



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOCÊNCIAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

RANNY MARIA LEITE LOPES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE OVICIDA *in vitro* DO EXTRATO SALINO
DA FOLHA DE *Cymbopogon citratus* L. COMO ALTERNATIVA PARA O
CONTROLE DE NEMATOIDES GASTROINTESTINAIS EM OVINOS**

Mossoró/RN

2025

RANNY MARIA LEITE LOPES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE OVICIDA *in vitro* DO EXTRATO SALINO
DA FOLHA DE *Cymbopogon citratus* L. COMO ALTERNATIVA PARA O
CONTROLE DE NEMATOIDES GASTROINTESTINAIS 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.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Carla Diógenes
Suassuna Bezerra

Mossoró/RN

2025

© 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.

L864a Lopes, Ranny Maria Leite.
 Avaliação da atividade ovicida in vitro do
 extrato salino da folha de *Cymbopogon citratus* L.
 como alternativa para o controle de nematoides
 gastrointestinais em ovinos / Ranny Maria Leite
 Lopes. - 2025.
 41 f. : il.

 Orientadora: Ana Carla Diógenes Suassuna
 Bezerra.
 Monografia (graduação) - Universidade Federal
 Rural do Semi-árido, Curso de Biotecnologia,
 2025.

 1. Ovinocultura. 2. Endoparasitos. 3.
 Resistência parasitária. 4. Fitoterapia. 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.

RANNY MARIA LEITE LOPES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE OVICIDA *in vitro* DO EXTRATO SALINO
DA FOLHA DE *Cymbopogon citratus* L. COMO ALTERNATIVA PARA O
CONTROLE DE NEMATOIDES GASTROINTESTINAIS EM OVINOS**

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

Defendido em: 29 de julho de 2025

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **ANA CARLA DIOGENES SUASSUNA BEZERRA**
Data: 29/07/2025 10:21:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

(Profa. Dra. Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra)
Orientadora

Documento assinado digitalmente
 **RENATA CRISTINA BORGES DA SILVA MACEDO**
Data: 29/07/2025 10:25:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

(Mestre Renata Cristina Borges da Silva Macedo)
Examinadora

Documento assinado digitalmente
 **YANDRA THAIS ROCHA DA MOTA**
Data: 29/07/2025 10:28:44-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

(Mestre Yandra Thais Rocha da Mota)
Examinadora

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela força, discernimento e sabedoria ao longo desta jornada.

À minha família, por sempre me incentivar e torcer pelo meu sucesso, em especial à minha mãe, Dulcineide da Costa Leite, por se dedicar tanto a mim e me apoiar em todos os momentos. Amo você!

À minha orientadora, Profa. Dra. Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra, por todos os ensinamentos e incentivos, pela paciência, dedicação e por acreditar no meu potencial.

Aos membros da banca examinadora, Profa. Mestre Renata Cristina Borges da Silva Macedo e Profa. Mestre Yandra Thais Rocha da Mota, pela disponibilidade, empenho e considerações que contribuíram para o aprimoramento deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Parasitologia Diagnóstica e Experimental (LPDE), pelo auxílio nos experimentos e partilhas ao longo da jornada acadêmica.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por proporcionar o Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), que incentiva pesquisas tecnológicas e de inovação, como o presente estudo.

À todos que contribuíram direta ou indiretamente para o desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

