



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO

LÍVIA VANESSA PACHECO DA CUNHA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE OVICIDA E LARVICIDA *in vitro* DO EXTRATO
AQUOSO DA FOLHA DE *Spondias mombin* L. SOBRE PARASITOS
GASTRINTESTINAIS EM OVINOS**

MOSSORÓ/RN

2023

LÍVIA VANESSA PACHECO DA CUNHA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE OVICIDA E LARVICIDA *in vitro* DO EXTRATO
AQUOSO DA FOLHA DE *Spondias mombin* L. SOBRE PARASITOS
GASTRINTESTINAIS EM OVINOS**

Monografia apresentada à Banca Examinadora, como trabalho final da componente curricular Estágio Supervisionado Obrigatório III do Curso de graduação em Biotecnologia, da Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Orientador(a): Prof(a). Dra. Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra.

MOSSORÓ/RN

2023

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

CC972 Cunha, Livia Vanessa Pacheco da .
a Avaliação da atividade ovicida e larvicida in vitro do extrato aquoso da folha de Spondias mombin L. sobre parasitos gastrintestinais em ovinos / Livia Vanessa Pacheco da Cunha. – 2023.
51 f. : il.

Orientadora: Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra.
Monografia (graduação) – Universidade Federal Rural do Semi-árido, Curso de Biotecnologia, 2023.

1. Endoparasito. 2. Fitoterapia. 3. Pequenos Ruminantes. 4. Resistência. I. Bezerra, Ana Carla Diógenes Suassuna, orient. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

LÍVIA VANESSA PACHECO DA CUNHA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE OVICIDA E LARVICIDA *in vitro* DO EXTRATO
AQUOSO DA FOLHA DE *Spondias mombin* L. SOBRE PARASITOS
GASTRINTESTINAIS EM OVINOS**

Monografia apresentada a
Universidade Federal Rural do Semi-
Árido como requisito para a obtenção
do título de Bacharelado em
Biotecnologia.

Defendida em: 11/ 05 /2023.

BANCA EXAMINADORA

ANA CARLA DIOGENES SUASSUNA BEZERRA: Assinado de forma digital por ANA
CARLA DIOGENES SUASSUNA
BEZERRA:
Dados: 2023.05.26 06:46:03 -03'00'

Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra,
Profª. Dra. (UFERSA)

Presidente

Ana Karolinne de Alencar França: Assinado de forma digital por Ana
Karolinne de Alencar França
Dados: 2023.05.26 11:33:37 -03'00'

(Profª. Mestre Ana Karolinne de Alencar França)
Examinadora

Yandra Thais Rocha da Mota: Assinado digitalmente por Yandra Thais Rocha
da Mota
DN: CN=Yandra Thais Rocha da Mota
Razão: Eu sou o autor deste documento
Localização: sua localização de assinatura aqui
Data: 2023.05.26 11:56:21-03'00'
Foxit PDF Reader Versão: 11.0.0

(Profª. Mestre Yandra Thais Rocha da Mota)
Examinadora

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

Especialmente aos meus pais, Jucelia Pacheco da Cunha e José Laercio da Cunha, por acreditarem em mim e me apoiarem em toda minha jornada. Amo vocês.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), pelo título, aprendizado e oportunidade de acesso ao ensino público de qualidade que permitiram meu desenvolvimento acadêmico.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por proporcionar o programa de iniciação científica, PIBIC, em apoio a pesquisa científica.

À minha orientadora, Profa. Dra. Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra, por me acolher em seu laboratório, por todos os ensinamentos e por acreditar em minhas capacidades.

Aos membros da banca, Profa. Mestre Ana Karolinne de Alencar França e Profa. Mestre Yandra Thais Rocha da Mota, por toda a ajuda e considerações voltadas para a presente dissertação.

Aos colegas de laboratório, em especial a João Inácio e Ismael Vinícius por me auxiliar em diversos experimentos, bem como se dispor a sanar todas as minhas dúvidas.

À minha família, em especial Mateus e Sayonara, obrigada por me entenderem e ficarem comigo nos bons e maus momentos.

Aos meus queridos amigos, por todo o companheirismo e incentivo frutos dessa amizade. Em especial, agradeço a Ariel e Eliabe, que estiveram comigo durante toda a graduação e sempre me incentivaram. À Sebastião (Tião), por ser não só um amigo como um colega de apartamento incrível.

Aos colegas da graduação, Carol e Thiago, por todos os bons momentos vividos.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para que eu pudesse realizar este trabalho.

Meus sinceros agradecimentos a todos!

*“Educação não transforma o mundo.
Educação muda as pessoas. Pessoas
transformam o mundo”.*
(Paulo Freire)

RESUMO

As espécies ovinas representam uma atividade significativa no cenário socioeconômico atual, principalmente na região Nordeste do Brasil, onde se concentra a maior parte desses animais. No entanto, a manipulação inadequada de drogas antiparasitárias destinadas a pequenos ruminantes é um fator que coopera diretamente com o aumento da resistência do parasito aos medicamentos. Assim, a fitoterapia passou a ser uma alternativa para o controle dos endoparasitos devido a presença de compostos metabólitos com atividade biológica. Nesse sentido, o objetivo do trabalho foi avaliar atividade ovicida e larvicida *in vitro* do extrato aquoso das folhas de *Spondias mombin* L. sobre parasitos gastrointestinais de ovinos. Para tal, foi realizada análise fitoquímica para a determinação dos compostos metabólicos, análise da toxicidade aguda utilizando *Artemia salina*, o Teste de Eclosão de Ovos (TEO) e o Teste de Inibição do Desenvolvimento de Larvas. Os resultados obtidos na fitoquímicas identificaram fenóis, flavonoides, saponinas, taninos hidrolisados e condensados, alcaloides, cumarinas e triterpenos. O extrato foi considerado atóxico (CL50 = 0,33%) após o teste com *A. salina*. Através do TEO, a eficácia observada foi de 84,8 % na concentração mais alta (10%) e diminuiu conforme a redução das concentrações, de modo que para a concentração de 2,50% e de 5,00 % foram de 55,8% e 1,25% teve uma eficácia de 27,2 %. Verificou-se também que o extrato não apresentou diferença estatística significativa quanto a inibição larval, uma vez que $p = 0,989$ que por sua vez é > 0.05 , indicando que os grupos possuem mediana semelhante. Por conseguinte, conclui-se que existe uma capacidade efetiva do extrato aquoso das folhas de *S. mombin* contra ovos e larvas de endoparasitos gastrointestinais de ovinos.

Palavras-chave: Endoparasito, Fitoterapia, Pequenos Ruminantes, Resistência.

ABSTRACT

Sheep species represent a significant activity in the current socioeconomic scenario, especially in the Northeast region of Brazil, where most of these animals are concentrated. However, the improper handling of antiparasitic drugs intended for small ruminants is a factor that cooperates directly with the increase of the parasite's resistance to drugs. Accordingly, phytotherapy became an alternative for the control of endoparasites due to the presence of metabolites with biological activity. Therefore, the objective of this study was to evaluate in vitro ovicidal and larvicidal activity of the aqueous extract of the leaves of *Spondias mombin* L. on gastrointestinal parasites of sheep. Phytochemical analysis was performed for the determination of metabolic compounds, acute toxicity analysis using *Artemia salina*, the Egg Hatching Test (TEO) and the Larval Development Inhibition Test. The phytochemical results identified phenols, flavonoids, saponins, hydrolyzed and condensed tannins, alkaloids, coumarins and triterpenes. The extract was considered nontoxic ($LC_{50} = 0.33\%$) after the test with *A. salina*. Through the TEO, the observed efficacy was 84.8% at the highest concentration (10%) and decreased with the reduction of concentrations, so that for the concentration of 2.50% and 5.00% were 55.8% and 1.25% had an efficacy of 27.2%. It was also verified that the extract did not present statistically significant difference regarding larval inhibition, since $p = 0.989$ which in turn is > 0.05 , indicating that the groups have a similar median. So, it is concluded that there is an effective capacity of the aqueous extract of the leaves of *S. mombin* against eggs and larvae of gastrointestinal endoparasites of sheep.

Keywords: Endoparasite, Phytotherapy, Small Ruminants, Resistance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	<i>Strongyloides papillosus</i> : A- Ovos larvados; B- Larva com esôfago rabditoide.	19
Figura 2	Morfologia de <i>Haemonchus contortus</i> . A- extremidade anterior mostrando papilas cervicais; B- extremidade posterior da fêmea mostrando o ânus e a cauda.	20
Figura 3	Larvas infectantes (L3) de <i>Trichostrongylus</i> spp. (a) Cabeça em formato cônico; (b) Sem formação de filamentos e bainha caudal curta e pontiaguda.	21
Figura 4	A- <i>Eimeria crandalis</i> ; B – <i>Eimeria ovinoidealis</i> identificadas em cordeiros naturalmente infectados.	22
Figura 5	Morfologia de <i>Oesophagostomum</i> (L3). Em (A) é possível observar sua cauda fina, alongada e pontiaguda; (B) espaço da cauda e bainha; (C) espaço cefálico; (D) células intestinais alternadas e em formato triangular.	24
Figura 6	Demonstração da árvore <i>Spondias mombin</i> L. (Anacardiaceae) com visualização da sua altura que pode atingir 25m e seus frutos.	27
Figura 7	Coleta do material vegetal. Em (A) folhas da espécie <i>Spondias mombin</i> L. ainda na árvore de origem; em (B) material vegetal após processo de seleção	30
Figura 8	Obtenção do extrato aquoso. Em (A) agitação magnética; em (B) e (C) material direcionado a centrifugação; em (D) filtração utilizando malhas finas.	31
Figura 9	Coprocultura com amostras coletadas em rebanhos ovinos com demonstração do início do cultivo e finalização com coleta das larvas	34

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Resultado do teste de Kruskal-Wallis após realização do Teste de Eclosão de Ovos	40
Gráfico 2	Média da contagem de larvas vivas retiradas da coprocultura de amostras fecais de ovinos por concentração	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Classes de metabólicos identificados após diferentes análises fitoquímicas do extrato aquoso de <i>Spondias mombin</i> L.	35
Tabela 2	Porcentagem da inibição da eclosão de ovos após o TEO de diferentes concentrações do extrato aquoso de <i>Spondias mombin</i> L.	39
Tabela 3	Comparação da quantidade de larvas vivas por concentração.	42

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	14
2.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	16
2.1	IMPORTÂNCIA DA PECUÁRIA NO BRASIL.....	16
2.2	CAPRINOVINOCULTURA NO BRASIL.....	16
2.3	PARASITOS GASTRINTESTINAIS EM OVINOS.....	18
2.3.1	<i>Strongyloides</i> spp.....	19
2.3.2	<i>Haemonchus</i> spp.....	20
2.3.3	<i>Trichostrongylus</i> spp.....	21
2.3.4	<i>Eimeria</i> spp.....	22
2.3.5	<i>Oesophagostomum</i> spp.....	23
2.4	RESISTÊNCIA AOS ANTIPARASITÁRIOS	24
2.5	PLANTAS MEDICINAIS COM AÇÃO ANTI-HELMINTICA.....	25
2.5.1	<i>Spondias mombin</i> L.....	27
5.	OBJETIVOS.....	29
5.1	OBJETIVO GERAL.....	29
5.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
6.	METODOLOGIA.....	30
6.1	ÁREA DE ESTUDO.....	30
6.2	OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO.....	30
6.2.1	Coleta do material vegetal.....	30
6.2.2	Obtenção do Extrato Aquoso.....	30
6.3	ANÁLISE FITOQUÍMICA.....	31
6.4	TESTE DE TOXICIDADE AGUDA <i>IN VITRO</i>	32
6.5	NÚMERO DE OVOS POR GRAMA DE FEZES (OPG).....	32
6.6	TESTE DE ECLOSÃO DE OVOS (TEO).....	32
6.7	TESTE DE INIBIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DAS LARVAS.....	33
6.8	ANÁLISE DE DADOS.....	34
6.8.1	Teste De Toxicidade Aguda <i>In Vitro</i>	34
6.8.2	Teste de Eclosão de Ovos (TEO).....	34

6.8.3	Teste de Inibição do Desenvolvimento das Larvas.....	35
7.	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	35
7.1	ANÁLISE FITOQUÍMICA.....	35
7.2	TESTE DE TOXICIDADE AGUDA <i>IN VITRO</i>	35
7.3	ATIVIDADE OVICIDA.....	39
7.4	ATIVIDADE LARVICIDA.....	41
8.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	44
	REFERÊNCIAS.....	45

1. INTRODUÇÃO

As espécies de ovinos foram incorporadas à realidade brasileira desde 1556 (NAEEM; IQBAL; ROOHI, 2021) e representam uma atividade significativa no cenário socioeconômico atual, com destaque para a região Nordeste onde concentra a maior parte desses animais, sendo o equivalente a 9 milhões em 2017 (MENESES *et al.*, 2021), constituindo uma fonte básica de proteína e renda para a população rural de subsistência (PIRES FILHO *et al.*, 2020).

