a atividade antiparasitária. O extrato da *O.ficus-indica* apresentou eficácia *in vitro* contra os parasitas, reduzindo a eclodibilidade dos ovos e a migração larvar, seja pelo seu uso exclusivo, ou ainda quando em associação com a ivermectina. Entretanto, foi verificado um possível comportamento antagônico entre a interação do extrato da planta com a ivermectina, embora diante da originalidade desta avaliação, novos estudos devam ser realizados para se comprovar estes efeitos.

Os resultados deste estudo fornecem suporte para maiores avaliações da ação antiparasitária da *O.ficus-indica*, dando perspectivas para novas pesquisas com esta espécie, objetivando ampliar o conhecimento e tornar melhor fundamentado sua utilização contra a parasitose gastrointestinal de ovinos.

**5. ANEXOS**

5.1- Aprovação do comitê de ética.....	82
5.2- Vita .....	83

## 5.1 Aprovação do comitê de ética



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 008/2016, referente ao projeto “**Extrato da Palma Forrageira (*Opuntia ficus indica*) em testes in vitro contra fases pré-parasitárias de nematóides de ovinos**”, sob a responsabilidade de **Marcelo Beltrão Molento** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro, de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - BRASIL, com grau 2 de invasividade, em reunião de 16/03/2016.

Vigência do projeto	Maio/2016 até Abril/2017
Espécie/Linhagem	Ovino
Número de animais	3
Peso/Idade	Não especificado
Sexo	Macho
Origem	Fazenda Experimental do Cangüiri em Pinhais – PR

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 008/2016, regarding the project “**Extract of Palma Forrageira (*Opuntia ficus indica*) in vitro tests against pre-parasitic phases of nematodes in sheep**” under **Marcelo Beltrão Molento** supervision – which includes the production, maintenance and/or utilization of animals from Chordata phylum, Vertebrata subphylum (except Humans), for scientific or teaching purposes – is in accordance with the precepts of Law nº 11.794, of 8 October, 2008, of Decree nº 6.899, of 15 July, 2009, and with the edited rules from Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), and it was approved by the ANIMAL USE ETHICS COMMITTEE OF THE AGRICULTURAL SCIENCES CAMPUS OF THE UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (Federal University of the State of Paraná, Brazil), with degree 2 of invasiveness, in session of 03/16/2016.

Duration of the project	May/2016 until April/2016
Specie/Line	Ovine
Number of animals	3
Wheight/Age	Not specified
Sex	Male
Origin	Experimental Farm of Cangüiri in Pinhais – PR

Curitiba, 16 de Março de 2016.

Ananda Portella Félix

Presidente CEUA-SCA

## 5.2 Vita

Carolina Santos é médica veterinária formada pelo Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais (2011). Durante a graduação, foi bolsista de iniciação científica no Instituto Agrônomo de Paraná – IAPAR (2010-2011). Realizou estágio curricular na empresa Brasil Foods S.A (2011). Após a graduação atuou em diversas áreas, tendo experiência em extensão, tecnologia de produtos de origem animal, qualidade e pesquisa.

Atualmente é pesquisadora na Cooperativa Agroindustrial Castrolanda, Unidade Industrial de Carnes – Castro, Paraná, atuando na pesquisa, desenvolvimento e inovação dos produtos da marca Alegria Foods.

## REFERÊNCIAS

AKKARI, H.; RTIBI, K.; B'CHIR, F.; REKIK, M.; DARGHOUTH, M. A.; GHARBI, M. *In vitro* evidence that the pastoral *Artemisia campestris* species exerts an anthelmintic effect on *Haemonchus contortus* from sheep. **Veterinary research communications**, v. 38, n. 3, p. 249-255, 2014.

ALMEIDA, S. M.; GAMA, C. S.; AKAMINE, N. Prevalência e classificação de interações entre medicamentos dispensados para pacientes em terapia intensiva. **Einstein**, v. 5, n. 4, p. 347-51, 2007.

ALVAREZ, L.; LIFSCHITZ, A.; ENTROCASSO, C.; MANAZZA, J.; MOTTIER, L.; BORDA, B.; VIRKEL, G.; LANUSSE, C. Evaluation of the interaction between ivermectin and albendazole following their combined use in lambs. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 31, n. 3, p. 230-239, 2008.

ALVES, A. M. P.; ALVES E. P. B.; BUTTOW, N. C.; PERLES, J. V. C. M.; ZANONI, J. N.; STABILLE, S. R. Aspectos gerais e abordagem terapêutica da quercetina sobre as complicações do diabetes causadas pelo estresse oxidativo. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 14, n. 2, p. 179-186, 2010.

ALVES, L. G. C.; OSÓRIO, J. D. S.; FERNANDES, A. R. M.; RICARDO, H. D. A.; CUNHA, C. M. Produção de carne ovina em foque no consumidor. **Enciclopédia Biosfera**, v.10, n. 18, p. 2399-2415, 2014.

ANDERSON, N.; MARTIN, P. J.; JARRET, R.G. The efficacy of mixtures of albendazole sulphoxide and levamisole against sheep nematodes resistant to benzimidazole and levamisole. **Australian Veterinary Journal**, v. 68, p. 127-132, 1991.

ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira**, ed 20º p.304, 2013.

ARAÚJO, P.R.; FERREIRA, M.A.; BRASIL, L. H.; SANTOS, D.C.; VERAS, S.C.; SANTOS, M.V.; BISPO, S.; AZEVEDO, M. Substituição do milho pela palma forrageira em dietas para vacas em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n.6, p. 1850, 2004.

ARO, D. T.; POLIZER, K. A.; PENA, S. B. O agronegócio na ovinocultura de corte no Brasil. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 3, n.7, p. 1-4, 2006.