A ovinocultura representa uma importante atividade socioeconômica no Brasil, principalmente na região Nordeste. Contudo, alguns fatores limitam a criação de pequenos ruminantes, incluindo a vulnerabilidade climática capaz de favorecer diferentes parasitoses, o manejo sanitário inadequado destes animais e o uso excessivo e irracional de antiparasitários químicos sintéticos, o que reduz as taxas de produtividade e acarreta perdas econômicas, desencadeia problemas ambientais e de saúde pública e compromete o arsenal farmacológico disponível no mercado, devido aos mecanismos de resistência dos parasitos. Diante disso, tem-se a fitoterapia como uma medida alternativa de controle, devido à presença de inúmeros compostos bioativos naturais. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* a atividade anti-helmíntica do extrato salino da folha de *Cymbopogon citratus* L. (Capim-limão ou capim-santo) sobre ovos de nematoides gastrointestinais em ovinos. Para isso, o material vegetal foi coletado e processado para o preparo do extrato salino nas concentrações 10%, 5%, 2,5% e 1,25%, enquanto as amostras fecais foram coletadas de rebanhos ovinos naturalmente infectados e passaram pelo processo de contagem do número de ovos por grama de fezes para confirmar a infecção parasitária. Para a realização do Teste de Eclosão de Ovos, os ovos foram recuperados e incubados junto ao extrato. A análise da composição fitoquímica foi feita a partir do pó de folhas de *C. citratus* L., através de reações colorimétricas, de precipitação e de fluorescência; e o teste de toxicidade aguda *in vitro* do extrato foi realizado a partir de bioensaios com náuplios de *Artemia salina*. O extrato inibiu a eclosão dos ovos em 97,4%, 95,3%, 85,6% e 56,6% para as concentrações de 10%, 5%, 2,5% e 1,25%, respectivamente. Nas análises fitoquímicas, foram identificadas classes metabólicas, como fenóis, taninos, saponinas, flavonóides, esteróides e alcaloides; entretanto, o extrato apresentou toxicidade em todas as concentrações para os organismos testados. Por fim, conclui-se que o extrato salino da folha de *C. citratus* L. apresentou atividade ovicida sobre os parasitos gastrointestinais estudados, tornando-se uma alternativa com potencial promissor para a indústria farmacêutica na área da caprinovinocultura.

Palavras-chave: Ovinocultura. Endoparasitos. Resistência parasitária. Fitoterapia.

ABSTRACT

Sheep farming is an important socioeconomic activity in Brazil, especially in the Northeast region. However, some factors limit the raising of small ruminants, including climate vulnerability that can favor different parasitic diseases, inadequate sanitary management of these animals, and the excessive and irrational use of synthetic chemical antiparasitics, which reduces productivity rates and causes economic losses, triggers environmental and public health problems, and compromises the pharmacological arsenal available on the market due to parasite resistance mechanisms. Therefore, phytotherapy is an alternative control measure due to the presence of numerous natural bioactive compounds. Therefore, the objective of this study was to evaluate *in vitro* the anthelmintic activity of the saline extract of the leaf of *Cymbopogon citratus* L. (lemongrass) on gastrointestinal nematode eggs in sheep. For this purpose, the plant material was collected and processed to prepare the saline extract at concentrations of 10%, 5%, 2.5% and 1.25%, while the fecal samples were collected from naturally infected sheep flocks and underwent the process of counting the number of eggs per gram of feces to confirm the parasitic infection. To perform the Egg Hatching Test, the eggs were recovered and incubated with the extract. The phytochemical composition analysis was performed using *C. citratus* L. leaf powder through colorimetric, precipitation and fluorescence reactions; and the acute toxicity test of the extract was performed using bioassays with *Artemia salina* nauplii. The extract inhibited egg hatching by 97.4%, 95.3%, 85.6% and 56.6% for concentrations of 10%, 5%, 2.5% and 1.25%, respectively. In the phytochemical analysis, metabolic classes such as phenols, tannins, saponins, flavonoids, steroids and alkaloids were identified; however, the extract showed toxicity at all concentrations for the organisms tested. Finally, it is concluded that the saline extract of the leaf of *C. citratus* L. showed ovicidal activity on the gastrointestinal parasites studied, becoming an alternative with promising potential for the pharmaceutical industry in the area of goat and sheep farming.

Keywords: Sheep farming. Endoparasites. Parasite resistance. Phytotherapy.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	11
2.1 INFLUÊNCIA DOS PARASITOS NOS HOSPEDEIROS	11
2.2 CONTROLE PARASITÁRIO POR MÉTODOS QUÍMICOS	12
2.3 RESISTÊNCIA PARASITÁRIA	13
2.4 PRINCIPAIS MÉTODOS ALTERNATIVOS DE CONTROLE	14
2.4.1 Fungos Nematófagos	14
2.4.2 Homeopatia	16
2.4.3 Fitoterapia	16
2.4.3.1 <i>Cymbopogon citratus</i> L.	17
3. OBJETIVOS	18
3.1 OBJETIVO GERAL	18
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
4. MATERIAIS E MÉTODOS	19
4.1 PRECEITOS ÉTICOS E LEGAIS	19
4.2 ÁREA DE ESTUDO	19
4.3 COLETA DO MATERIAL VEGETAL	19
4.4 PREPARO DO EXTRATO SALINO	19
4.5 ANÁLISE FITOQUÍMICA	20
4.6 COLETA DAS AMOSTRAS FECAIS E ANÁLISE DE OPG	20
4.7 RECUPERAÇÃO DOS OVOS E TESTE DE ECLOSÃO DE OVOS (TEO)	20
4.8 TESTE DE TOXICIDADE AGUDA <i>in vitro</i>	21
4.9 ANÁLISE DE DADOS	22
4.9.1 Teste de Eclosão de Ovos (TEO)	22
4.9.2 Teste de Toxicidade Aguda <i>in vitro</i>	22
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5.1 ANÁLISE FITOQUÍMICA	22
5.2 TESTE DE ECLOSÃO DE OVOS (TEO)	26
5.3 TESTE DE TOXICIDADE AGUDA <i>in vitro</i>	28