No entanto, o surgimento de parasitos gastrointestinais em pequenos ruminantes, se destaca como sendo a principal patologia que acomete esses animais (KOVAĽČUKA *et al.*, 2022; FREITAS *et al.*, 2023). Os prejuízos causados por nematoides gastrointestinais podem chegar a reduzir 40 % no desempenho animal, especialmente em animais jovens e matrizes em período reprodutivo (ROBERTO *et al.*, 2018).

A presença dos parasitos tem como consequência uma utilização inadequada de anti-helmínticos, associado a práticas inapropriadas de manejo que contribuem diretamente para o surgimento de cepas resistentes (NAEEM *et al.*, 2021; FREITAS *et al.*, 2023). A coevolução dos parasitos e seus hospedeiros permitem seu desenvolvimento mesmo quando expostos às doses recomendadas da droga. Entretanto, o aumento da frequência e dosagem do tratamento provoca a resistência aos antiparasitários colaborando com o crescimento da taxa de mortalidade animal (PEREIRA *et al.*, 2021).

Além do aumento da resistência aos anti-helmínticos sintéticos, os resíduos desses medicamentos foram encontrados em carnes e laticínios o que pode representar um sério desafio a saúde dos consumidores (OGEDENGBE *et al.*, 2021). Consequentemente, esses fatores culminam na ampliação do custo do tratamento aumentando significativamente o risco de perdas econômicas e do desencadeamento de problemas de saúde pública devido ao desrespeito do período residual e maior número de embalagens com descarte inadequado (ZAJAC; GARZA, 2020).

Em termos numéricos, os valores ligados a problemas com helmintoses gastrintestinais em pequenos ruminantes ultrapassa a marca de milhões de reais, sendo esse um indicativo de que esses parasitos são obstáculo para a pecuária (AMARAL NETO *et al.*, 2021). Na região sul, por exemplo, as perdas econômicas devido as taxas de mortalidade em ovinos relacionadas à presença de parasitos são em média R\$ 2.016.000/ano (OLIVEIRA *et al.*, 2017). Em outros locais, como na Austrália, o custo anual estimado de doenças parasitárias gastrointestinais em ovinos é de 436 milhões, e na Europa a indústria de ruminantes pode chegar a mais de mais de € 1,8 bilhão (RANASINGHE *et al.*, 2023).

Uma alternativa provável para esses fatores é a utilização da fitoterapia no controle das endoparasitoses através do uso de extratos vegetais ou óleos essenciais de diferentes composições (FERREIRA *et al.*, 2019). Algumas plantas como *Anacardium occidentale*, *Croton glandulosum*, *Annora muricata*, *Medicago sativa* e *Ruta graveolens* já são usadas para controlar helmintos de ovinos (MENESES *et al.*, 2021; KANDIL *et al.*, 2023).

Dentre as planta presente no Brasil com aplicações médicas conhecidas salienta-se *Spondias mombin* L., popularmente conhecida como cajazeira (CRISTOFOLI *et al.*, 2019). Atribui-se a essa planta bioatividades como antibacteriana, antioxidante, antiviral e anti-inflamatória, através de biomoléculas isoladas de suas folhas (MARIA *et al.*, 2022). No entanto, com poucos trabalhos voltados para a endoparasitos. Nesse contexto, o estudo teve por objetivo avaliar atividade *in vitro* ovicida e larvicida do extrato aquoso das folhas de *Spondias mombin* L., visando a geração de um produto útil para o controle alternativo de endoparasitos gastrintestinais de ovinos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 IMPORTÂNCIA DA PECUÁRIA NO BRASIL

O agronegócio brasileiro é de grande destaque na economia do país, uma vez que, o Brasil é mundialmente conhecido pela exportação de diversos produtos desse meio (MONTEIRO; BRISOLA; VIEIRA FILHO, 2021). O produto interno bruto (PIB) proveniente do agronegócio é responsável por pelo menos 50% das exportações, além de gerar empregos e contribuir diretamente com a riqueza do país (SILVA; FERNANDES; MENEZES, 2021).

Segundo o censo agropecuário do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2023) o rebanho de ovinos é o quarto maior do país, composto por uma média de 20 milhões de cabeças, ficando posterior aos galináceos, bovinos e suínos.

O maior destaque no mercado consumidor, são os bovinos, cuja exportação da carne equivale a 3% das exportações brasileiras e 30% do PIB do agronegócio, sendo esse valor equivalente a 400 bilhões de reais (GOMES *et al.*, 2017). Esse negócio abrange tanto modelos empresariais como pequenos agricultores, especialmente na região Nordeste (PIRES FILHO *et al.*, 2020).

Desse modo, o futuro do agronegócio brasileiro é bastante promissor, considerando o tamanho do território, água disponível e a perspectiva de negócios nacionais e internacionais, além de ser suma relevância na economia do médio e pequeno produtor rural (CARVALHO; ZEN, 2017).

2.2 OVINOCULTURA NO BRASIL

Ainda que o agronegócio se destaque como um dos setores de importância para o Brasil, as culturas de ovinos passaram por dificuldades ao longo de sua história, principalmente relacionadas aos pequenos produtores rurais em alcançar desempenho econômico satisfatório com a atividade (MONTEIRO; BRISOLA; VIEIRA FILHO, 2021). A agropecuária familiar tem como ponto principal a comercialização individual de caprinos e ovinos e criação para o consumo próprio (MATTE; WAQUIL, 2021). Ainda assim, no decorrer dos anos esse setor passou por diversas transformações, o que resultou no constante crescimento dos rebanhos de ovinos, o qual aumentou cerca de 7,09% entre 2015 e 2019 (MAGALHÃES *et al.*, 2020). Essa evolução dos rebanhos se dá desde 2002, contudo, em 2012 ocorreu uma redução do número

de animais atribuído ao período de seca na região Nordeste naquele ano (MONTEIRO; BRISOLA; VIEIRA FILHO, 2021).

Ainda assim, é interessante notar, que, desde então, tantos os ovinos quanto os caprinos apresentaram aumentos consideráveis em seus rebanhos (MONTEIRO; BRISOLA; VIEIRA FILHO, 2021). Segundo a Pesquisa da Pecuária Municipal (PPM) realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em 2019, o rebanho brasileiro de ovinos possui cerca de 19,7 milhões de cabeças, com destaque para o Nordeste que comporta 68,54% do rebanho nacional (MAGALHÃES *et al.*, 2020). Esse fator está ligado à fácil adaptabilidade dessas espécies ao bioma caatinga presente no semiárido nordestino (MONTEIRO; BRISOLA; VIEIRA FILHO, 2021). No tangente aos estados brasileiros com maior número de ovinos em 2018, a Bahia se destaca com 4,2 milhões de cabeças, seguida pelo Rio Grande do Sul, com cerca de 2 milhões e Pernambuco com 2,4 milhões (MONTEIRO; BRISOLA; VIEIRA FILHO, 2021).

Os dados indicam um crescimento exponencial da caprinovinocultura no Brasil, concomitantemente à necessidade de uma produtividade melhor e maior na produção, visto que esses animais podem gerar produtos de importância econômica como lã, leite, carne e pele (MONTEIRO; BRISOLA; VIEIRA FILHO, 2021). Em razão disso, os produtores buscam um melhoramento na eficiência de seus rebanhos, sendo imprescindível cuidar do bem-estar animal e acompanhar o processo produtivo (LIMA; BARBOSA FILHO, 2013). No entanto, uma parte considerável das perdas nos rebanhos são por descuidos sanitários, que causam doenças e outros problemas relacionados ao manejo de animais, como as doenças parasitárias (MONTEIRO; BRISOLA; VIEIRA FILHO, 2021). Não obstante, as características climáticas tropicais presentes na região Nordeste, apresentam umidade e temperatura favoráveis à infecção por parasitas (AMARAL NETO *et al.*, 2021).

As infecções parasitárias envolvem perdas como a diminuição da produção de leite, redução da qualidade dos produtos como carne e lã, perda de peso, aumento da morbidade e até mesmo a morte (FERRAZ *et al.*, 2019). Em ovinos, especificamente, o problema mais iminente é a parasitose gastrointestinal e a forma de tratamento mais empregada é através do uso de medicamentos anti-helmínticos (OSÓRIO *et al.*, 2020; FREITAS *et al.*, 2023).

Mphahlele e colaboradores (2019) apontaram a experiência agrícola limitada como um dos principais fatores de riscos dos criadores, visto que esse fato dificulta a identificação dos sintomas da infecção, forma de transmissão e aplicação correta de anti-helmínticos.

Assim, pode-se pontuar o uso indiscriminado desses medicamentos, que inclui a alta frequência de tratamento por intervalo de tempo, a dosagem, bem como a falta de conhecimento

e capacitação por parte do produtor, concomitante à relativa facilidade de acesso como principais causas da consequente resistência parasitária. Associado a influência de fatores internos que dizem respeito ao ciclo de vida dos parasitos, velocidade de reprodução e alta patogenicidade (DEGLA *et al.*, 2022).

2.3 PARASITOS GASTRINTESTINAIS EM OVINOS

As perdas causadas por parasitismo gastrointestinal são uma das principais limitações no que tange o crescimento dos rebanhos ovinos, devido à alta mortalidade, o custo elevado dos antiparasitários e a ocorrência de cepas de parasitas resistentes aos medicamentos anti-helmínticos normalmente utilizados no tratamento dessas doenças (PEREIRA *et al.*, 2021).

Os nematoides da ordem Strongylida destacam-se como os principais acometedores desses rebanhos e o gênero mais difundido é o *Haemonchus* (LIMA *et al.*, 2022; PEREIRA *et al.*, 2021). Almeida & Santos (2018) destacam *Trichostrongylus axei* e *Haemonchus contortus* como principais parasitos de pequenos ruminantes que acometem o abomaso; *Strongyloides papillosus* e *Trichostrongylus colubriformis* estão entre aqueles que atingem o intestino delgado; e *Oesophagostomum colubianum* no intestino grosso. Na região Nordeste, *H. contortus*, *S. papillousus*, *T. colubriformis* e *O. colubianum*, são as principais espécies que se destacam em termos de prevalência e intensidade de infecção (ROBERTO *et al.*, 2018). Outrossim, protozoários coccídios do gênero *Eimeria* acometem com frequência ovinos mais jovens, apesar de estarem presentes independentemente da idade (BIOLCHI; PEDRASSANI, 2019).

Essas infecções ocorrem principalmente de forma mista, na quais duas ou mais espécies de nematoides estão presentes no mesmo hospedeiro (LIMA *et al.*, 2022). Não obstante, as infecções são favorecidas pelo clima quente e chuvoso, sendo disseminadas pelo contato de fezes infectadas com os ovos dos vermes adultos nas pastagens (LIMA *et al.*, 2022). Além disso, outros fatores como raça, frequência de tratamentos e manejo influenciam diretamente na ocorrência do parasitismo (BIOLCHI; PEDRASSANI, 2019).

Os animais acometidos podem apresentar infecções subclínicas, as quais não apresentam sintomas. No entanto, os sinais clínicos podem incluir anemia, diarreia, perda de peso e levar os animais à morte sem o devido tratamento (BENAVIDES; SOUZA, 2020).

Com relação à detecção e análise, destaca-se o teste do OPG (Ovos por Grama de Fezes), que determina a quantidade de ovos contida em amostras fecais e após a análise em câmara de McMaster e ser realizado antes e após o tratamento (NASCIMENTO *et al.*, 2021).

2.3.1 *Strongyloides* spp.

A estrongiloidíase ovina é uma doença parasitária altamente difundida no mundo, que foi registrada em países como o Brasil, Sudão, Egito, Polônia, entre outros (SOROKOVA *et al.*, 2021). Os principais diagnósticos são da espécie *Strongyloides papillosus* (Figura 1) que causam atraso no crescimento e desenvolvimento, anemia, ataxia, diarreia, prostração e abdômen retraído (AMARAL NETO *et al.*, 2021). Esses parasitos ocorrem em regiões úmidas e quentes, caracterizadas pelo clima subtropical e tropical (NEVES *et al.*, 2016).

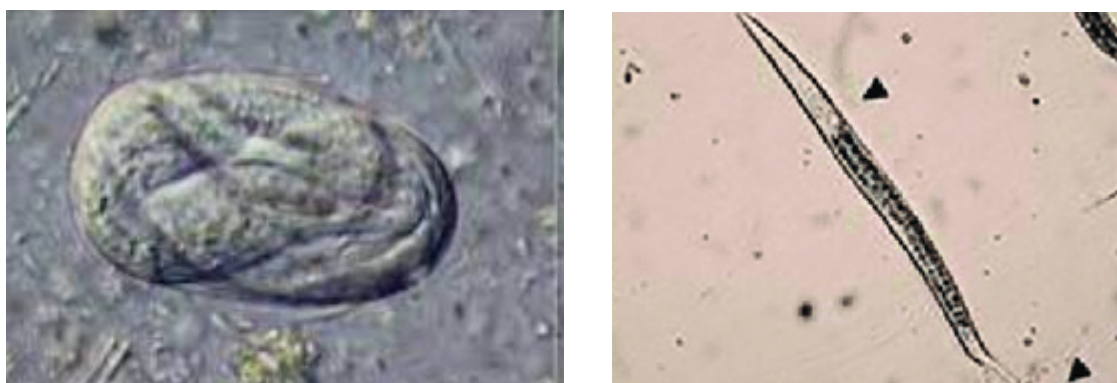


Figura 1 – *Strongyloides papillosus*: A- Ovos larvados; B- Larva com esôfago rabditoide.
(Fonte:

http://www.wormbook.org/chapters/www_genomesStrongyloides.2/strongyloides.2.html;
https://www.researchgate.net/figure/Rhabditiform-larvae-of-S-papillosus-a-L-1-from-C-hircus-arrowheads-indicate-the_fig1_335703466)

Seu ciclo de vida tem dois tipos de desenvolvimento chamados de homogônico (direto) e heterogônico (indireto) (NEVES *et al.*, 2016). As L1 podem evoluir tanto para formas infectantes (ciclo homogônico), quanto para formas de vida livre capazes de produzir larvas infectantes (ciclo heterogônico). Inicialmente, fêmeas partenogênicas ovipõe na mucosa do intestino delgado, que por sua vez são eliminados nas fezes do hospedeiro larvados, com surgimento da larva em L1 (larva rabditoide) em 6 horas (BOWMAN, 2010).