ASHLEY, E. A.; DHORDA, M.; FAIRHURST, R. M.; AMARATUNGA, C.; LIM, P.; SUON, S.; SRENG, S.; ANDERSON, J. M.; MAO, S.; SAM, B.; SOPHA, C.; CHUOR, C. M.; NGUON, C.; SOVANNAROTH, S.; PUKRITTAYAKAMEE, S.; JITTAMALA, P.; CHOTIVANICH, K.; et al. Spread of artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. **New England Journal of medicine**, v. 371, n. 5, p. 411-423, 2014.

BARCHET, I.; FREITAS, C. A. Integração de preços entre o Rio Grande do Sul, Uruguai, Brasil e Austrália nos mercados da carne ovina e da lã. **Espacios**, v. 33, n. 7, p. 5-11, 2012.

BARTLEY, D.J.; JACKSON, F.; JACKSON, E.; SARGISON, N. Characterization of two triple resistant field isolation of *Teladorsagia* from Scottish lowland sheep farm. **Veterinary Parasitology**, v.23, p. 189-199, 2004.

BASSETO, C.C.; SILVA, B.F.; FERNANDES, S.; AMARANTE, A.F.T. Pasture contamination with infective larvae of gastrointestinal nematodes after grazing by sheep resistant or susceptible to parasitic infection. v. 18, p. 63-68, 2009.

BERTONE, M.; GREEN, J.; WASHBURN, S.; POORE, M.; SORENSON, C., WATSON, D. W. Seasonal activity and species composition of dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae and Geotrupidae) inhabiting cattle pastures in North Carolina. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 98, p. 309-321, 2005.

BISPO, S. V.; FERREIRA, M. D. A.; VÉRAS, A. S. C.; BATISTA, A. M. V.; PESSOA, R. A. S.; BLEUEL, M. P. Palma forrageira em substituição ao feno de capim-elefante. Efeito sobre consumo, digestibilidade e características de fermentação ruminal em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 6, p. 1902-1909, 2007.

BORGES, L.M.F.; FERRI, P.H.; SILVA, W.C.; SILVA, W.J. Ação do Extrato hexânico de frutos Maduros de *Melia Azedarach* (*Meliaceae*) sobre *Boophilus microplus* em bezerros infestados artificialmente. **Revista de Patologia Tropical**, v. 34, p.53-59, 2005.

BORGSTEEDE, F.; VERKAIK, J.; MOLL, L.; DERCKSEN, D.; VELLEMA, P.; BAVINCK, G. How widespread is resistance to ivermectin among gastrointestinal Nematodes in sheep in The Netherlands? **Tijdschrift voor diergeneeskunde**, v. 135, p. 782-785, 2010.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248- 254, 1976.

BRÁS, A. A. Q. **Caracterização do extrato de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill e avaliação da sua atividade fotoprotetora**. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Farmácia). Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande. 21 p., 2011.

BRAZ FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.

BROWN D. J.; FOGARTY N. M. Genetic relationships between internal parasite resistance and production traits in Merino sheep. **Animal Production Science**, v. 57, p. 209-215, 2016.

CANTON, C.; CEBALLOS, L.; FIEL, C.; MORENO, L.; YAGÜEZ, P. D.; BERNAT, G.; LANUSSE, C.; ALVAREZ, L. Resistant nematodes in cattle: Pharmaco-therapeutic assessment of the ivermectin-ricobendazole combination. **Veterinary Parasitology**, v. 234, p. 40-48, 2017.

CARDADOR-MARTÍNEZ, A.; JIMÉNEZ-MARTÍNEZ, C.; SANDOVAL, G. Revalorization of cactus pear (*Opuntia spp.*) wastes as a source of antioxidants. **Food Science and Technology**, v. 31, n. 3, p. 782-788, 2011.

CEREJO, S. A.; MATTOS JÚNIOR, E. Contenção farmacológica em felinos silvestres. **Investigação**, v. 14, n. 1, P. 39-65, 2015.

CEZAR A. S.; CATTO J. B; BIANCHIN, I. Controle alternativo de nematódeos gastrintestinais dos ruminantes: atualidade e perspectivas. **Ciência Rural**, v. 38, p. 2083-2091, 2008.

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

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

CONDER, G.A.; CAMPBELL, W.C. Chemotherapy of nematode infections of veterinary importance, with special reference to drug resistance. **Advances in Parasitology**, v. 35, p. 1-83, 1995.

COSTA, C. T.; BEVILAQUA, C. M.; MACIEL, M. V.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L.; MORAIS, S.M.; MONTEIRO, M.V.; FARIAS, V.M.; SILVA, M.V.; SOUZA, M.M. Anthelmintic activity of *Azadirachta indica* against sheep gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 137, p. 306-310, 2006.

COSTA, P. T.; COSTA, R. T.; MENDONÇA, G.; VAZ, R. Z. Eficácia anti-helmíntica comparativa do Nitroxinil, Levamisol, Closantel, Moxidectina e Fenbendazole no controle parasitário em ovinos. **Boletim de Indústria Animal**, v. 74, n. 1, p. 72-78, 2017.

CUNHA, A. L.; MOURA, K. S.; BARBOSA, J. C.; SANTOS, A. F. Osmetabólitos secundários e sua importância para o organismo. **Diversitas Journal**, v. 1, n. 2, p. 175-181, 2016.

CUNHA, A. P.; SILVA, A. P.; ROQUE, O. R.. **Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia**. Fundação Calouste Gulbenkian, 2003.

D'ASSONVILLE, J.A., JANOVSKY, E., VERSTER, A. In vi tro screening of *Haemonchus contortus* third stage larvae for ivermectin resistance. **Veterinary Parasitology** , v. 61, p. 73-80, 1996.

DALBONE, C. A. C. Importância ecológica e evolutiva dos principais grupos de metabólitos secundários nas espécies vegetais. *In: Anais do Congresso de educação do Norte Pioneiro Jacarezinho*, p. 396-404, 2010.