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
REFERÊNCIAS	30

1. INTRODUÇÃO

A criação de pequenos ruminantes, incluindo a ovinocultura, é uma atividade praticada em diferentes lugares do mundo, sendo considerada de extrema importância para o seu desenvolvimento socioeconômico (Meneses *et al.*, 2021; Darcan *et al.*, 2024). Dentre estes salienta-se o Brasil entre os países que apresentam maior atividade pecuarista, com destaque para a região Nordeste, onde se concentra a maior parte do rebanho nacional (IBGE, 2023). Entretanto, suas características climáticas proporcionam condições de temperatura e umidade favoráveis para o desenvolvimento parasitário (Amaral Neto *et al.*, 2021), que associado ao manejo sanitário inadequado, aumentam as infecções nos rebanhos (Williams *et al.*, 2024).

Assim, ocorre a utilização rotineira e muitas vezes indiscriminada, de produtos anti-helmínticos químicos sintéticos, que possibilita o aumento de parasitos resistentes, afetando negativamente a produtividade destes animais, devido aos sintomas de infecção, podendo levar o rebanho a óbito (Roberto *et al.*, 2018; Rocha *et al.*, 2020; Freitas *et al.*, 2023). Tais condições podem acarretar perdas econômicas e desencadear problemas de saúde pública, devido à presença de resíduos de medicamentos em carnes e outros produtos animais que são consumíveis pela população, bem como problemas ambientais, em razão da eliminação destas drogas nas excretas dos animais em pastagens, contaminando solos e lençóis freáticos (Ogedengbe *et al.*, 2021).

Considerando que a parasitose gastrointestinal em pequenos ruminantes corresponde à principal patologia que acomete estes animais (Aquino *et al.*, 2016; Kovaļčuka *et al.*, 2022), a fitoterapia vem como medida alternativa de controle (Ferreira *et al.*, 2019; Mota *et al.*, 2025), considerando o interesse atual pelo desenvolvimento de sistemas agropecuários sustentáveis (Klavina *et al.*, 2023).

De acordo com pesquisas realizadas, o material biológico vegetal pode atuar como uma medida de tratamento viável e tem como vantagens a presença de bioativos naturais, alta disponibilidade, facilidade de produção, menor contaminação ambiental e, normalmente, baixa toxicidade (Lima *et al.*, 2017; Mota *et al.*, 2025). Por isso, as propriedades fitoquímicas e terapêuticas de plantas medicinais têm sido cada vez mais exploradas ao longo das décadas e o uso dos seus compostos bioativos derivados se tornou uma tendência global crescente como uma alternativa aos produtos químicos sintéticos (Mubeen *et al.*, 2025).

Dentre as espécies de plantas fitoterápicas, vale ressaltar *Cymbopogon citratus*, uma planta herbácea perene de aroma cítrico que pertence à família Poaceae e é conhecida

popularmente no Brasil como capim-limão, capim-santo ou capim-cidreira (Oliveira; Santos, 2021; Rahhal *et al.*, 2024). Esta erva medicinal é cultivada em todo o mundo e apresenta um histórico de extensas aplicações terapêuticas em vários países, sendo reconhecida por seus efeitos antibacterianos, antifúngicos, antivirais, antioxidantes, anti-inflamatórios, antitumorais e outros (Kieltyka-Dadasiewicz *et al.*, 2024), além da sua atividade anti-helmíntica em pequenos ruminantes (Macedo *et al.*, 2015).

Neste contexto, tem-se como problemática do estudo: O extrato salino desenvolvido a partir de folhas de *C. citratus* L. apresenta atividade ovicida *in vitro* contra nematoides gastrointestinais em ovinos?