No ciclo homogônico as larvas L2 mudam para larvas filarióide infectantes (L3) e após a fertilização as fêmeas ovipõe não embrionados, com posterior L1 eclodem, mudam para L2 (rabdtóide), L3 infectante (filarioide) que não originam formas de vida livre (MAIA; MATTOS, 2020). Ambos os ciclos podem ocorrer simultaneamente quando expostos a condições climáticas favoráveis (BOYKO *et al.*, 2019).

As formas de infecção incluem, além da penetração ativa de L3, ingestão de alimentos contaminados, contaminação pré-natal ou ainda através do colostro (MAIA; MATTOS, 2020).

O tratamento contra estrongiloidíase envolve o uso de ivermectina, albendazol ou análogos (MEDEIROS *et al.*, 2022). No entanto, essas drogas apresentam vários efeitos colaterais como vômito, náusea, diarreia, hipotensão, tontura, sonolência e desorientação e demonstraram eficácia irregular, tornando a busca por novas alternativas terapêuticas ainda mais pertinente (MEDEIROS *et al.*, 2022).

2.3.2 *Haemonchus* spp.

Os parasitos do gênero *Haemonchus* spp. são helmintos de hábitos hematófagos que causam uma infecção gastrointestinal conhecida como hemoncose, sendo as espécies mais dominantes as chamadas *Haemonchus placei*, *Haemonchus similis* e *Haemonchus contortus* que parasitam o abomaso de pequenos ruminantes (ARSENOPOULOS *et al.*, 2021). Morfologicamente, *Haemonchus* apresenta cauda fina, reta e pontiaguda e apresenta-se como uma larva bem comum nos ruminantes mundialmente (Figura 2) (NATH *et al.*, 2021).

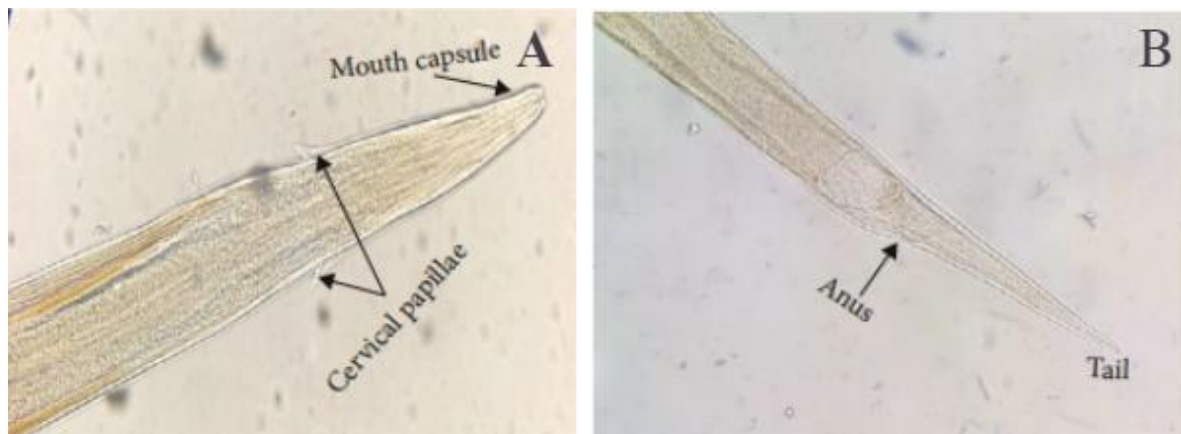


Figura 2 Morfologia de *Haemonchus contortus*. A- extremidade anterior mostrando papilas cervicais; B- extremidade posterior da fêmea mostrando o ânus e a cauda. (Fonte: Nath *et al.*, 2021).

Haemonchus está presente predominantemente em áreas temperadas e tropicais, sendo os animais mais jovens aos mais vulneráveis (OSÓRIO *et al.*, 2020; FREITAS *et al.*, 2023). Seu desenvolvimento e infecção são favorecidos por condições de clima úmido e quente, sendo transmitido através do pasto pela ingestão de larvas de terceiro estágio (NEVES *et al.*, 2016). Uma vez infectado, os principais sintomas que podem ser percebidos consistem na perda de peso, anemia e até mesmo morte (AMARAL NETO *et al.*, 2021).

Seu ciclo de vida é direto e dura, em média, de 20 dias e chegando à fêmea a colocar até 10.000 ovos diariamente, sendo essas características que contribuem para sua resistência aos anti-helmínticos sintéticos tipicamente utilizados no controle desse tipo de parasitose (DEGLA *et al.*, 2022). Consiste em duas fases, sendo uma de vida livre e uma dentro do abomaso com os ovos expelidos por ruminantes parasitados através de suas fezes, onde se inicia a fase ambiental, de onde saem larvas de primeiro estágio (L1), que passam para larvas de segundo estágio (L2) e posteriormente, de terceiro estágio (L3), sendo o último sua forma infectante (NEVES *et al.*, 2016). Após a ingestão, elas migram para fora do bolo fecal ao capim, até serem ingeridas e chegarem ao abomaso, para que se tornem parasitas nematoides adultos e realizem atividade hematófaga (MENDES *et al.*, 2020).

Dentre os parasitos nematoides capazes de infectar pequenos ruminantes estão entre os mais patogênicos em razão dos seus hábitos hematófagos (DEGLA *et al.*, 2022). Tornando-se estudados devido ao seu potencial danoso para a economia global, uma vez que se estima que cause perda de US\$ 30 a 300 milhões para a pecuária em âmbito global, especialmente em suas zonas endêmicas (RANASINGHE *et al.*, 2023).

2.3.3 *Trichostrongylus* spp.

Trichostrongylus (Figura 3) são parasitos de ruminantes mundialmente distribuídos, que foram relatados em humanos e que vivem em comunidades rurais com poucos cuidados sanitários e que criam animais herbívoros (KEYHAN *et al.*, 2020).

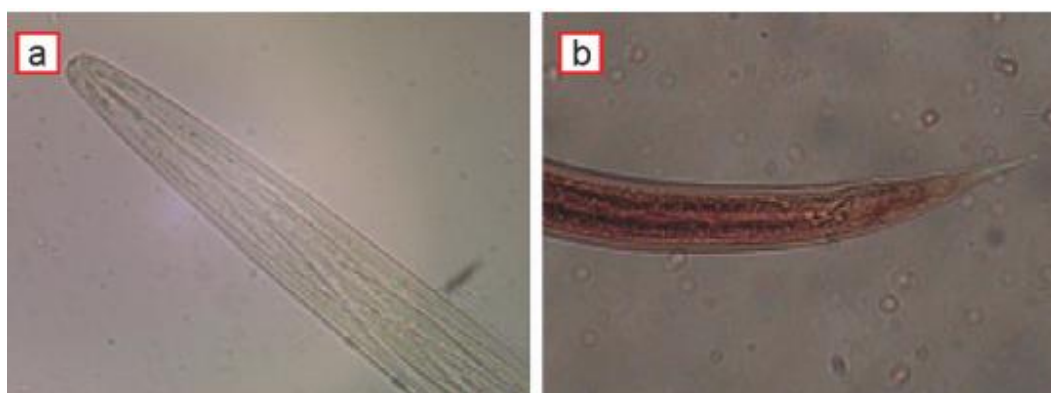


Figura 3 - Larvas infectantes (L3) de *Trichostrongylus* spp. (a) Cabeça em formato cônico; (b) Sem formação de filamentos e bainha caudal curta e pontiaguda. (Fonte: Allaie *et al.*, 2021).

Os ovos são embrionados, tornando-os resistentes às variações climáticas, e suas larvas em ambientes adversos entram em hipobiose causando problemas clínicos especialmente durante o inverno e primavera (NASCIMENTO *et al.*, 2021)

O ciclo de vida é de forma direta com ovos eliminados através das fezes do hospedeiro, em condições ambientais favoráveis as larvas (L1) eclodem e se desenvolve originando larvas L2, que por sua vez, se tornará uma larva infectante (L3) (NEVES *et al.*, 2016). A L3 possui dupla cutícula, no entanto, após ser ingerida pelo ruminante através do pasto, esta passa para o estágio L4, perdendo a cutícula. L4 segue para o abomaso (*T. axei*) ou para o intestino (*T. colubriformis*) onde chega a sua fase final (L5) (MAIA; MATTOS, 2020).

No intestino delgado, os parasitos dão problemas no epitélio intestinal com atrofia de vilosidades e microvilosidades da mucosa, além de hipertrofia das criptas intestinais, engrossamento da mucosa e formação de infiltrados inflamatórios leucocitários, para que se alimentem do conteúdo de células epiteliais necróticas, fluido tecidual e quimo presentes no lúmen do intestino delgado (DIAS-SILVA; LOUVANDINI; AMARANTE, 2021). Assim, a infecção causa problemas na digestão do alimento e absorção dos nutrientes, tendo como consequência problemas no crescimento e mineralização óssea, o que prejudica o desenvolvimento do animal (SILVA *et al.*, 2019).

2.3.4 *Eimeria* spp.

Eimeria spp. é o protozoário causador da coccidiose, doença entérica que atinge mundialmente ruminantes e aves domésticas, é altamente incidente e causa mortalidade significativa (RANASINGHE *et al.*, 2023). *Eimeria crandallis* e *Eimeria ovinoidalis* (Figura 4) são as mais nocivas para ovinos.

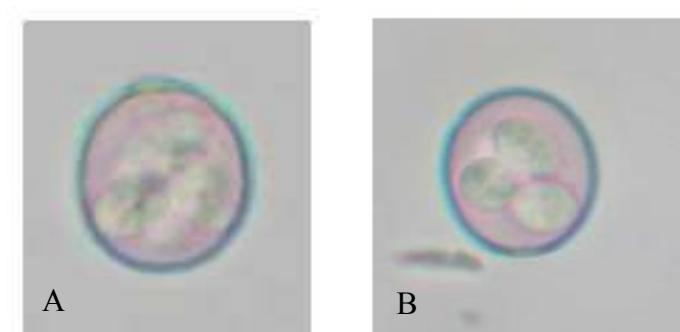


Figura 4 – A- *Eimeria crandallis*; B – *Eimeria ovinoidalis* identificadas em cordeiros naturalmente infectados (Fonte: SILVA *et al.*, 2007. Disponível em <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/kGHVQ5hK8q7CRwWDyJ5Yq4K/?format=pdf&lang=pt>)

Apesar de assintomáticas, podem ocasionar desidratação e diarreia, crescimento atrofiado, perda excessiva de peso e morte, sendo animais jovens mais suscetíveis à doença, principalmente em condições insalubres (MARTINS *et al.*, 2020).

A forma mais comum de infecção é através dos oocistos que esporulam no ambiente, ingerido pelos hospedeiros durante o repasto ou ingestão de água contaminada (MACEDO *et al.*, 2018). Dentro do hospedeiro, o parasito irá realizar o processos de merogonia (fase assexuada) e gametogonia (fase sexuada) e no ambiente externo, este irá realizar a esporogonia originando os oocistos esporulados que são as formas infectantes do parasito (NEVES *et al.*, 2016).

Animais também podem estar expostos à diversos fatores de risco, como idade, sexo, local de alimentação, dieta, condições de higiene e superlotação, assim como, ruminantes mais jovens e fêmeas estão relacionados com a liberação de alta carga de oocistos no ambiente (MACEDO *et al.*, 2018). No entanto, é fato que, a maioria dos fatores está intimamente relacionado com a higiene do local. Ambientes superlotados favorecem a contaminação de água e alimentos por fezes, que por sua vez é de extrema importância para a transmissão desses parasitos, especialmente se o alimento for consumido diretamente do solo, o que torna o tipo de piso um fator igualmente relevante.

2.3.5 *Oesophagostomum* spp.

Oesophagostomum spp é um parasito recorrente em regiões de climas tropicais e subtropicais que infecta o intestino grosso de pequenos ruminantes, dos quais se destacam as espécies *O. columbianum* e *O. venulosum* em ovinos e caprinos (NASCIMENTO *et al.*, 2021). Morfologicamente, suas larvas apresentam extremidade posterior que contém uma bainha alongada e afilada, e um espaço localizado entre a ponta da cauda e a ponta da bainha (Figura 5) (NATH *et al.*, 2021).