DAMASCENO, G. A. B. **Obtenção de extratos da *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill e suas aplicações em formulações cosméticas: avaliação *in vivo* do sensorial e da eficácia hidratante**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, Rio Grande do Norte, 102p., 2014.

DIAS, S. A. Relação entre larvas recuperadas da pastagem e contagem de ovos por gramas de fezes (opg) de nematóides gastrintestinais de bovinos na microrregião de Viçosa, **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.16, n.1, p.33-36, 2007.

DONDORP A. M.; NOSTEN, F.; YI, P.; DAS, D.; PHYO, A. P.; TARNING, J.; LWIN, K. M.; ARIEY, F.; HANPITHAKPONG, W.; LEE, S. J.; RINGWAL, P.; SILAMUT, K.; IMWONG, M.; CHOTIVANICH, K.; LIM, P.; HERDMAN, T.; AN, S. S.; TEUNG, S.; SINGHASIVANON, P. DAY, N. P. J.; LINDEGARDH, N.; SOCHEAT, D.; WHITE, N. J. Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. **New England Journal of Medicine**, v. 361, n. 5, p. 455-467, 2009.

DRUDGE, J. H.; SZANTO, J.; WYATT, Z. N.; ELAM, G. Field studies on parasite control in sheep: Comparison of thiabendazole, ruelene, and phenothiazine. **American Journal of Veterinary Research**, v. 25, n. 1, p. 1512-1518, 1964.

ECHEVARRIA, F. A. M.; BORBA, M. F. S.; PINHEIRO, A. C.; WALLER, P. J.; HANSEN, J. W. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin América: Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 62, p. 199- 206, 1996.

EPE, C.; SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; WIRTHERLE, N.; et al. Efficacy of toltrazuril as a metaphylactic and therapeutic treatment of coccidiosis in first-year grazing calves. **Parasitology Research**, v. 97, p. 127-133, 2005.

FAO - Food and agriculture organization of the United Nations. 2012. Disponível em <<http://www.faostat.fao.org.com>>. Acesso em 22 de fevereiro de 2017.

FÉBOLI, A. Estudos fitoquímicos e avaliação do potencial anti-helmíntico da *Opuntia ficus-indica*. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita”, 65p., 2015.

FÉBOLI, A.; LAURENTIZ, A. C.; SOARES, S. C.; AUGUSTO, J. G.; ANJOS, L. A.; MAGALHÃES, L. G.; FILARDI, R. S.; LAURENTIZ, R. S. Ovicidal and larvicidal activity of extracts of *Opuntia ficus-indica* against gastrointestinal nematodes of naturally infected sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 226, p. 65-68, 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**, v. 56, n. 6, p. 733-740, 2004.

FERREIRA, V. F.; PINTO, A. C. A fitoterapia no mundo atual. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1829-1829, 2010.

FEUGANG, J. M.; KONARSKI, P.; ZOU, D.; STINTZING, F. C.; ZOU, C. Medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp) cladodes and fruits. **Frontiers in Bioscience**, v. 11, n. 1, p. 2574-2589, 2006.

FEUGANG, J.M.; KONARSKI, P.; ZOU, D.; STINTZING, F.C.; ZOU, C. Medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp) cladodes and fruits. **Frontiers in Bioscience**, Nova York, v. 11, n. 1, p. 2574-2589, 2006.

FIRMO, W. D. C. A.; MENEZES, V. D. J. M.; PASSOS, C. E. C., DIAS; C. N.; ALVES, L. P. L.; DIAS, I. C. L.; SANTOS NETO, M.; OLEA, R. S. G. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cadernos de Pesquisa**, v.18, 2011.

FLORIO J. C.; SPINOSA H.; GÓRNIAC S. L; BERNARDI M.M. Mecanismo de ação e relação dose/resposta. In: **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**, 5ª ed, São Paulo: GUANABARA KOOGA. cap 3. p. 21-21, 2011.

FONTENOT, M.E.; MILLER J.E.; PEÑA M. T.; LARSEN M.; GILLESPIE A. Efficiency of feeding *Duddingtonia flagrans* chlamydospores to grazing ewes on reducing availability of parasitic nematode larvae on pasture. **Veterinary Parasitology**, v.118, p. 203-213, 2003.

FORTES, F. S.; MOLENTO, M. B. Resistência anti-helmíntica em nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes: avanços e limitações para seu diagnóstico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 12, p. 1391-1402, 2013.

FOX, J.D.; ROBYT, J.F. Miniaturization of three carbohydrate analysis using a micro sample plate reader. **Analytical Biochemistry**, v.195, n.1, p.93-96, 1991.

FOX, M. T. Pathophysiology of infection with gastrointestinal nematodes in domestic ruminants: recent developments. **Veterinary Parasitology**, v. 72, n. 3-4, p. 285-308, 1997.

FUGH-BERMAN, A. Herb-drug interactions. **The Lancet**, v. 355, p. 134-138, 2000.

GALLIDIS, E.; ANGELOPOULOU, K.; PAPADOPOULOS, E. Detection of benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* using allele-specific PCR. In: **Second greek veterinary congress for farm animal medicine, food safety and hygiene and consumer protection**, Thessaloniki, Greece, p. 128, 2011.

GARCÍA, A. A.; CARRIL, E. P. U. Metabolismo secundario de plantas. **Reduca**, v. 2, n. 3, 2009.

GEARY, T. G.; HOSKING, B. C.; SKUCE, P. J.; SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; MAEDER, S.; HOLDSWORTH, P.; POMROY, W.; VERCRUYSSSE, J. World association for the advancement of veterinary parasitology (W.A.A.V.P.) guideline: anthelmintic combination products targeting nematode infections of ruminants and horses. **Veterinary Parasitology**, v. 190, p. 306–316, 2012.