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 INFLUÊNCIA DOS PARASITOS NOS HOSPEDEIROS

A produção agropecuária contribui para a segurança alimentar, gera empregos e fornece matérias-primas imprescindíveis para diversas indústrias, impulsionando a economia (Henry *et al.*, 2024). Uma das principais atividades pecuárias, é a criação de ovinos, uma vez que atua como uma importante fonte de renda para a população, principalmente nos países em desenvolvimento, produzindo carne, leite, fibras, lã, peles, pelo e outros produtos de interesse econômico, além do esterco desses animais, que pode ser aplicado na agricultura orgânica (AlFraj, 2024). Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no ano de 2023, o rebanho de ovinos contava com 21.792.139 cabeças, sendo a Bahia o maior produtor, com 5.005.629 cabeças.

Por outro lado, o manejo inadequado e más condições sanitárias, podem afetar a saúde e o bem-estar animal e torná-los suscetíveis a doenças, o que reduz significativamente a produtividade dos rebanhos e leva a perdas econômicas consideráveis (Geddes *et al.*, 2024).

Dentre os principais entraves para a saúde e o crescimento da produção de ovinos em todo o mundo, destacam-se as parasitoses gastrointestinais, que compreendem diversas espécies de nematoides capazes de infectar, de forma mista, o intestino e o abomaso de ovelhas em pastejo, com altos custos associados ao tratamento e às perdas de produção (Cunha *et al.*, 2024). Os animais acometidos podem apresentar perda de peso, diarreia, anorexia, quadros de anemia e hipoproteinemia, entre outras implicações, cuja intensidade está diretamente relacionada ao nível de parasitismo, que podem levar à óbito (Pereira *et al.*, 2021; Štrbac *et al.*, 2022).

Tais fatores diminuem o potencial produtivo e reprodutivo dos animais, o que acarreta em grandes perdas econômicas para as indústrias de criação, devido à diminuição da produção de leite, redução da qualidade da carne e do crescimento da lã, além do aumento das taxas de morbidade e mortalidade (Štrbac *et al.*, 2023).

Dentre os nematoides gastrointestinais com maior relevância clínica e econômica sobre rebanhos de ovinos no Brasil, destacam-se os da família Trichostrongylidae, os quais são altamente prevalentes em regiões tropicais e subtropicais, como *Haemonchus contortus*, que é considerado um dos mais patogênicos, apresenta alto potencial biótico e causa dispepsia, anemia e até morte, devido aos seus hábitos hematófagos (Cain *et al.*, 2024). Além de *Trichostrongylus* spp., com predominância de *Trichostrongylus colubriformis*, *Cooperia* spp., *Ostertagia* spp. e outros gêneros, como *Oesophagostomum* spp. e *Strongyloides* sp., que pertencem às famílias Strongylidae e Strongyloididae, respectivamente (Bassetto *et al.*, 2024; Cunha *et al.*, 2024). Assim, faz-se necessário a aplicação de métodos de controle, no intuito de minimizar os danos ocasionados por estes parasitos no animal.

2.2 CONTROLE PARASITÁRIO POR MÉTODOS QUÍMICOS

O controle das infecções parasitárias é convencionalmente realizado pela aplicação de medicamentos químicos sintéticos (Chai; Jung; Hong, 2021). Dentre as classes de anti-helmínticos amplamente disponíveis no mercado e mais utilizadas em pequenos ruminantes, tem-se os benzimidazóis, os imidazotiazóis e as avermectinas, que se caracterizam como medicamentos alopáticos de amplo espectro de ação (Mickiewicz *et al.*, 2021).

Os benzimidazóis, compostos por tiabendazol, mebendazol, albendazol, parbendazol, fembendazol, oxibendazol e outros, são agentes anti-helmínticos que se ligam à β -tubulina e impedem a polimerização dos microtúbulos, estruturas fundamentais para a manutenção da homeostase celular, e isso acaba causando imobilização e morte dos vermes; além disso, apresentam outros mecanismos de ação, pela inibição da enzima fumarato-redutase, redução do transporte de glicose e desacoplamento de fosforilações oxidativas (Katzung; Trevor, 2017; Osório *et al.*, 2020).