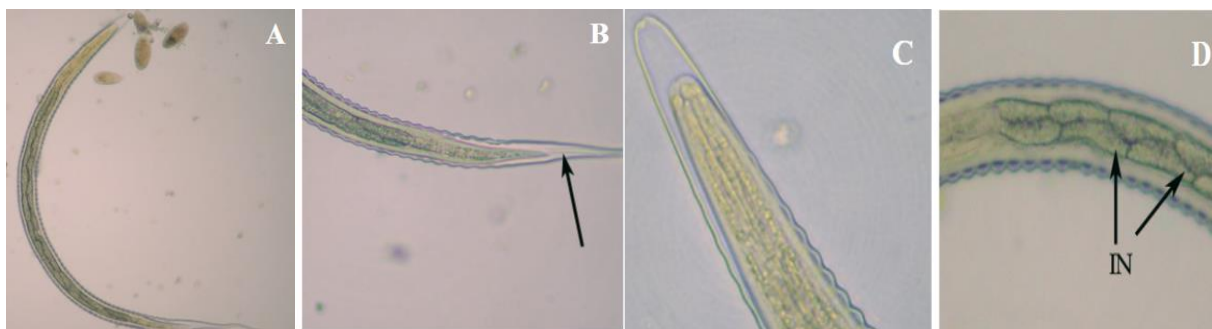


Figura 5 - Morfologia de *Oesophagostomum* (L3). Em (A) é possível observar sua cauda fina, alongada e pontiaguda; (B) espaço da cauda e bainha; (C) espaço cefálico; (D) células intestinais alternadas e em formato triangular. (Fonte: CDC, 2017).

Apesar da maioria das infecções ser assintomática, estas resultam na formação de nódulos visíveis a olho nu como resposta, os quais acabam sendo contaminados por bactérias, que, por sua vez, deixam o intestino em estado inadequado para a distribuição e processamento (ROBERTO *et al.*, 2018).

Além disso, as respostas as larvas acabam sendo maiores após a primeira infecção, e, em alguns casos como em *O. radiatum* de gado, os sintomas podem ser inapetência, anemia e hemorragia. Ainda, em casos crônicos, além da anemia os animais podem ter diarreia alternada com constipação e emagrecimento (MAIA; MATTOS, 2020).

O ciclo tem início quando a fêmea põe os ovos, que por sua vez são liberados nas fezes. Em clima favorável, as larvas L1 eclodem e formam uma cutícula chegam ao intestino delgado e grosso pela ingestão dos ruminantes e é nesse percurso que são originadas as larvas L4 no interior dos nódulos inflamatórios que se formaram na parede intestinal (NEVES *et al.*, 2016). Em seguida, L4 segue para a luz do órgão, onde se torna L5 (MAIA; MATTOS, 2020). A larva L4 pode sobreviver por bastante tempo nos nódulos, de modo que esse fator atrelado a baixa imunidade do animal dificulta o controle das parasitoses (NASCIMENTO *et al.*, 2021).

2.4 RESISTÊNCIA AOS ANTIPARASITÁRIOS

O filo Nematoda é composto por uma variante de espécies de corpo alongado e cilíndrico. Os nematoides, como assim são conhecidos, podem ser encontrados nos mais variados habitats, e, apesar de algumas espécies serem de vida livre, outras podem parasitar plantas e animais, sendo os nematoides gastrintestinais de grande importância econômica devido os danos causados em sistemas de produção (ALMEIDA; SANTOS, 2018).

Normalmente, o controle a essas infecções se dá pela utilização de medicamentos de anti-helmínticos (COSTA *et al.*, 2019). Nesse sentido destacam-se as seguintes classes de anti-helmínticos: macrocíclicas, salicilanilidas, benzimidazóis, imidazotiazóis, lactonas e nitrofenóis (SALGADO; SANTOS, 2016). A exposição prolongada à essas drogas resultam resistência dos parasitos, o que diminui consideravelmente a eficácia do tratamento de helmintíases gastrointestinais, especialmente em animais de produção (COSTA *et al.*, 2019; FREITAS *et al.*, 2023).

Aumento de resistência significa que os parasitos passam a sobreviver a doses que normalmente seriam fatais. Essa capacidade pode ser herdada, visto que é fruto da ação de genes de resistência que podem ser passados para as próximas gerações (MPHAHLELE *et al.*, 2021).

A Associação Mundial para o Avanço da Parasitologia Veterinária (WAAVP), determina que a resistência anti-helmíntica ocorre quando uma droga apresenta eficácia inferior a 95% (SALGADO; SANTOS, 2016). A resistência aos anti-helmínticos já foi relatada para todas as classes de anti-helmínticos disponíveis, por exemplo, flubendazol, albendazol, levamisol e ivermectina (MPHAHLELE *et al.*, 2021).

Em seu trabalho, Salgado e Santos (2016) relataram sobre os primeiros casos de resistência a drogas anti-helmínticas, sendo o primeiro relato mundial ocorrido em 1957, nos EUA com a droga fenotiazina em ovinos nos EUA. Em 1961, o tiabendazol se destacou devido sua baixa toxicidade e alta ação nematocida (DEY *et al.*, 2020). Contudo, em nematoides de pequenos ruminantes, os benzimidazóis foram os primeiros a perder sua eficácia, sendo esse fato relatado em 1964. Em 1967, no Brasil, outros pesquisadores do Rio Grande do Sul identificaram um caso de resistência anti-helmíntica ao tiabendazol em ovinos (SALGADO; SANTOS, 2016).

Costa *et al.* (2019) avaliaram a eficácia de diferentes drogas no tratamento de infecções por *Haemonchus*, *Trichostrongylus* e *Oesophagostomum* em rebanhos naturalmente infectados, sendo estas: 10% de albendazol, 18,8% de cloridrato de levamisol, 10% de disofenol, 34% de nitroxinil e 1% de moxidectina, e chegaram à conclusão de que o nitroxinil 34% foi a única droga que se mostrou efetiva na redução da carga parasitária nos grupos testados.

Esses fatores indicam a necessidade de estabelecer novos métodos de diagnóstico e controle antiparasitário, tendo como consequência a melhora na produtividade e evitando a evolução dos quadros de resistência (NASCIMENTO *et al.*, 2021).

2.5 PLANTAS MEDICINAIS COM AÇÃO ANTI-HELMINTICA

A utilização da fitoterapia de plantas medicinais é largamente empregadas na medicina tradicional pode proporcionar um manejo eficaz para muitas doenças (SAMEH *et al.*, 2018). Fatores que colaboram para que a população opte pelo uso de fármacos feitos a partir desses ativos são o menor tempo de fabricação e custos mais baixos, o que os torna mais acessíveis (PINHEIRO *et al.*, 2022).

O conhecimento voltado para o uso de fitoterápicos faz parte de tradições e são transmitidos entre gerações e além da qualidade essas plantas se mostram altamente eficientes e com baixo risco de uso (DEGLA *et al.*, 2022). Diferenças nos efeitos dos tratamentos podem surgir, visto que, na medicina tradicional, todas as partes das plantas são utilizadas em partes aquosas ou em pó em diferentes dosagens e concentrações (ADEMOLA, 2016).

Dentre suas aplicações, sabe-se que plantas com potencial ação anti-helmíntico têm sido alvo de estudos *in vitro* e/ou *in vivo*, através de testes realizados nas diferentes fases de vida (ovos, larvas e vermes adultos) desses parasitas (DEGLA *et al.*, 2022).

As plantas medicinais são estudadas como possível tratamento de parasitoses gastrointestinais de pequenos ruminantes. Uma revisão realizada por Mottin *et al* (2019) sobre as principais plantas estudadas quanto ao efeito anti-helmíntico em pequenos ruminantes mostra que dentre aquelas citadas no estudo *Operculina hAMILTONII* (batata de purga) é a mais estudada e representa 8,6% entre as citadas, seguido de *Momordica charantia* (melão-de-são-caetano), *Musa spp.* (bananeira), *Azadirachta indica* (nim), *Agave sisalana* (sisal) e *Allium sativum* (alho). Enquanto Degla *et al.* (2022) cita *Z. zanthoxyloides*, *N. laevis*, *S. monbin*, *C. italica*, *B. ferruginea* e *A. herba-alba*, *C.* como espécies que demonstraram seus efeitos *in vitro* contra helmintos, comprovados por meio de testes de eclosão de ovos, inibição da migração larval e motilidade de vermes adultos.

Estudos realizados com plantas do gênero *Spondias* também apresentaram atividade anti-helmíntica. A aplicação de extratos etanólico e acetônico da casca de *S. pinnata* mostraram que o extrato etanólico na concentração de 50 mg/ml e 100 mg/ml apresentou atividade mais potente do que o extrato acetônico (SAMEH *et al.*, 2018). Além disso, outros estudos demonstraram que esse extrato possui resultados comparáveis a pirazinamida, antiparasitário comercial, atribuídos à presença de taninos presentes no extrato (SILVA *et al.*, 2017).

É importante que haja validação científica quanto a utilização de fitoterápicos para melhor aplicação de seus compostos ativos, para isso, testes realizados *in vitro* são uma etapa preliminar na busca de novos medicamentos fitoterápicos, visto que através deles é possível avaliar e caracterizar os compostos presentes nos vegetais (NERY; DUARTE; MARTINS, 2009).

2.5.1 *Spondias mombin* L.

O gênero *Spondias* é o segundo mais importante no Brasil, constituído de aproximadamente 20 espécies, muitas delas frequentemente utilizadas na medicina popular. *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae) pode ser encontrada nas regiões tropicais da América, África e Ásia e no Brasil, está amplamente situada nas regiões Norte e Nordeste e é conhecida como “cajá” (CABRAL *et al.*, 2016). Essa espécie também é chamada de “ciruela amarilla” no México, como “jobo” na América Central e no Equador e “yellow mombin” ou “hogplum” na América do Norte, entre outros (MARIA *et al.*, 2022).

Sua aparência é de uma árvore de aproximadamente 15-22 m e 2 m (Figura 6) de circunferência no tronco, e floresce entre os meses de janeiro e maio e frutifica entre julho e setembro (AHUCHAOGU *et al.*, 2017).



Figura 6 – Demonstração da árvore *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae) com visualização da sua altura que pode atingir 25m e seus frutos. (Fonte: <https://www.sementesarbocenter.com.br/sementes-de-caja-mirim.html>)

Seus frutos são conhecidos como cajá, e tem como características um formato ovoide, tamanho pequeno e sabor agri-doce (MEDEIROS *et al.*, 2022). O cajá é consumido de modo variado e é utilizado como matéria-prima na obtenção de sucos, sorvetes e geleias (CABRAL *et al.*, 2016). Há relatos no uso dessas frutas para como remédio para úlcera, inflamação e dor de garganta, febrífugo e diurético (AHUCHAOGU *et al.*, 2017).

Não somente os frutos como todas as partes da planta são usados como fitoterápicos (SAHA, 2019). A decocção de suas cascas tem seu uso relatado para tosse forte, emético, tratamento para diarreia, e os chás das flores e folhas são tomadas para proporcionar alívio nas

dores de estômago, biliosidade, uretrite, cistite, inflamações oculares e da garganta (AHUCHAOGU *et al.*, 2017).

Há relatos do uso de suas folhas na medicina popular no tratamento problemas intestinais (PÉREZ-GUEVARA; MOTTA-MACHICADO, 2022), inflamações da boca e garganta (CABRAL *et al.*, 2016), indução do trabalho de parto, bem como diminuição do sangramento após o parto (SAHA, 2019). Aos extratos aquoso, metanólico e etanólico das folhas do cajá também já foram atribuídas propriedades antioxidantes, anti-helmínticas, antimicrobianas, leishmanicidas, antivirais (como em *Coxsackie* e *Herpes simplex*), antiescorbútica e hipoglicêmicas, antibacterians, moluscicidas (*Biomphalaria glabrata*) e propriedades antidiabéticas (*Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenese* e *Mycobacterium fortuitum*) (SAHA, 2019; BOSSOU *et al.*, 2020; PÉREZ-GUEVARA; MOTTA-MACHICADO, 2022).

Todos esses efeitos são atribuídos a uma ampla gama de diferentes compostos como aminoácidos, polissacarídeos, óleos essenciais, taninos, flavonoides, esteróis, triterpenos e saponinas, que a compõem (MEDEIROS *et al.*, 2022) e mesmo com tantos indícios do seu uso terapêutico, são poucos os estudos químicos realizados com essa planta, ainda que alguns ácidos desses compostos tenham sido isolados de suas folhas (CABRAL *et al.*, 2016).