GEBREMARIAM, T.; MELAKU, S.; YAMI, A. Effect of different levels of cactus (*Opuntia ficus-indica*) inclusion on feed intake, digestibility and body weight gain in tef (*Eragrostis tef*) strawbased feeding of sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v.131, p.43-52, 2006.

GILLEARD J. S. The use of *Caenorhabditis elegans* in parasitic nematode research.

**Parasitology**, v. 128: p. 49-70, 2004.

GINESTRA, G.; PARKER, M. L.; BENNETT, R. N.; ROBERTSON, J.; MANDALARI, G.; NARBAD, A.; CURTO, R. B. L.; BISIGNANO, G.; FAULDS, C. B.; WALDRON, K. W.

Anatomical, chemical, and biochemical characterization of cladodes from prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 21, p. 10323-10330, 2009.

GOLDBERG V, CIAPPESONI G, AGUILAR I. Genetic parameters for nematode resistance in periparturient ewes and post-weaning lambs in Uruguayan Merino sheep.

**Livestock Science**, v.147, p. 181-187, 2012.

GOUVEIA, A. M. G.; GUIMARAES, A. S.; HADDAD, J. P. A. Características zoossanitárias da ovinocultura em Minas Gerais. **Revista Veterinária e Zootecnia**, v. 102, p. 34-40, 2009.

HOSTE, H.; MARTINEZ-ORTIZ-DE-MONTELLANO, C.; MANOLARAKI, F.; BRUNET, S.; OJEDA-ROBERTOS, N.; FOURQUAUX, I.; TORRES-ACOSTA, J. F. F.; SANDOVAL-CASTRO, C. A. Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate legumes against nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v. 186, n. 1, p. 18-27, 2012.

HOWELL, S. B.; BURKE, J. M.; MILLER, J. E.; TERRILL, T. H.; VALENCIA, E.; WILLIAMS, M. J.; WILLIAMSON, L. H.; ZAJAC, A. M.; KAPLAN, R.M. Prevalence of anthelmintic resistance on sheep and goat farms in the southeastern United States. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 233, p. 1913-1919, 2008.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2015. Rio de Janeiro. Disponível em <[www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br)>. Acesso em 22 de fevereiro de 2017.

IGARASHI, M.; CARVALHO, D. M. G.; BUCCI, F. C.; MIRANDA, Y.; RODRIGUES, Z. M.; ALMEIDA, M. C. F.; PIONA, M. N. M. Efeito do Neem (*Azadirachta indica*) no controle de nematódeos gastrintestinais em ovinos suplementados a pasto no período seco. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 1, p. 301-310, 2013.

JACKSON, F.; COOP, R.L. The development of anthelmintic resistance in sheep nematodes. **Parasitology Research**. v. 120, p. 95–107, 2000.

JACKSON, F.; MILLER, J. E. Alternative approaches to control. **Veterinary Parasitology**, v. 139, p. 371-384, 2006.

JORGE, A. J.; DE LA GARZA, T. H.; ALEJANDRO, Z. C.; RUTH, B. C.; NOÉ, A. C. The optimization of phenolic compounds extraction from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) skin in a reflux system using response surface methodology. **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, v. 3, n. 6, 436-442, 2013.

KAPLAN, R. M.; VIDYASHANKAR, A. N. An inconvenient truth: global warming and anthelmintic resistance. **Veterinary Parasitology**, v. 186, n. 1, p. 70-78, 2012.

KERBOEUF, D.; BLACKHALL, W.; KAMINSKY, R.; SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. V. P-glycoprotein in helminths: function and perspectives for anthelmintic treatment and reversal of resistance. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 3, p. 332-346. 2003.

KLONGSIRIWET, C.; QUIJADA, J.; WILLIAMS, A. R.; MUELLER-HARVEY, I.; WILLIAMSON, E. M.; HOSTE, H. Synergistic inhibition of *Haemonchus contortus* exsheathment by flavonoid monomers and condensed tannins. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 5, n. 3, 127-134, 2015.

LAGARES, A. F. B. F. **Parasitoses de pequenos ruminantes na região da Cova da Beira**. (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, 2008.

LANUSSE, C.; ALVAREZ, L. Resistant nematodes in cattle: Pharmaco-therapeutic assessment of the ivermectin-ricobendazole combination. **Veterinary Parasitology**, v. 234, p. 40-48, 2013.

LARSEN, J.W.; ANDERSON, N.; VIZARD, A.L., ANDERSON, G.A.; HOSTE, H. Diarrhoea in merino ewes during winter: association with trichostrongylid larvae. **Australian Veterinary Journal**. v.71, p.365-372, 1994.

LASISI, A. A.; KAREEM, S. O. Evaluation of anthelmintic activity of the stem bark extract and chemical constituents of *Bridelia ferruginae* (Benth) *Euphorbiaceae*. **African Journal of Plant Science**, v. 5, n. 8, p. 469-474, 2011.

LEE, E. B.; HYUN, J. E.; LI, D. W.; MOON, Y. I. Effects of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* stem on gastric damage in rats. **Archive of Pharmacologic Research**, v. 25, 67–70, 2002.

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

LOPES, J.; SANCHES, J.M.; BRAGA, R.M.; MELO, D.R. Avaliação dos diferentes princípios ativos no controle de helmintos gastrintestinais em rebanho ovino na região do Taiano – Roraima. **AgroEducare**, v.1, p. 85-103, 2013.

LOVE, S. Drench resistance and sheep worm control. **Primefact**, v. 478, p. 1-5, 2007.

MACHADO, B. F. M. T.; FERNANDES JÚNIOR, A. Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. **Cadernos Acadêmicos**, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.

MAGALHÃES, L. G.; FILARDI, R. S.; LAURENTIZ, R. S. Ovicidal and larvicidal activity of extracts of *Opuntia ficus-indica* against gastrointestinal nematodes of naturally infected sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 226, p. 65-68, 2016.