Os imidazotiazóis, incluindo levamisol e tetramisol, atuam como agonistas de receptores nicotínicos de acetilcolina, promovendo uma despolarização da membrana celular, o que provoca contração muscular e paralisia do verme (Martin; Robertson; Bjorn, 1997).

As avermectinas, como ivermectina, abamectina, doramectina, selamectina,

eprinomectina e outras, são lactonas macrocíclicas, derivadas de processos fermentativos a partir do fungo *Streptomyces avermitilis*, que atuam na ativação de canais de cloreto regulados por glutamato, ocasionando hiperpolarização, bloqueio da transmissão neuromuscular e paralisia do verme, inclusive da faringe (Martin; Robertson; Bjorn, 1997).

A administração imoderada destes fármacos, principalmente na medicina veterinária e na agropecuária, somado ao seu descarte inadequado no meio ambiente e às suas propriedades de persistência e bioacumulação, vem gerando uma preocupação crescente em virtude dos diversos impactos aos sistemas ecológicos aquáticos e terrestres (Silva *et al.*, 2023). Estudos relataram a presença de resíduos de medicamentos anti-helmínticos em diferentes ambientes e organismos não-alvo, compreendendo solos, culturas agrícolas, recursos hídricos (Charuaud *et al.*, 2019), ecossistemas aquáticos (Wang *et al.*, 2019), animais invertebrados, bem como em produtos animais para consumo humano (Imperiale *et al.*, 2004), provenientes das atividades pecuárias, incluindo leite e carnes, o que corrobora a abordagem integrativa da Saúde Única ou “*One Health*” (Lumaret *et al.*, 2012; Mahefarisoa *et al.*, 2021). Além disso, o uso indiscriminado dos anti-helmínticos químicos sintéticos levou ao desenvolvimento de populações de parasitos resistentes (Maurizio *et al.*, 2023).

2.3 RESISTÊNCIA PARASITÁRIA

O uso intensivo e inadequado de anti-helmínticos, que inclui repetidas aplicações em um curto intervalo de tempo, dosagens elevadas, bem como a desinformação dos produtores, associado à facilidade de acesso aos medicamentos, contribuiu para a rápida evolução da resistência na maioria das populações de parasitos, principalmente em nematoides gastrointestinais de ovinos, bovinos, caprinos e equinos (Fissiha; Kinde, 2021), resultando em cepas multirresistentes até mesmo às moléculas mais recentes (McEvoy *et al.*, 2024). Isso porque a resistência anti-helmíntica é um fenômeno hereditário, uma vez que os genes de resistência são selecionados e repassados para as gerações seguintes, pelos parasitos sobreviventes aos tratamentos (Mphahlele *et al.*, 2021).

Por consequência, esta resistência impede que os anti-helmínticos mantenham a mesma eficácia contra os parasitos, quando utilizados nas mesmas condições por um determinado período de tempo (Osório *et al.*, 2020). De acordo com a Associação Mundial para o Avanço da Parasitologia Veterinária (WAAVP), a eficácia anti-helmíntica apenas é comprovada quando há uma redução $\geq 90\%$ na contagem de parasitos do grupo tratado, em comparação ao grupo

controle (Geurden *et al.*, 2022).

Em todo o mundo, os relatos de resistência anti-helmíntica vêm aumentando consideravelmente e, no Brasil, esta situação tem se tornado alarmante, devido aos inúmeros casos relatados na literatura de resistência generalizada às classes de fármacos atualmente disponíveis, incluindo benzimidazóis, imidazotiazóis e avermectinas (Mphahlele *et al.*, 2021), o que ameaça a produção da indústria pecuária (Bassetto *et al.*, 2024). Em fazendas leiteiras, por exemplo, o risco de resistência é consideravelmente elevado, uma vez que somente alguns anti-helmínticos estabelecidos no mercado atual são compatíveis com a lactação, contribuindo para que os produtores continuem administrando os mesmos princípios ativos todos os anos, o que aumenta as chances de resistência (Sautier; Chiron, 2023).

Os parasitos desenvolvem esta resistência a partir de mecanismos, que geralmente incluem o aumento da metabolização do fármaco, a regulação positiva de mecanismos de efluxo celular, a alteração do local dos receptores do fármaco, bem como a limitação da quantidade destes receptores, por meio de expressão gênica reduzida ou por vias de regulação negativa (Fissiha; Kinde, 2021). Atrelado a isso, algumas características intrínsecas a estes organismos favorecem o desenvolvimento e o repasse dos genes de resistência, como a alta taxa de reprodução, ciclo de vida curto, formas de reprodução assexuada e sexuada, adaptabilidade ao meio, grandes tamanhos populacionais, diversidade genética e outras (Szewc; Waal; Zintl, 2021).