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade ovicida e larvicida *in vitro* de extrato aquoso produzido a partir das folhas de *Spondias mombin* L. como controle alternativo sobre parasitos gastrintestinais de ovinos.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar o perfil fitoquímico das principais classes de metabólitos secundários das folhas de *Spondias mombin* L.;
- Avaliar a toxicidade do extrato aquoso das folhas de *Spondias mombin* L. sobre nauplios de *Artemias salinas*;
- Comparar os efeitos *in vitro* do extrato aquoso a partir das folhas de *Spondias mombin* L. sobre ovos e larvas de nematódeos gastrintestinais de ovinos;
- Identificar os gêneros de parasitos gastrintestinais presentes nas amostras de fezes de ovinos;

6. METODOLOGIA

6.1 ÁREA DE ESTUDO

O presente estudo foi realizado no município de Mossoró/RN, cujo as coordenadas são 5°11'15'' de latitude sul e 37°20'39'' de longitude oeste e altitude de 16 metros. O clima preeminente é o semiárido e a temperatura atinge em média de 27,4 °C, com regime de chuvas irregulares e estação chuvosa intensa entre o verão (ARAÚJO *et al.*, 2012).

6.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO

6.2.1 Coleta do material vegetal

As folhas da espécie *Spondias mombim* L. foram coletadas do lado oeste da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), situada em Mossoró, estado do Rio Grande do Norte (Figura 7).



Figura 7 - Coleta do material vegetal. Em (A) folhas da espécie *Spondias mombim* L. ainda na árvore de origem; em (B) material vegetal após processo de seleção. (Fonte: autoria própria).

O material foi retirado diretamente da árvore selecionada utilizando-se de material cortante para melhor retirada. As amostras passaram por seleção, das quais foram utilizadas somente aquelas em melhor estado, sem danos de qualquer natureza.

6.2.2 Obtenção do extrato aquoso

Após a seleção visual, o material limpo esteve exposto à temperatura de 26°C durante oito dias. Após esse período, a amostra foi triturada, seguida de separação do pó com o uso de

peneiras até a obtenção de um pó fino, com o objetivo de propiciar melhor solubilização. A proporção usada para a produção do extrato é de 10% (peso/volume), no qual 36g da amostra foi diluído em 360ml de água destilada. A solução obtida foi submetida à agitação magnética constante durante 16 horas a 20 °C. Após a extração, com o auxílio de malhas finas a mistura foi filtrada e em seguida foi submetida a centrifugação a 8000 rpm, por 20 min em 4 °C para retirada do sobrenadante, o chamado extrato bruto (EB) (Figura 8).

A partir do EB, foram preparadas diluições em água destilada, nas concentrações de 10%, 5%, 2,5% e 1,25% (NELSON; COX, 2014).



Figura 8- Obtenção do extrato aquoso. Em (A) agitação magnética; em (B) e (C) material direcionado a centrifugação; em (D) filtração utilizando malhas finas. (Fonte: autoria própria).

6.3 ANÁLISE FITOQUÍMICA

A análise da composição fitoquímica do extrato de folhas de *Spondias mombin* L. foi realizada com base na metodologia descrita por Matos e colaboradores (2008), a qual descreve a classificação destes por classes metabólicas. Para identificar essas classes, foram realizadas reações colorimétricas, de fluorescência e de precipitação. Assim, para identificar os metabólitos cumarinas, foi utilizado o Teste de Fluorescência; fenóis com a Reação de Cloreto Férrico; flavonoides, utilizando a Reação de Cianidina ou Shinoda; antraquinonas (Borträger); alcaloides utilizando o reagente de Wagner; núcleos esteroidais com o Teste de Liebermann-Burchard; núcleos triterpênicos utilizando o Teste de Salkowski; saponinas com o auxílio do Teste de espuma; taninos condensados e taninos hidrolisáveis utilizando o Teste de Stiasny e taninos livres com o Teste de precipitação por gelatina.

6.4 TESTE DE TOXICIDADE AGUDA *in vitro*

O ensaio experimental utilizado para o teste de toxicidade aguda *in vitro* foi realizado segundo a metodologia de Meyer et al (1982) adaptado para placas de 24 poços. Os cistos de *Artemia salina* eclodiram em solução salina filtrada (40g/L) e pH entre 8-9, no qual para cada 1L de água, foi adicionado 100 mg de cistos de *A. salina*. O cultivo e eclosão foram realizados em temperatura ambiente, luminosidade de 100 W por 48h e aeração constante.

Posteriormente, utilizando-se de placas de 24 poços foi adicionado 100 µl de solução de cultivo de *A. salina* contendo 10 náuplios eclodidos e 400 µl das concentrações referentes aos tratamentos por poço. O período de exposição foi de 24 horas. O teste foi realizado em triplicata. Para o controle negativo foi adicionada solução de cultivo nos poços.

Após 24h de incubação foi registrada a quantidade de náuplios vivos e mortos, sendo os vivos são aqueles que apresentassem movimento quando observados próximos a luz. Os testes válidos foram aqueles nos quais o controle apresentou uma mortalidade igual ou inferior a 10% da população.

6.5 NÚMERO DE OVOS POR GRAMA DE FEZES (OPG)

A contagem de ovos por grama de fezes foi realizada a partir de amostras provenientes de rebanhos não medicados com antiparasitário nos últimos 90 dias, de modo a verificar a infecção parasitária. Nesse contexto, o pré-requisito para a seleção das amostras é o OPG superior a 2000 ovos, verificados após a adição de 26 ml de solução hipersaturada de cloreto de sódio (NaCl) em 4 g de fezes e leitura no microscópio óptico em câmara de McMaster para a contagem dos ovos, cujo resultado é multiplicado por 25 (GORDON; WHITLOCK, 1939; CHAGAS; NICIURA; MOLENTO, 2011).

6.6 TESTE DE ECLOSÃO DE OVOS (TEO)

Uma vez diagnosticada a presença de ovos, estes foram recuperados segundo a metodologia de Hubert e Kerboeuf (1992) na qual as amostras coletadas passam por peneiras com malhas de 0,15, 0,10, 0,036 e 0,02 milímetros para a contenção dos ovos.

Após o término deste procedimento, o líquido resultante é depositado em tubos Falcon para a centrifugação durante 5 minutos e com rotação de 4.000 rpm. O sobrenadante foi

devidamente desprezado, e ao resultado disto foi adicionada uma solução salina hiper saturada, seguido de uma nova centrifugação condições anteriores e uma nova peneira de 0,02 mm.

Após recuperados, os ovos foram direcionados para a análise da atividade antiparasitária do extrato aquoso bruto da *Spondias mombin* L. através do Teste de Eclosão de Ovos (TEO) baseando-se na metodologia de Coles e colaboradores (2006). Para esse fim, foram utilizadas placas de 24 contendo em média 100 ovos/poço. No controle negativo foi adicionada a solução aquosa e para o controle positivo foi utilizado Tiabendazol 3,2 µg/mL. Os poços restantes continham os ovos incubados no extrato aquoso bruto (10 %) e suas respectivas diluições (5 %, 2,5 % e 1,25 %).

A metodologia foi realizada em cinco repetições e as placas foram incubadas a 25°C durante 48 horas em uma B.O.D (Incubadora de Demanda Biológica de Oxigênio).

6.7 TESTE DE INIBIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DAS LARVAS

O teste de inibição do desenvolvimento larval foi realizado baseando-se no trabalho descrito por Borges (2003), que por sua vez foi adaptado da técnica de coprocultura quantitativa descrita por Ueno e Gonçalves (1995).

Após a realização do OPG, a amostra foi macerada e homogeneizada, e dela foram retirados 2 g para a realização da coprocultura, juntamente com 2ml do extrato bruto e suas respectivas diluições (10, 5, 2,5 e 1,25%). O teste foi realizado em sextuplicata, na qual o controle positivo foi o medicamento ivermectina a 16 µg/ml e o controle negativo, água destilada. Os controles foram mantidos em cultivos separados para prevenir influência e volatilidade de um grupo sobre o outro. As amostras foram cobertas com filmes plásticos, nos quais foram feitos orifícios para aeração e mantidas em temperatura ambiente durante o período de sete dias, nos quais todas foram checadas e borrifadas com o objetivo de manter a umidade (UENO; GONÇALVES, 1995) (Figura 9).

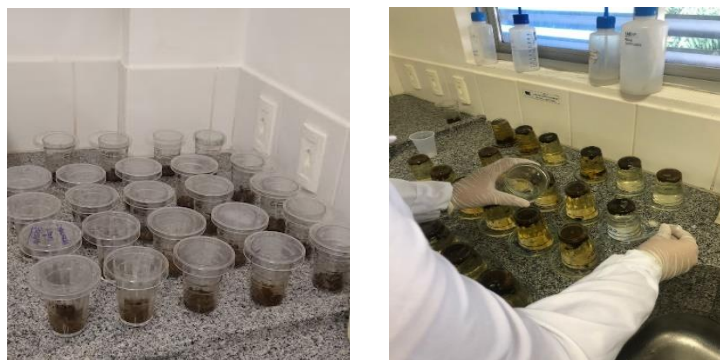


Figura 9 - Coprocultura com amostras coletadas em rebanhos ovinos com demonstração do início do cultivo e finalização com coleta das larvas. (Fonte: autoria própria).

Passado o período de incubação, foi realizada a leitura das coprocultura. Para isso, é necessária a remoção dos filmes que as recobriam seguida da adição de água destilada até a borda dos copos. Sobre cada cultivo é posta uma placa de petri esteril e em seguida, virou-se bruscamente (UENO; GONÇALVES, 1995).

Após esse processo, foram adicionados 10 ml de água à placa, permitindo que as larvas infectantes (L3) migrassem para fora da coprocultura. Após quatro horas, as amostras foram analisadas em microscópio para a coleta das larvas, que por sua vez foram depositadas em tubos de ensaio e armazenadas a 4°C, até o momento de quantificação e identificação, realizados somente após a inativação com lugol.

6.8 ANÁLISE DE DADOS

6.8.1 Teste De Toxicidade Aguda *In Vitro*

Com relação ao Teste de Toxicidade Aguda, o número de larvas vivas em relação ao aumento da concentração dos extratos fora utilizado para calcular os valores da concentração letal necessária para inativar 50% dos organismos (CL50) e os resultados foram submetidos a análise estatística utilizando o Logit.

6.8.2 Teste de Eclosão de Ovos (TEO)

Com o auxílio de planilhas montadas no Excel, foi obtida a razão em porcentagem da eclosão dos ovos obtidos em todos os grupos analisados: Porcentagem de inibição de ovos = $\frac{\text{número de ovos}}{(\text{número de ovos} + L1)} \times 100$. Para averiguar a normalidade foi empregado o

teste de Shapiro-Wilk e a homocedasticidade por Levene. As diferenças estatísticas significativas entre as concentrações foram verificadas através do teste de Kruskal-Wallis. Valores de $p < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas através do software R 4.2.3.

6.8.3 Teste de Inibição do Desenvolvimento das Larvas

Para a análise estática, a média do total de larvas observadas foi utilizada. A normalidade foi verificada pelo teste Shapiro-Wilk e a homocedasticidade por Levene. As diferenças estatísticas significativas entre as concentrações foram verificadas através do teste de Kruskal-Wallis. Valores de $p < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas através do software R 4.2.3. As medianas e a determinação dos quartis foram realizadas através do Excel.

7. RESULTADOS E DISCUSSÕES

7.1 ANÁLISE FITOQUÍMICA

7.1.1 Fitoquímica simples

Os resultados provenientes da análise da composição fitoquímica evidenciaram a presença de metabólitos secundários (Tabela 1).

Tabela 1 – Classes de metabólitos identificados após diferentes análises fitoquímicas do extrato aquoso de *Spondias mombin* L.

Metabólico	Ensaio	Resultado
Alcaloides	Wagner	+ (precipitado)
Antraquinonas	Borträger	-
Cumarinas	Teste de Fluorescência	+
Fenóis	Reação de Cloreto Férrico	+ (verde escuro)
Flavonoides	Reação de Cianidina ou Shinoda	+ (avermelhado)
Núcleos Esteroidais	Teste de Liebermann-Burchard	+ (castanho escuro)
Núcleos Triterpênicos	Teste de Salkowski	+ (vermelho/arroxado)
Saponinas	Teste de Espuma	+ (espuma)
Taninos Condensados e Taninos Hidrolisáveis	Teste de Stiasny	+ (precipitado)
Taninos Livres	Teste de precipitação por gelatina	+

- Negativo; + Positivo. Fonte: autoria própria.

As plantas são fonte de uma extensa gama de metabólitos secundários que, por sua vez, formam a base de diversos medicamentos farmacêuticos comerciais e remédios fitoterápicos derivados de plantas medicinais (LI *et al.*, 2020). Muitos estudos utilizaram metabólitos secundários como princípios ativos tais como taninos, alcaloides e flavonoides (BORTOLUZZI, 2020). A atividade de *Spondias mombin* L. contra vírus, bactérias e parasitos é atribuída a sua composição que compreende uma ampla variação de compostos como óleos essenciais, aminoácidos, polissacarídeos, taninos, flavonoides, esteróis, triterpenos e saponinas (MEDEIROS *et al.*, 2022).