MALAN, F.S., VAN WYK, J.A., WESSELS, C.D. Clinical evaluation of anaemia in sheep: early trials. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v.68, p.165-174, 2001.

MARINHO, M. L.; ALVES, M. S.; RODRIGUES, M. L. C.; ROTONDANO, T. E. F.; VIDAL, I. F.; SILVA, W. W.; ATHAYDE, A. C. R. A utilização de plantas medicinais em medicina veterinária: um resgate do saber popular. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, p. 64-69, 2007.

MARINHO, M. L.; ALVES, M. S.; RODRIGUES, M. L. C.; ROTONDANO, T. E. F.; VIDAL, I. F.; SILVA, W. W.; ATHAYDE, A. C. R. A utilização de plantas medicinais em medicina

veterinária: um resgate do saber popular. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, p.64-69, 2007.

MARTINEZ, C. O. M. **Mecanismos de acción de las plantas ricas en taninos sobre La población adulta de nematodos gastrointestinales de lós pequeños rumiantes**. 2010. 154 f. Tese (Doutorado em Ciências Agropecuárias) – Université de Toulouse, Mérida, Yucatán, México, 2010.

MARTÍNEZ-ORTÍZ-DE-MONTELLANO, C.; VARGAS-MAGAÑA, J. J.; CANUL-KU, H. L.; MIRANDA-SOBERANIS, R.; CAPETILLO-LEAL, C.; SANDOVAL-CASTRO, C. A.; HOSTE, H.; TORRES-ACOSTA, J. F. J. Effect of a tropical tannin-rich plant *Lysiloma latisiliquum* on adult populations of *Haemonchus contortus* in sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 172, n. 3, p. 283-290, 2010.

MARTINS, S. C. C. Avaliação do potencial biológico de *O. ficus-indica* (Figueira da Índia). Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, **Universidade Fernando Pessoa**, Faculdade de Ciências da Saúde, 54 p., 2011.

MAVROT, F.; HERTZBERG, H.; TORGERSON, P. Effect of gastrointestinal nematode infection on sheep performance: a systematic review and meta-analysis. **Parasites and Vectors**, v. 557, n. 8, p.1-11, 2015.

MAX, R. A. Effect of repeated wattle tannin drenches on worm burdens, faecal egg counts and egg hatchability during naturally acquired nematode infections in sheep and goats. **Veterinary Parasitology**, v. 169, n. 1, p. 138-143, 2010.

MCKENNA, P.B. Update on the prevalence of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of sheep in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 58, p. 172-173, 2010.

MCMANUS, C.; PAIVA, S.R.; ARAUJO, R.O. Genetics and breeding of sheep in Brazil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, suppl., p. 236-246, 2010.

MEJÍA, M. E.; IGARTÚA, B. M. F.; SCHMIDT, E. E.; CABARET, J. Multispecies and multiple anthelmintic resistance on cattle nematodes in a farm in Argentina: the beginning of high resistance? **Veterinary Research**, v. 34, n. 4, p. 461-467, 2003.

MELO, A. C. F. L.; BEVILAQUA, C. M. L. Abordagem genética da resistência anti-helmíntica em *Haemonchus contortus*. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 100, p. 141-146, 2005.

MENDONÇA, V. M.; SANTOS, A.J.; NASCIMENTO, I.R.; OLIVEIRA, M.A.S.; ROCHA, S.S.; CABRAL, E.S. Perspectivas da Fitoterapia Veterinária: Plantas Potenciais na Terapia dos Animais de Produção. **Cadernos de Agroecologia**, v. 9, n. 4, p.1-5,2014.

MENDONÇA, V.M.; SANTOS; A.J.; NASCIMENTO, I.R.; OLIVEIRA, M.A.S.; ROCHA, S.S.; CABRAL, E.S. Perspectivas da Fitoterapia Veterinária: Plantas Potenciais na Terapia dos Animais de Produção. **Cadernos de Agroecologia**, v. 9, n. 4, p.1-5, nov. 2014.

MENEZES, R. S. C.; SIMÕES, D. A.; SAMPAIO, E. V. S. B. **A palma no Nordeste do Brasil – Conhecimento atual e novas perspectivas de uso**. Recife: Ed. Universitária da UFRPE, 2005, v. 1, p. 44. 2005.

MEXIA, A. A.; MACEDO, F. A. F.; OLIVEIRA, C. A. L.; ZUNDT, M.; YAMAMOTO, S. M.; SANTELLO, G. A.; CARNEIRO, R. C.; SASA, A. Susceptibilidade a nematóides em ovelhas Santa Inês, Bergamácia e Texel no Noroeste do Paraná. **Ciências Agrárias**, v.32, supl. 1, p.1921-1928, 2011.

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

MOLENTO, M. B. Resistência parasitária dos helmintos de equídeos e propostas de manejo. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1469-1477, 2005.