A análise fitoquímica resultou na presença de uma variedade de metabólitos, dentre eles alcaloides, fenóis, flavanóides, esteroides, terpenos, taninos, taninos hidrolisáveis, e saponinas, conforme também já comprovado por outros autores (VASCONCELOS; VASCONCELOS; RANDAU, 2016; OLUDARE; IGE; 2018; NASCIMENTO *et al.*, 2022). Muitos desses metabólitos encontrados em diferentes partes de *S. mombin*, são conhecidos por sua ação contra diversos patógenos, com destaque para os alcalóides, esteróides, glicosídeos, saponinas e taninos, por isso, a planta é usada para o tratamento de várias doenças na medicina tradicional (OLUDARE; IGE; 2018).

A presença positiva de flavonoides foi identificada através da coloração avermelhada. Os flavonoides são compostos polifenólicos que protegem as plantas de fatores adversos, sejam eles bióticos ou abióticos, servem como filtro de proteção contra raios ultravioleta, agentes antimicrobianos, desintoxicantes e moléculas sinalizadoras (JAIN; KHATANA; VIJAYVERGIA, 2019).

Maria *et al.* (2022) apontam para a determinação do total de flavonoides determinado pelo método de quelação de cloreto de alumínio, resultando em $105,3 \pm 3,6$ mg equivalentes de rutina/g. Pérez-Guevara e Motta-Machicado (2022) identificaram qualitativamente os metabólitos secundários presentes no extrato etanólico da casca de *S. mombin* L., os quais atribuem a esses compostos a ação bactericida, agindo através da diminuição da atividade de enzimas bacterianas, inibindo a biossíntese de ácidos nucleicos e outros processos metabólicos, o que consequentemente afeta o crescimento microbiano.

Jain, Khatana e Vijayvergia (2019) citam a ação dos flavonoides na inibição de enzimas aldose redutase, xantina oxidase, fosfodiesterase, ATPase, lipoxigenase e ciclooxygenase.

Os fenóis, por sua vez, foram identificados através da coloração verde escura. O teor de fenólicos totais do extrato metanólico do fruto de *S. mombin* usando o reagente de fenol Folin-Ciocalteu e resultou em $239,50 \pm 7,9$ mg equivalentes de ácido gálico/g (MARIA *et al.*, 2022). Esses compostos contêm um grupo funcional hidroxila, que pode variar de local e número, ao

qual é atribuída sua toxicidade contra microrganismos (OLUDARE; IGE; 2018). Medeiros (2022), atribuiu o efeito anti-*Strongyloides* do extrato etanólico de *S. mombin* à alta porcentagem de lipídios fenólicos monoaromáticos (fenol 3-R e fenol 3-R1). Além disso, já foi relatado que compostos polifenólicos apresentam propriedades antioxidantes e fitoquímicas e podem ser agentes anti-inflamatórios (OLUDARE; IGE; 2018). Utilizando HPLC-DAD (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência utilizando um Perkin Elmer Série 200 equipado com detector de arranjo de diodos) através da análise UV, Cabral et al. (2016), demonstraram a presença de derivados fenólicos e flavonoides presentes nas folhas de *S. mombin*, destacando-se três compostos fenólicos: ácido clorogênico, ácido elágico e isoquercetina.

Os principais metabólitos secundários associados à atividade anti-helmíntica são os taninos condensados, saponinas e flavonoides (SANTOS *et al.*, 2019). O consumo de plantas ricas em taninos é associado ao efeito terapêutico sobre nematoides gastrointestinais em ruminantes. Em contraste, taninos condensados apresentam efeito antinutricional (ADEMOLA; FAGBEMI; IDOWU, 2016).

Os testes resultaram positivamente para a presença de taninos gerais, hidrolisados e condensáveis. Esses metabólitos possuem propriedades adstringentes, por isso, folhas de *S. mombin* podem ser aplicadas na cicatrização de feridas, hemorroidas e queimaduras na fitoterapia (AHUCHAOGU *et al.*, 2017). A adstringência presente nos taninos permite que estes haja inativando adesinas microbianas, enzimas e proteínas de transporte do envelope celular, ao qual se atribui efeitos anti-irritantes, anti-secretolíticos, anti-flogísticos, antimicrobianos e antiparasitários (OLUDARE; IGE; 2018). Estes metabólitos são capazes de ligar-se a proteínas, alterando as propriedades físico-químicas daqueles presentes na cutícula, cavidade oral, esôfago, cloaca e vulva de os nematoides (SANTOS *et al.*, 2019). Sua afinidade com proteínas que contém prolina, podem afetar a proteína livre presente no tubo de nutrição larval, reduzindo a disponibilidade de nutrientes e causando morte (ADEMOLA *et al.*, 2005).

Além disso, a ingestão de taninos condensados por larvas e insetos faz com que essas substâncias se liguem a mucosa intestinal causando autólise (ADEMOLA *et al.*, 2005).

Não obstante, existe a possibilidade de uma ação indireta desses compostos, que podem acabar fortalecendo o sistema imunológico do hospedeiro por se ligarem as proteínas da dieta, aumentando assim sua disponibilidade no intestino delgado (SANTOS *et al.*, 2019).

As saponinas, por sua vez, foram identificadas através da formação de espuma. Ahuchaogu *et al.* (2017), identificou alto teor de saponinas (7,50%) após a análise fitoquímica nas folhas de *S. mombin*. Em combinação com esteróis associados à membrana, as saponinas monodesmosídicas podem desestabilizá-la e alterar a permeabilidade celular, levando à citólise

(ADEMOLA, 2005). Testes realizados com saponinas isoladas apresentaram efeito de 90% de inibição da eclosão dos ovos (escina) e da motilidade larval (digitonina), atribuídos à formação de complexos com componentes da membrana celular resultando no aumento permeabilidade da membrana pela formação de poros (SANTOS *et al.*, 2019).

Alcaloides são compostos nitrogenados heterocíclicos derivados de aminoácidos (metabólitos primários) como triptofano, tirosina e lisina (JAIN; KHATANA; VIJAYVERGIA, 2019). No presente trabalho, os alcaloides foram identificados através da formação do precipitado. Nas plantas, sua função está voltada para a defesa contra herbívoros e patógenos (JAIN; KHATANA; VIJAYVERGIA, 2019). O alcaloide isoquinolínico dicentrina, bem como o alcaloide espigantina presente no extrato de *Spigelia anthelmia* estão associados a atividade anti-helmintica *in vitro* contra *H. contortus* (JOLA; ESCOBAR, 2019).

No tocante as antraquinonas e cumarinas, as antraquinonas livres tiveram resultado negativo, pois não houve formação de cor e as cumarinas tiveram efeito positivo verificado pelo teste de fluorescência. Bossou e colaboradores (2020) identificou a presença de antraquinonas e cumarinas na avaliação metabólica do extrato hidroetanólico das folhas de *S. mombin*, bem como a presença de taninos, taninos gálicos, flavonoides e compostos redutores.

Acerca dos triterpenos e esteroides, os esteroides tiveram efeito positivo através da formação de cor castanho escuro e os es triterpenos tiveram efeito positivo através de uma formação de cor vermelho arroxeado. Ao contrário dos taninos, flavonoides, alcaloides e fenóis, os terpenoides, saponinas e esteróides encontram-se e menor nível nas espécies vegetais associadas à atividade anti-helmintica (JOLA; ESCOBAR, 2019). Os terpenos podem controlar a atividade de bactérias e fungos e ainda agir sobre receptores de tiramina, diminuindo a motilidade e o bombeamento faringiano dos parasitos (BORTOLUZZI *et al.*, 2020).

Ainda que diferentes extratos possam ser óbitos da mesma planta, podem existir diferenças na atividade destas associadas a presença ou ausência de certos metabólitos (DEGLA *et al.*, 2022). A produção está associada tanto à fatores genéticos quanto fatores ambientais como os climáticos e geográficos, portanto, para explorar mais afundo o potencial das plantas medicinais anti-helmínticas, faz-se necessário conhecer os fatores de variação dos metabólitos secundários responsáveis por essas atividades, além de focar na biodisponibilidade das espécies (DEGLA *et al.*, 2022).

7.2 TESTE DE TOXICIDADE AGUDA *in vitro*

O extrato foi considerado atóxico ($CL_{50} = 0,33\%$) após o teste com *A. salina* visto que o bioensaio realizado considera a considerar uma planta tóxica aquela cujo valor $DL_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ (MEYER *et al.*, 1982). Através do modelo construído, obteve-se um valor de $CL_{50} 0,33\%$, o que equivale a 1188 mg/mL.

Outros estudos *in vitro* e *in vivo* utilizando extratos aquosos e etanólicos obtidos a partir de folhas em pó de *S. mombin* resultaram na inibição do desenvolvimento larval, sendo a CL_{50} extrato aquoso: 0,907 mg/mL e extrato etanólico 0,456 mg/mL. Outro trabalho utilizando o mesmo teste aplicado ao extrato etanólico proveniente das cascas de *S. mombin* o considerou moderadamente tóxico ($CL_{50} = 893,62 \mu\text{g.ml}$) (CHAVES *et al.*, 2018).

Devido seus diferentes princípios ativos mesmo plantas medicinais podem ser tóxicas, por isso se faz relevante a realização de teste de toxicidade (LIMA *et al.*, 2021).

7.3 ATIVIDADE OVICIDA

As concentrações testadas demonstraram potencial de inibição dependente da dose (Tabela 2).

Tabela 2 – Porcentagem da inibição da eclosão de ovos após o TEO de diferentes concentrações do extrato aquoso de *Spondias mombin* L.

Tratamento	Inibição (%)
CN	12,6
CP	69,8
10%	84,8
5%	55,8
2,50%	55,8
1,25%	27,2

CN – controle negativo; CP – controle positivo

A porcentagem da inibição de ovos apresentou a concentração mais eficiente como sendo a de 10% (84,8% de inibição), que, por sua vez, não demonstrou diferença estatística significativa quando comparado ao controle positivo (Thiabendazol com 69,8% de inibição) tal qual as concentrações de 5% (55,8% de inibição) e 2,5%, (55,8% de inibição) (Gráfico 1).

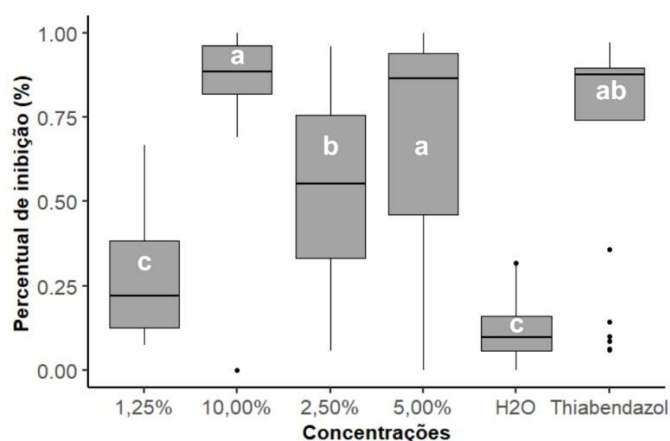


Gráfico 1 - Resultado do teste de Kruskal-Wallis após realização do TEO. Medianas seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (p valor $\leq 0,05$). H2O= controle negativo; Thiabendazol = controle positivo; Tratamentos = 10%, 2%, 2,5% e 1,25%. a, b, c, = letras diferentes indicam diferença significativa e médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (p valor $\leq 0,05$). Fonte: autoria própria.

O resultado indica que o uso do extrato na em concentrações superiores à 2,5% possivelmente resultará em impactos significativos ao reduzir as contaminações dos rebanhos (OLIVEIRA *et al.*, 2022). Contudo, a concentração de 1,25% (27,2% de inibição) não apresentou efeito inibitório contra ovos de parasitas gastrointestinais, uma vez que seu efeito foi semelhante à (12,6% de inibição) água utilizada no controle negativo.

Ainda que os tratamentos com drogas comerciais se mostrem convenientes, esse tipo de abordagem é custoso e com o passar dos anos está se tornando parcialmente eficaz devido ao uso frequente e indevido (ADEMOLA *et al.*, 2016). O Tiabendazol, usado neste trabalho, já apresenta estudo que mostram perda de eficiência devido a resistência parasitária desde 1992, quando foi testado contra estrongilídeos de ovelhas em Ibadan, Nigéria (ADEMOLA *et al.*, 2016).

O teste de eclosão de ovos já foi utilizado para demonstrar a resistência em Tiabendazol e outros anti-helmínticos no mercado. Este surtiu efeito ovicida mínimo contra nematoide (mais de 1% de eclosão, com dose discriminante de 0,1 $\mu\text{g/mL}$) em 100% dos bandos investigados (MPHAHLELE *et al.*, 2021).

É notável, portanto, a crescente necessidade de novos princípios ativos que se apresentem com melhor segurança e custo-benefício, o que pode ser contemplado ao utilizar substâncias naturais encontradas em plantas com potencial antiparasitário que se apresentam de forma abundante e demonstram ser uma possibilidade altamente promissora (RANASINGHE *et al.*, 2023).

Uma forma eficaz de controle de parasitas pode se dar pelo interrompimento da sobrevivência destes induzida por um extrato, visto que, a inibição de motilidade gera consequências como dificuldades na alimentação e acasalamento, sendo assim, menos consumo de sangue (hematófagos) e menos excreção de ovos (DEGLA *et al.*, 2022) A ação inibitória sobre o desenvolvimento embrionário, possivelmente é resultado da inativação de enzimas que atuam na degradação da casca do ovo, entre elas lipases, proteases, beta-glicosidades, quitinases e leucina aminopeptidase (BORTOLUZZI *et al.*, 2020).