- MOLENTO, M. B.; LIFSCHITZ, A.; SALLOVITZ, J.; LANUSSE, C.; PRICHARD, R. Influence of verapamil on the pharmacokinetics of the antiparasitic drugs ivermectin and moxidectin in sheep. **Parasitology Research**, v. 92, n. 2, p. 121-127, 2004b.
- MOLENTO, M. B.; VERÍSSIMO, C. J. Método Famacha – Nova estratégia no controle de endoparasitoses em pequenos Ruminantes. **Veterinária in Foco**, v. 1, p. 17-18. 2003.
- MOLENTO, M. B.; VERÍSSIMO, C. J.; AMARANTE, A. T.; VAN WYK, J.; CHAGAS, A. C. S.; ARAÚJO, J. D.; BORGES, F. A. Alternativas para o controle de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 80, n. 2, 253-263, 2013.
- MOLENTO, M.B., PRICHARD, R. K. Effect of multidrug resistance modulators on the activity of ivermectin and moxidectin against selected strains of *Haemonchus contortus* infective larvae. **Revista Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, p. 117-121, 2001.
- MORAIS, S. A. L.; AQUINO, F. J. T.; NASCIMENTO, P. M.; NASCIMENTO, E. A.; CHANG, R. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café conilon submetido a diferentes graus de torra. **Química Nova**, v.32, p.327-331, 2009.
- MORAIS, S. A. L.; AQUINO, F. J. T.; NASCIMENTO, P. M.; NASCIMENTO, E. A.; CHANG, R. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café conilon submetido a diferentes graus de torra. **Química Nova**, v.32, p.327-331, 2009.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, n. 1, p. 95-111, 2004.
- NOEDL H.; SE, Y.; SCHAECHER, K.; SMITH, B. L.; SOCHEAT, D.; FUKUDA, M. M. Evidence of artemisinin-resistant malaria in western Cambodia. **New England Journal of Medicine**, v. 359, n. 24, p. 2619-2620, 2008.
- O'CONNOR, L. J.; WALKDEN- BROWN, S. W.; KAHN, L. P. Ecology of the free living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. **Veterinary Parasitology**, v.142, p. 1–15, 2006.

OGA, S.; BASILE, A. C. **Medicamentos e suas interações**. São Paulo, Atheneu, 1994.  
OLIVEIRA, L. M. B.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, S. M.; CCAMURÇA-  
VASCONCELOS, A. L. F.; MACEDO, I. T. F. Plantas taniníferas e o controle de  
nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, v. 41, n. 11, 2011.

OLIVEIRA, L. N.; DUARTE, E. R.; NOGUEIRA, F. A.. Eficácia de resíduos da  
bananicultura sobre a inibição do desenvolvimento larval em *Haemonchus spp.*  
provenientes de ovinos. **Ciência Rural**, v. 40, n. 2, 2010.

OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W.; RAMOS, A. C.; BRITO, D. R.; SILVA, J. B. D.;  
CAJAZEIRA, J. P. Use of essential oils in agriculture. **Journal of Biotechnology and  
biodiversity**, v. 4, n. 2, p. 162-175, 2013.

PADILHA, T.; MARTINEZ, M.L.; GASBARRE, L.; VIEIRA, L.S. Genética: a nova arma no  
controle de doenças. **Balde Branco**, v. 36, n. 229, p.58, 2000.

PADUCH, R.; KANDEFER-SZERSZEŃ, M.; TRYTEK, M.; FIEDUREK, J. Terpenes:  
substances useful in human healthcare. **Archivum Immunologiae et Therapiae  
Experimentalis**, v. 55, n. 5, p. 315-327, 2007.

PAPADOPOULOS, E.; GALLIDIS, E.; PTOCHOS, S. Anthelmintic resistance in sheep in  
Europe: a selected review. **Veterinary parasitology**, v. 189, n. 1, p. 85-88, 2012.

PEREIRA, R. H. M. A.; AHID, S. M. M.; BEZERRA, A. C. D. S.; SOARES, H. S.;  
FONSECA, Z. A. A. S. Diagnóstico da resistência dos nematóides gastrintestinais a anti-  
helmínticos em rebanhos caprino e ovino do RN. **Acta Veterinária Brasileira**, v. 2, n. 1, p.  
16-19, 2008.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios  
antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; NEVEU, V.; VOS, F.; SCALBERT, A. Systematic analysis of the  
content of 502 polyphenols in 452 foods and beverages: an application of the phenol-  
explorer database. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 8, p. 4959-  
4969, 2010.

PETROVSKA B.B. Historical review of medicinal plants' usage. **Pharmacognosy Reviews**, v. 6, p. 1-5, 2012.

PRESTES, O. D.; O Estado da arte na determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal empregando técnicas cromatográficas acopladas à espectrometria de massas. **Química Nova**, Vol. 36, No. 5, 697-710, 2013.

QUEIROZ, C. R. A. A.; MORAIS, S. A. L; NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta. **Sociedade de Investigações Florestais**, v. 26, n. 4, p. 485-492, 2002.

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**, v. 32, n. 3, 2002.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. **Farmacologia**. 7ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

RANGEL, A. H. N.; LIMA JUNIOR, D. M.; BRAGA, A. P.; SIMPLÍCIO, A. A.; AGUIAR, E. M. et al. Suprimento e demanda de nutrientes em sistemas em não equilíbrio. **Revista Verde** , v.4, n.1, p.14-30. 2009.

RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, p. 603-613, 2001.

RODRIGUES, A. M.; PITACAS, F. I.; REIS, C. G.; BLASCO, M. Nutritional value of *O ficus-indica* cladodes from Portuguese ecotypes. **Bulgarian Journal of Agricultural Sciences**, v. 22, p. 40-45, 2016.

ROWE, J. B.; NOLAN, J. V.; CHANEET, G.; TELENI, E.; HOLMES, P. H. The effect of haemonchosis and blood loss into the abomasum on digestion in sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 59, n. 1, p. 125-139, 1988.

RUSSO, G. L.; RUSSO, M.; SPAGNUOLO, C. The pleiotropic flavonoid quercetin: from its metabolism to the inhibition of protein kinases in chronic lymphocytic leukemia. **Food & function**, v. 5, n. 10, p. 2393-2401, 2014.

RUSSO, M.; SPAGNUOLO, C.; TEDESCO, I.; BILOTTO, S.; RUSSO, G. L. The flavonoid quercetin in disease prevention and therapy: facts and fancies. **Biochemical pharmacology**, v. 83, n. 1, p. 6-15, 2012.

SÁ, I. M. **Resignificando a natureza: a P&D de medicamentos antimaláricos a partir da *Artemisia annua*-1960 a 2010**. Tese (Doutorado em História das Ciências e da Saúde). Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 264 p., 2013.

SAENZ, C. Cactus pear fruits and cladodes: a source of functional compounds for foods. **Acta Horticulturae**, v. 581, p. 253-263, 2002.

SANTOS, B. F. S. **Resultados econômicos e desempenho de ovelhas e cordeiros sob distintos manejos alimentares e idades a desmama, em sistema intensivo de produção de carne**. 2006. 74p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP. Botucatu – SP. 2006.

SANTOS, D.C.; FARIAS, I.; LIRA, M.A. et al. **Manejo e utilização da palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*) em Pernambuco: cultivo e utilização**. Recife: IPA, (IPA. Documentos,). 45p. 2002.

SANTOS, F. C. C.; MONTEIRO, S. G.; VOGEL, F. S. F. Extrato aquoso de alho (*Allium sativum*) sobre nematóides gastrintestinais de ovinos. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 7, n.1, p. 139-144, 2012.

SANTOS, V.T.; GONÇALVES, P.C. Verificação de estirpe de *Haemonchus* resistente ao thiabendazole no Rio Grande do Sul (Brasil). **Revista da Faculdade de Agronomia e Veterinária**. v.9, p.201-209, 1967.

SCZESNY-MORAES, E. A.; BIANCHIN, I.; SILVA, K. F. Resistência anti-helmíntica de nematóides gastrintestinais em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n.3, p.229-236, 2010.

SEMEDO, A.C. **Compostos bioativos de *Opuntia ficus indica***. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Controle da Qualidade e Toxicologia dos Alimentos, Universidade de Lisboa Faculdade de Farmácia, Lisboa, 119 p., 2012.

SEMEDO, A.C. **Compostos bioativos de *Opuntia ficus indica***. 2011. 119f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Controle da Qualidade e Toxicologia dos Alimentos, Universidade de Lisboa Faculdade de Farmácia, Lisboa, 2012.

SHEDBALKAR, U. U.; ADKI, V. S.; JADHAV, J. P.; BAPAT, V. A. *Opuntia* and other cacti: applications and biotechnological insights. **Tropical plant biology**, v. 3, n. 3, p. 136-150, 2010.

SILVA, C. F.; ATHAYDE, A. C. R.; SILVA, W. W.; RODRIGUES, O. G.; VILELA, V. L. R.; MARINHO, P. V. T. Avaliação da eficácia de taboa (*Typha domingensis Pers.*) e batata-de-purga [*Operculina hamiltonii* (G. Don) DF Austin & Staples] in natura sobre nematóides gastrintestinais de caprinos, naturalmente infectados, em clima semi-árido. **Revista Brasileira de plantas medicinais**, v. 12, n. 4, p. 466-471, 2010.

SILVA, J. B.; FONSECA, A. H. Suscetibilidade racial de ovinos a helmintos gastrintestinais. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, supl. 1, p.1935-1942, 2011.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTOS SANTANA, A.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SOUZA, E. Q. **Análise e segmentação de mercado na ovinocultura do Distrito Federal**. 2006. 112p. Dissertação (Mestrado em Agronegócios) Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Universidade Federal de Goiás, Universidade de Brasília. 2006.

SOUZA, H. D.; SENO, M. C. Z.; FERNANDES, L. H.; VALÉRIO FILHO, W. V. Efeito de dois métodos de pastejo rotacionado no controle dos parasitas gastrintestinais e no desenvolvimento ponderal de cordeiros do nascimento ao desmame. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 93-102, 2005.

SOUZA, P. N. S. **Eficácia de extratos vegetais para controle das helmintose ovina, no norte de Minas Gerais**. 2009. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2009.

SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. Farmacologia aplicada à medicina veterinária, 3ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2002.

STINTZING, F.C.; CARLE, R. Cactus stems (*Opuntia spp.*): a review on their chemistry, technology, and uses. **Molecular Nutrition Food Research**, Weinheim, v. 49, n.2, p. 175–194, 2005.

SUÁREZ, A. I.; BLANCO, Z.; COMPAGNONE, R. S.; SALAZAR-BOOKAMAN, M. M.; ZAPATA, V.; ALVARADO, C. Anti-inflammatory activity of *Croton cuneatus* aqueous extract. **Jounal Ethnopharmacoly**, v. 105, p. 99-101, 2006.

SUNADA, N. S.; ORRICO JUNIOR, M. A. P.; ORRICO, A. C. A.; OLIVEIRA, A. B. M.; CENTURION, S. R.; LIMA, S. R. N.; FERNANDES, R. M.; VARGAS JUNIOR, F. M. Controle parasitário utilizando levamizol, ivermectina e alho desidratado (*Allium sativum*) em ovelhas da raça Santa Inês. **Revista Agrarian**, v. 4, n. 12, p. 140-145, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**, 4<sup>a</sup> ed. Sinauer Associates. Sunderland, MA. 764 p., 2006.

TATRO, D. S. **Textbook of therapeutics, drug and disease management**. 6<sup>a</sup> ed. Baltimore: William and Wilkins, p.33-44, 1996.

TAYLOR, M.A.; LEARMOUNT, J.; LUNN, E., MORGAN, C.; CRAIG, B.H. Multipleresistance to anthelmintics in sheep nematodes and comparison of methods used for their detection. **Small Ruminant Research**, v. 86, p. 67–70, 2009.

TERRIL, T.H.; LARSEN, M.; SAMPLES, O.; HUSTED, S.; MILLER, J.E.; KAPLAN, R.M.; GELAYE, S. Capability of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* to reduce infective larvae of gastrointestinal nematodes in goat feces in the Southeastern United States: dose titration and dose time interval studies. **Veterinary Parasitology**, v.120, p. 285-296, 2004.

THOMAZ, S. V.; SOUZA, F. P.; SOTOMAIOR, C. Resistance of gastrointestinal nematodes of anthelmintics in sheep (*Ovis aries*). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, n. 1, p. 41-47, 2004.