7.4 ATIVIDADE LARVICIDA

A medida da contagem de larvas vivas por concentração não apresentou mortalidade estatisticamente significativa (Gráfico 2). O maior índice de mortalidade foi verificado na concentração de 10%, uma vez que em média 23,5% das larvas sobreviveram. Em ordem decrescente, os valores de sobrevivência apresentados foram 31% na concentração de 5%; 34% nas concentrações de 2,5% e 1,25%; e 32,5% no controle negativo.

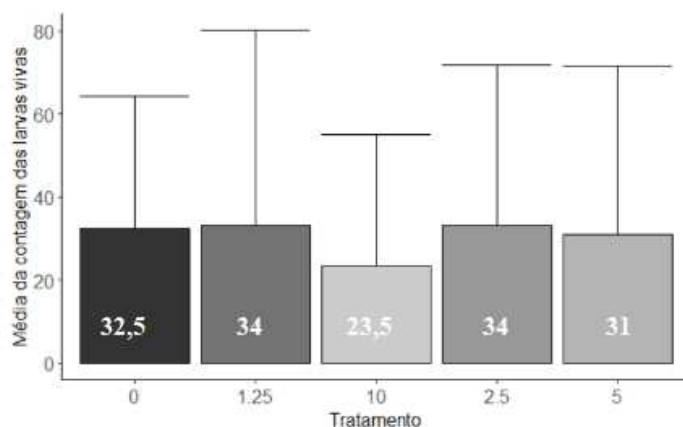


Gráfico 2 – Média da contagem de larvas vivas recuperadas da coprocultura por concentração.

Os dados estatísticos demonstram que diferentes concentrações não apresentam mortalidade estatisticamente significativa (p -valor = 0,989 que por sua vez é > 0.05 , portanto os grupos possuem medianas semelhantes) (tabela 3).

Tabela 3 – Comparação da quantidade de larvas vivas por concentração.

	Controle Negativo	10%	5%	2,50%	1,25%	P-valor
	20	9,5	6	14	3	
Contagem de larvas	7 - 57,5	0 - 31	2 - 71,25	3,25 - 74,5	1,50 - 93,75	0,989

Os dados são representados por mediana e quartis (25-75). Teste de Kruskal-Wallis. Significância estatística considerada de $p \leq 0,05$. Fonte: autoria própria.

Nos resultados da coprocultura os gêneros encontrados foram *Haemonchus*, *Trichostrongylus* e *Oesophagostomum*. *In vivo*, também já foram identificadas as espécies *Haemonchus* spp., *Trichostrongylus* spp., *Oesophagostomum* spp., *Strongyloides* spp. e *Trichuris* spp., das quais os extratos se mostraram menos eficientes em *Haemonchus* com somente 15% de inibição após 12 dias. Em contrapartida, 100% dos ovos de *Trichuris* spp., foram inibidos após 3 dias (ADEMOLA *et al.*, 2005; MARIA *et al.*, 2022).

Haemonchus contortus é um dos principais exemplos de parasitos que apresenta resistência as principais classes de medicamentos anti-helmínticos utilizados globalmente (RANASINGHE *et al.*, 2023). Todavia, testes *in vitro* com ovos de *H. contortus* utilizando extrato metanólico de *S. mombin* já demonstraram 100% de inibição de sua eclodibilidade (SILVA *et al.*, 2017). Essa observação está de acordo com o que foi observado por Ademola e colaboradores (2005), que observou a eficácia de extratos etanólico e aquoso da folhas de *S. mombin* contra o mesmo parasita (Extrato Aq. CL50 : 0,907 mg/mL; extrato etanólico CL50 : 0,456 mg/mL).

O efeito larvicida de extratos de *S. mombin* foi constatado *in vitro* por Ademola *et al.* (2005) visto que o teste resultou na diminuição da sobrevivência de larvas L3 de *Haemonchus* spp., que indicou que o extrato aquoso é mais eficaz que o extrato etanólico, e este, por sua vez é mais eficaz na motilidade larval do que o extrato metanólico (DEGLA *et al.*, 2022). Outro trabalho realizado com *Haemonchus contortus* e extratos de folhas de cajá indicaram seu efeito larvicida ao inibir a migração de L3 (45 - 80%) e reduzir a motilidade de vermes adultos (77 a 100 %) após 30 horas de exposição (AKOUEDEGNI *et al.*, 2019).

O efeito *in vitro* do extrato etanólico de *Spondias mombin* L. se mostrou altamente eficaz contra *Strongyloides venezuelensis*, o qual resultou em 100% de mortalidade após 4 h de exposição (400 µg/mL de meio RPMI) e causou 100% de mortalidade após 12 h de exposição a uma concentração de extrato de 50 µg/mL (MEDEIROS *et al.*, 2022). Esse estudo demonstrou resultados semelhantes a Bastos *et al.* (2017), no qual o extrato etanólico e a fração aquosa de *Spondias mombin* apresentaram os melhores resultados após os testes da atividade a anti-

Strongyloides contra fêmeas parasitas adultas e taxa de mortalidade de 100% após 72 h, para todas as concentrações testadas.

O extrato metanólico das folhas também indicou efeito contra larvas de *Trichostrongylus*, resultando em 85% após 120h de exposição (RAHMAN; PAY, 2014).

Alterações morfológicas ou de motilidade podem ser uma forma eficaz de identificação do modo de ação de extratos vegetais, sendo a cutícula um dos principais alvos dessas drogas (RANASINGHE *et al.*, 2023). Os efeitos dos extratos sobre o desenvolvimento larval são associados ao processo de desembainhamento (transição da fase livre para a parasitária) que permite a infecção ao hospedeiro. Acredita-se que haja relação entre a alta afinidade de proteínas ricas em prolina e hidroxiprolina presentes na bainha da larva do nematoide e cutícula por taninos (SANTOS *et al.*, 2019). Quando comparados a ivermectina, os extratos etanólicos de *S. mombin* demonstraram efeito superior, uma vez que causou tanto o enrugamento quanto a descamação da cutícula do parasito, enquanto a ivermectina causa somente o enrugamento (MEDEIROS *et al.*, 2022).

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato aquoso bruto proveniente de folhas da espécie *Spondias mombin* L. foi considerado atóxico e apresentou ação ovicida do sobre parasitos gastrintestinais em ovinos demonstrada através do TEO. Contudo, isso não foi demonstrado efeito estatístico significativo sobre a inibição larval. Os efeitos observados foram associados aos metabólitos presentes na planta. Deve-se notar que o metabolismo da planta é influenciado por fatores internos e externos que afetam a disponibilidade e concentração da(s) substância(s) ativa(s), podendo posteriormente afetar a atividade medicinal de seu extrato, por isso, é essencial a aplicação de testes *in vivo* em conjunto com testes *in vitro*.

REFERÊNCIAS

- ADEMOLA, I. O.; FAGBEMI, B. O.; IDOWU, S. O. Anthelmintic activity of extracts of *Spondias mombin* against gastrointestinal nematodes of sheep: studies *in vitro* and *in vivo*. **Tropical Animal Health and Production**, v. 37, p. 223-235, 2005.
- ADEMOLA, I. O. The potential of Nigerian bioactive plants for controlling gastrointestinal nematode infection in livestock. **Animal health research reviews**, v. 17, n. 2, p. 85-91, 2016.
- AHUCHAOGU, A. A. *et al.* Phytochemical screening and antibacterial activity of *Spondias mombin* leaves. **Asian Journal of Chemical Sciences**, v. 3, n. 1, p. 1-6, 2017.
- AKOUEDEGNI, C. G. *et al.* Evaluation *in vitro* et *in vivo* des propriétés anthelminthiques de feuilles de *Spondias mombin* sur *Haemonchus contortus* des ovins djallonké. **Agronomie Africaine**, v. 31, n. 2, p. 213-222, 2019.
- ALLAIE, I. M. *et al.* Prevalence of trichostrongylids in small ruminants of Kashmir valley. **The Indian Journal of Animal Sciences**, v. 91, n. 10, 2021.
- ALMEIDA, B. H.; SANTOS, G. L. F. Ovinocaprinocultura e os principais helmintos gastrintestinais. In: BEZERRA, A. C. D. S., and SILVA, M. D. C., eds. **Fitoterapia e a Ovinocaprinocultura: uma associação promissora** [online]. Mossoró: EdUFERSA, pp. 27-48, 2018.
- AMARAL NETO, L.F.G. *et al.* Retrospective study of Helminthiasis diagnosed in ruminants based on research carried out in the state of Maranhão in the last 20 years. **Brazilian Journal of Development**, v.7, n.6, p.56557-56571, 2021.
- ARAÚJO, D.R. *et al.* Estudo da área de preservação permanente do rio Mossoró no sítio urbano de Mossoró-RN por meio de técnicas de geoprocessamento. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 2, p. 177-183, 2012.
- ARSENOPOULOS, K.V. *et al.* Haemonchosis: A Challenging Parasitic Infection of Sheep and Goats. **Animals**, v. 11, n. 2, 363, 2021.
- BASTOS, L. A. D. *et al.* Ethanolic extracts of different fruit trees and their activity against *Strongyloides venezuelensis*. **International Journal of Modern Biological Research**, v. 5, p. 1-7, 2017.
- BENAVIDES, M. V.; SOUZA, C. J. H. Verminose ovina. **EMBRAPA**, 2020.
- BIOLCHI, J.; PEDRASSANI, D. Parasitas gastrointestinais em ovinos criados na região do planalto norte catarinense. **Iniciação Científica Cesumar**, v. 21, n. 2, p. 143-152, 2019.
- BORGES, C. C. L. Atividade *in vitro* de anti-helmínticos sobre larvas infectantes de Nematodeos gastrintestinais de caprinos, utilizando a técnica de coprocultura quantitativa (Ueno, 1995). **Parasitología Latinoamericana**, v. 58, p. 142 -147. 2003.
- BORTOLUZZI, B.B. *et al.* Fitoterapia no controle de parasitos gastrintestinais de ruminantes: ênfase no gênero *mentha* e seus componentes bioativos. **Ars Veterinaria**, v.36, n.4, p.253-

270, 2020.

BOSSOU, A. F. A. D. *et al.* Evaluation of antiradical and antibacterial activities of hydroethanolic extract of *Spondias mombin* Leaves from Benin. **IOSR Journal of Pharmacy**, v. 10, p. 11-6, 2020.

BOWMAN, D.D.G. **Parasitologia Veterinária**. 9.ed. São Paulo: Manole, 448p, 2010.

BOYKO, O.O. *et al.* Intraspecific morphological variation in freeliving stages of *strongyloides papillosus* (nematoda, strongyloididae) parasitizing various mammal species. **Vestnik Zoologii**, v.53, n.4, p.313–324, 2019.

CABRAL, B. *et al.* Phytochemical study and anti-inflammatory and antioxidant potential of *Spondias mombin* leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, p. 304-311, 2016.

CARVALHO, T.B.; ZEN, S.D.; The beef cattle chain in Brazil: evolution and trends. **Revista iPecege**. v.3, n.1, p.85-99, 2017.

CHAGAS, A. C. S.; NICIURA, S. C. M.; MOLENTO, M. B. Manual Prático: metodologias de diagnóstico da resistência e de detecção de substâncias ativas em parasitas de ruminantes. **Embrapa Informação Tecnológica, Brasília**, v. 153, 2011. 145p.

CHAVES, T. P. *et al.* Phytochemical composition and antimicrobial and toxicological activity of *Spondias mombin* L. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 23, n. 4, 2018.

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

COSTA, P. T. *et al.* Efficacy of antiparasitic drugs in control of gastrointestinal helminthiasis in naturally colored and white lambs from southern Brazil. **Medicina Veterinária**, v. 13, n. 4, p. 544-551, 2019.

CRISTOFOLI, N. L. *et al.* Antioxidant and antimicrobial potential of cajazeira leaves (*Spondias mombin*) extracts. **Separation Science and Technology**, v. 54, n. 4, p. 580-590, 2019.

DEGLA, L. H. *et al.* Use of medicinal plants as alternative for the control of intestinal parasitosis: Assessment and perspectives. **Agrobiological Records**, v. 7, p. 1-9, 2022.

DEY, A. R. *et al.* Multiple anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of small ruminants in Bangladesh. **Parasitology international**, v. 77, p. 102105, 2020.

DIAS-SILVA, T.P.; LOUVANDINI, H.; AMARANTE, A.F.T.; *Trichostrongylus colubriformis* affecting sheep phosphorus metabolism and precision feeding as a mitigating strategy. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v.30, n.1, e026820, 2021.

FERRAZ, A. *et al.* Levantamento de Parasitos Gastrintestinais Diagnosticados em Ovinos pelo Laboratório de Doenças Parasitárias da Universidade Federal de Pelotas (Brasil), nos anos de 2015 a 2017. **Revista Brasileira de Zoociências**, v.20, n.1, p, 1-7, 2019.