THOMAZ-SOCCOL, V.; CASTRO, E. A.; LUZ, E.; DEREURE, J.; PRATLONG, F.; MEMBRIVE, N.; DEDET, J. P. *Leishmania* species in two regions of Paraná, Brazil:

biochemical characterization by isoenzyme electrophoresis. **New Horizons in Biotechnology Dordrecht**, p. 429-43, 2003.

TORRES-ACOSTA, J. F. J.; MENDOZA-DE-GIVES, P.; AGUILAR-CABALLERO, A. J.; CUÉLLAR-ORDAZ, J. A. Anthelmintic resistance in sheep farms: update of the situation in the American continent. **Veterinary Parasitology**, v. 189, n. 1, p. 89-96, 2012.

TORRES-ACOSTA, J. F. L.; HOSTE, H. Alternative or improved methods to limit gastro intestinal parasitism in grazing sheep and goats. **Small Ruminant Research**, v. 77, n. 2-3, p. 159-173, 2008.

TSOTETSI, A. M., NJIRO, S., KATSANDE, T. C., MOYO, G.,; MPOFU, J. Prevalence of gastrointestinal helminths and anthelmintic resistance on small-scale farms in Gauteng Province, South Africa. **Tropical animal health and production**, v. 45, n. 3, p. 751-761, 2013.

VAN WYK, J. A. Refugia – overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance. **Journal of Veterinary Research**, v. 68, p. 55-67, 2001.

VATTA, A. F.; LINDBERB, A.L.E. Managing anthelmintic resistance in small ruminant livestock of resource-poor farmers in South Africa. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 77, p. 2-8, 2006.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura. **Química nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VERÍSSIMO, C. J.; NICIURA, S. C. M.; ALBERTI, A. L. L.; RODRIGUES, C. F. C.; BARBOSA, C. M. P.; CHIEBAO, D. P.; CARDOSO, D.; SILVA, G. S.; PEREIRA, J. R.; MARGATHO, L. F.; COSTA, R. L.; NARDON, R. F.; UENO, T. E. H.; CURCI, V. C. L. MOLENTO, M. B. Multidrug and multispecies resistance in sheep flocks from São Paulo state, Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 187, n. 1, p. 209-216, 2012.

VERÍSSIMO, C.J.; NARDON, R. F.; GÊNNOVA, L. G.; LOURENÇO, A.T. A.; RODRIGUES, M.M.C., NICIURA, S.C. M.; MOLENTO, M.B. Anthelmintic resistance in sheep at

Paranapanema region, São Paulo State. In: **47ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Salvador, Brazil, p. 27–30, 2010.

VIANA, J. G. A. Panorama Geral da Ovinocultura no Mundo e no Brasil. **Revista Ovinos**, Ano 4, nº 12, Porto Alegre, 2008.

VIANA, J. G. A.; SILVEIRA, V. C. P. Análise econômica da ovinocultura: estudo de caso na metade sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 39, p. 1176-1181, 2009.

VIEIRA, L. S. Métodos alternativos de controle de nematódeos gastrintestinais em caprinos e ovinos. **Tecnologia e Ciências agropecuárias**, v. 2, n. 2, p. 49-56, 2008.

VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R, XIMENES, L. J. F. Epidemiologia e controle das principais parasitoses de caprinos nas regiões semiáridas do Nordeste. **Embrapa CNPC**, v. 4, p. 50, 2002.

VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R. Resistência anti-helmíntica em rebanhos caprinos no Estado do Ceará. **Pesquisa veterinária brasileira**, v. 19, n. 3/4, p. 99-103, 2014.

VILELA, L.; JUNIOR, M.; BUENO, G.; MACEDO, M. C. M.; MARCHÃO, R. L.; GUIMARÃES JÚNIOR, R.; PULRONNIK, K.; MACIEL, G. A. Integrated crop-livestock systems in the Cerrado region. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n.10, p. 1127-1138, 2011.

VLASSOFF, A.; LEATHWICK, D.M.; HEATH, A. C. G. The epidemiology of nematode infections of sheep. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 49, n. 6, p. 213-221, 2001.

WANDERLEY, W. L. et al. Consumo, digestibilidade e parâmetros ruminais em ovinos recebendo silagens e fenos em associação à Palma forrageira. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 13, n. 2, p. 444- 456, 2012.

WEATHERS, P. J.; TOWLER, M.; HASSANALI, A.; LUTGEN, P.; ENGEU, P. O. Dried-leaf *Artemisia annua*: A practical malaria therapeutic for developing countries?. **World journal of pharmacology**, v. 3, n. 4, p. 39, 2014.

WHO - World Health Organization. Status report on artemisinin resistance, 2014. Disponível em <[http://www.who.int/malaria/publications/atoz/status\\_rep\\_artemisinin\\_resistance\\_jan2014.pdf](http://www.who.int/malaria/publications/atoz/status_rep_artemisinin_resistance_jan2014.pdf)>. Acesso em 29 de abril de 2017.

WOLSTENHOLME, A. J.; FAIRWEATHER, I.; PRICHARD, R.; SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. V.; SANGSTER, N. C. Drug resistance in veterinary helminths. **Trends in Parasitology**, v. 20, n. 10, p. 469-476. 2004.

WRIGLEY, J., MCARTHUR, M., MCKENNA, P.B., MARIADASS, B. Resistance to a triple combination of broad-spectrum anthelmintics in naturally acquired *Ostertagia circumcincta* infections in sheep. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 54, p. 47-49, 2006.

ZARLENGA, D.S.; HOBERG, E. P.; TUO, W. The identification of *Haemonchus* species and diagnosis of haemonchosis. **Haemonchus contortus and Haemonchosis Past, Present and Future Trends**, v. 93, p. 145 -180, 2016.