- FERREIRA, E.T. *et al.* A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos: uma revisão integrativa sobre a atuação do enfermeiro. **Brazilian Journal of health Review**, v. 2, n. 3, p. 1511-1523, 2019.
- FREITAS, L. A. *et al.* Classification Performance of Machine Learning Methods for Identifying Resistance, Resilience, and Susceptibility to *Haemonchus contortus* Infections in Sheep. **Animals** (Basel), v. 13, 374, p. 1-11, 2023.
- GOMES, R.C.; FEIJÓ, G.LD.; CHIAN, L. Nota Técnica- Evolução e Qualidade da Pecuária Brasileira. Campo Grande, **Embrapa Gado de Corte**, 4p., 2017. Disponível em <<https://www.embrapa.br/documents/10180/21470602/EvolucaoQualidadePecuaria.pdf/64e8985a-5c7c-b83e-ba2d-168ffaa762ad>> Acesso em 03 de maio de 2023.
- GORDON, H.M.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the council for Scientific and Industrial Research**, v.12, n. 1, p. 50-52, 1939.
- HUBERT, J.; KERBOEUF, D. A microlarval development assay for the detection of anthelmintic resistance in sheep nematodes. **The veterinary record**, v. 130, n. 20, p. 442-446, 1992.
- IBGE. Produção agropecuária. Disponível em <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/>> Acesso em 03 de maio de 2023.
- JAIN, C.; KHATANA, S.; VIJAYVERGIA, R. Bioactivity of secondary metabolites of various plants: a review. **Internacional Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**. Sci. Res, v. 10, n. 2, p. 494-504, 2019.
- JOLA, N. J. R.; ESCOBAR, N. E. Profile of plant species in the tropical dry forest of Tolima (Colombia) exhibiting anthelmintic activity in sheep. **Pakistan Journal of Botany**, v. 51, n. 5, p. 1737-1744, 2019.
- KANDIL, O. *et al.* *In vitro* and *in vivo* Anthelmintic Efficacy of Condensed Tannins Extracted from the Seeds of Alfalfa (*Medicago sativa* L.) against *Haemonchus contortus* Infection. **Iraqi Journal of Veterinary Sciences**, v. 37, n.1, p. 229-37, 2023.
- KEYHAN, A. *et al.* Zoonotic transmission of *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus* species in Guilan province, northern Iran: molecular and morphological characterizations. **BMC infectious diseases**, v. 20, n.28, 2020.
- KOVALČUKA, L. *et al.* Most Common Inappropriate Drug Usage Factors in Anthelmintic Treatment on Sheep Farms in Latvia. **Veterinary World**, v.15, n.2, p.: 244-51, 2022.
- LI, Y. *et al.* The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 148, p. 80-89, 2020.
- LIMA, B.S.S. *et al.* Fitoterapia: toxicidade e desinformação. **Saúde Dinâmica - Revista Científica Eletrônica**. v. 9, n.3, 2021.
- LIMA, L. R.; BARBOSA FILHO, J. A. D. Impacto do manejo pré-abate no bem-estar de caprinos e ovinos. **Journal of Animal Behavior and Biometeorology**. v.1, n.2, p.52-60, 2013.

- LIMA, M. C. *et al.* Controle de parasitas gastrointestinais em ovinos de uma criação semi-confinada na região de Campo Limpo Paulista-SP. **RECIMA21-Revista Científica Multidisciplinar-ISSN 2675-6218**, v. 3, n. 1, p. e311070-e311070, 2022.
- MACEDO, L.O. *et al.* Morphological and epidemiological data on *Eimeria* species infecting small ruminants in Brazil. **Small Ruminant Research**, v.171, p.37-41, 2018.
- MACEDO, L. O. *et al.* Prevalence and risk factors associated with infection by *Eimeria* spp. in goats and sheep in Northeastern Brazil. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 44, p. 607-612, 2020.
- MAGALHÃES, K.A. *et al.* Caprinos e ovinos no Brasil: análise da Produção da Pecuária Municipal 2019. **CIM Centro de Inteligência e Mercado de Caprinos e Ovinos - Embrapa Caprinos e Ovinos**. Ceará, 6p., 2020.
- MAIA, D.; MATTOS, M. J. T. Nematodeoses gastrintestinais em bovinos no Brasil: revisão de artigos publicados no período de 2012 a 2020. **Revista Agrária Acadêmica**. Imperatriz, MA. v. 3, n. 3, p. 296-307., 2020.
- MPHAHLELE, M. *et al.* Risk factors associated with occurrence of anthelmintic resistance in sheep of resource-poor farmers in Limpopo province, South Africa. **Tropical animal health and production**, v. 51, p. 555-563, 2019.
- MPHAHLELE, M. *et al.* Anthelmintic resistance and prevalence of gastrointestinal nematodes infecting sheep in Limpopo Province, South Africa. **Veterinary World**, v. 14, n. 2, p. 302, 2021.
- MARIA, A.C.B. *et al.* *Spondias mombin* L.: An Updated Monograph. **Pharmacognosy Reviews**. v.16, n.31, p.45-61, 2022.
- MARTINS N.S. *et al.* Eimeriosis in cattle and sheep: an invisible enemy. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 19421-19434, 2020.
- MARTINS, N.S. *et al.* *Eimeria* spp. infection in lambs from southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.40, n.11, 2020.
- MATOS, F. J. A. *et al.* Essential oil of *Mentha x villosa* Huds. from Northeastern Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 11, n. 1, p. 41-44, 1999.
- MATTE, A.; WAQUIL, P.D. Changes in markets for lamb in livestock family farming in Brazil. **Small Ruminant Research**, v. 205, 106535, 2021.
- MEDEIROS, P.B.S. *et al.* The effect of *Spondias mombin* L. against *Strongyloides venezuelensis*: An *in vitro* approach. **Acta Tropica**, v. 234, 106617, 2022.
- MENDES, J. P. *et al.* *Haemonchus contortus* e medidas estratégicas de controle para ovinos. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 24, n. 2, p. 105-110, 2020.
- MENESES, A.P. *et al.* *In vitro* anthelmintic activity of the aqueous extract of *Hyptis suaveolens* on sheep gastrointestinal nematodes. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.14, n.4, p. 1 – 9, 2021.

- MEYER, B. N. *et al.* Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta medica**, v. 45, n. 5, p. 31-34, 1982.
- MONTEIRO, M.G.; BRISOLA, M.V.; VIEIRA FILHO, J.E.R. **Diagnóstico da cadeia produtiva de caprinos e ovinos no Brasil**. Brasília: Instituto de Pesquisa Econômica e Aplicada (IPEA). 38p., 2021.
- MOTTIN, V. D. *et al.* Eficácia, toxicidade e letalidade de plantas com potencial atividade anti-helmíntica em pequenos ruminantes no Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 20, p. 01 - 23, e0232019, 2019.
- NATH, T. C. *et al.* Morphometrical and Molecular Characterization of *Oesophagostomum columbianum* (Chabertiidae: Oesophagostominae) and *Haemonchus contortus* (Trichostrongylidae: Haemonchinae) Isolated from Goat (*Capra hircus*) in Sylhet, Bangladesh. **Journal of Parasitology Research**, v. 2021, 8863283, 2021.
- NAEEM, M.; IQBAL, Z.; ROOHI, N. Ovine haemonchosis: a review. **Tropical Animal Health and Production**, v. 53, n. 19, p. 1-11, 2021.
- NASCIMENTO, D. C. A. *et al.* Atividades farmacológicas comprovadas para o gênero *Spondias*: uma revisão de literatura. **E-Acadêmica**, v. 3, n. 2, p. e3832192-e3832192, 2022.
- NASCIMENTO, F. C. *et al.* Estrongilídeos de ruminantes: Revisão. **Pubvet**, v. 15, n. 4, p. 1–9, 2021.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed editora LTDA, 2014, 1.250p.
- NERY, P. S.; DUARTE, E. R.; MARTINS, E. R. Eficácia de plantas para o controle de nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes: revisão de estudos publicados. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, p. 330-338, 2009.
- NEVES, D.P. *et al.* **Parasitologia Humana**, 13ª Ed., Rio de Janeiro: Atheneu, 2016, 264p.
- OGEDENGBE, O., A. N. *et al.* Anthelmintic activity and non-cytotoxicity of phaeophorbide a isolated from the leaf of *Spondias mombin* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 280, p. 114392, 2021.
- OLIVEIRA, A.G.N. *et al.* Tecnologia para produção de extrato aquoso de folhas da planta *Solanum lycocarpum* para avaliação da eficiência anti-helmíntica: validação da técnica de inibição da eclodibilidade larvar de helmintos de ovinos. **Veterinária e Zootecnia**. 2022.
- OLIVEIRA, P. A. *et al.* Doenças parasitárias em bovinos e ovinos no sul do Brasil: frequência e estimativa de perdas econômicas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, p. 797-801, 2017.
- OLUDARE, T. O.; IGE, O.O. Qualitative and Quantitative Screening of Phytochemical Analysis of *Spondias mombin* (Linn.) Extracts (Root, Leaf, and Stem Bark), A Useful Formulation in Drug Discovery. **SciFed Journal of Analytical Biochemistry**, v. 1, n. 1, 2018.
- OSÓRIO, T.M. *et al.* Anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes in sheep: any review. Curitiba. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 89194-89205, 2020.

- PEREIRA, J. E. G. *et al.* Evaluation of integrative treatment in the control of gastrointestinal parasites in sheep. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, p 1-9, 2021.
- PÉREZ-GUEVARA, E.; MOTTA-MACHICADO, L. A. Actividad Antibacteriana del Extracto de la Corteza de la *Spondias mombin* L.(ubos) frente a *Staphylococcus epidermidis*. **Revista Biodiversidad Amazónica**, v. 1, n. 2, p. e215, 2022.
- PINHEIRO, S. B. *et al.* Análises fitoquímicas na identificação de metabólitos secundários para produção de fármaco natural a partir de *Cereus jamacaru* DC. **Revista Ceará Científico**, v. 1, n. 1, p. 21-30, 2022.
- PIRES FILHO, P.C.S.P. *et al.* Occurrence of infectious and parasitary diseases in goats and sheep in the metropolitan region of São Luís, State of Maranhão, Brazil. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, e695997713, 2020.
- RAHMAN, W.A.; PAY, H. P. Anthelmintic activities of *Spondias mombin* leaves and fruits extracts against *Trichostrongylus* nematodes in Goats. **Asian Journal of Agriculture and Food Sciences**, v. 2, n. 4, 2014.
- RANASINGHE, S. *et al.* Medicinal plants as a source of antiparasitics: an overview of experimental studies. **Pathogens and Global Health**, p. 1-19, 2023.
- ROBERTO, F. F. S. *et al.* Nematoides gastrintestinais na ovinocultura de corte sob regime de pastejo. **Pubvet**, v. 12, p. 147, 2018.
- RODRIGUEZ, A. G. *et al.* Bioensaio com *artemia salina* para detecção de toxinas em alimentos vegetais armando. **Estudos**, v. 36, n. 5/6, p. 795–808, 2012.
- SAHA, S. Phytochemical screening and comparative study of antioxidative properties of the fruits and leaves of *Spondias mombin* in Bangladesh. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 8, n. 2, p. 379-383, 2019.
- SALGADO, J. A.; SANTOS, C. P. Overview of anthelmintic resistance of gastrointestinal nematodes of small ruminants in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 25, p. 3-17, 2016.
- SAMEH, S. *et al.* Genus *Spondias*: A Phytochemical and Pharmacological Review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2018, ID 5382904, p: 1-13, 2018.
- SANTOS, F. O. *et al.* Anthelmintic activity of plants against gastrointestinal nematodes of goats: A review. **Parasitology**, v. 146, n. 10, p. 1233-1246, 2019.
- SILVA, I.M.; FERNANDES, M.V.B.; MENEZES, L.M. Evaluation of an intensified sheep farming system based in nature pasture in Rio Grande do Sul. **Conjecturas**, v. 21, n. 5, 2021.
- SILVA, M. *et al.* Avaliação da atividade anti-helmíntica *in vitro* de extratos vegetais sobre ovos de *Haemonchus contortus*. **Multiciências**, v.16, p: 23-38, 2017.

SILVA, T.P.D. *et al.* *Trichostrongylus colubriformis* infection: impact on digesta passage rate and lamb performance. **Veterinary parasitology**, v. 272, p. 17-22, 2019.

SOROKOVA, S. *et al.* Pathohistological changes in the intestine, lungs and liver of sheep with spontaneous strongyloidiasis. **Regulatory Mechanisms in Biosystems**, v.12, n.2, p.341-345, 2021.

UENO, H.; GONÇALVES, V.C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. Tóquio: Japan International Cooperation Agency, 1998. 143p.

VASCONCELOS, A. L.; DE VASCONCELOS, A. L.; RANDAU, K. P. Pharmacognostic characterization of *Spondias mombin* L.(Anacardiaceae). **Pharmacognosy Journal**, v. 8, n. 6, p: 513-519, 2016.

ZAJAC, A.M.; GARZA, J. Biology, Epidemiology and Control of Gastrointestinal Nematodes of Small Ruminants. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 36, n. 1, p. 73-87, 2020.