Considerando estes fatores, a perda de produção em rebanhos ovinos é mundialmente agravada pelo aumento da resistência parasitária aos principais grupos de anti-helmínticos, e isso ameaça a capacidade futura das indústrias pecuárias de gerenciar de maneira efetiva as consequências das infecções por nematoides intestinais (Geddes *et al.*, 2024).

Diante disso, estudos recentes têm buscado desenvolver métodos alternativos de controle que sejam sustentáveis, minimizando os efeitos negativos dos medicamentos químicos aos ecossistemas aquáticos e terrestres e aos produtos animais, e preservem a longo prazo a capacidade de gerenciamento das parasitoses gastrointestinais, retardando o desenvolvimento da resistência anti-helmíntica (McEvoy *et al.*, 2024).

2.4 PRINCIPAIS MÉTODOS ALTERNATIVOS DE CONTROLE

2.4.1 Fungos Nematófagos

O uso de fungos nematófagos como estratégia para o controle biológico de nematoides

gastrointestinais, em condições de laboratório e em campo, tem se mostrado uma abordagem sustentável promissora, uma vez que não libera contaminantes ou substâncias indesejáveis no meio ambiente, atuando como uma alternativa eficaz e segura, comprovada em diversos estudos (Hao *et al.*, 2024).

Comumente estes fungos são adicionados, na forma pura ou em combinação com outros fungos nematófagos, às rações animais sob diferentes formas farmacêuticas, como por exemplo, a partir de preparações liofilizadas (Hao *et al.*, 2024). Ao serem ingeridos, os esporos conseguem sobreviver à passagem pelo trato gastrointestinal e germinar no material fecal excretado pelos animais em pastagens, onde exercem sua atividade predatória sobre larvas infectantes (L3) de vida livre, reduzindo a contaminação do ambiente e dos produtos de origem animal, pela diminuição do uso de produtos químicos, bem como a reinfecção animal (Liu *et al.*, 2020; Hao *et al.*, 2024).

Nos últimos anos, diversos estudos conduzidos demonstraram a alta eficácia de fungos nematófagos na captura e neutralização de larvas em estágio infeccioso a partir da geração de armadilhas adesivas, que se propagam pelo solo e, ao entrarem em contato com as larvas de nematoides, realizam processos de aderência e imobilização, permitindo que o fungo em questão penetre a cutícula e se alimente da larva (Delmilho *et al.*, 2024).

Dentre os isolados de fungos mais estudados e aplicados no biocontrole de helmintos gastrointestinais em ovinos, destacam-se os gêneros *Duddingtonia* spp., *Arthrobotrys* spp e *Monacrosporium* spp., uma vez que apresentam maior potencial em termos de praticidade de uso e comercialização e resistência a intempéries, devido à presença de estruturas como clamidósporos, conidióforos, conídios e outras (Szewc; Waal; Zintl, 2021; Delmilho *et al.*, 2024).

A espécie *Duddingtonia flagrans* é considerada uma das mais importantes no controle de nematoides gastrointestinais de ruminantes (Paoletti *et al.*, 2024), demonstrando uma eficácia considerável de 37,6–91,5% e 58,7–96,4% contra larvas de terceiro estágio em ovinos e bovinos, respectivamente (Szewc; Waal; Zintl, 2021). No ano de 2019, inclusive, foi autorizado a comercialização pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) sob o nº de licenciamento SP-10.261/2019 do produto BioVerm® (Ghenvet Biotecnologia LTDA), uma formulação fúngica brasileira desenvolvida a partir de *D. flagrans* indicada para o controle de helmintíases gastrointestinais em ruminantes e equinos (Braga *et al.*, 2020). Estudos posteriores demonstraram a alta capacidade predatória desta formulação comercial, sendo eficaz na redução

de larvas infectantes (L3) em fezes de ovinos (Braga *et al.*, 2020; Rodrigues *et al.*, 2022), bovinos (Rodrigues *et al.*, 2021) e equinos (Fausto *et al.*, 2021; Nunes *et al.*, 2023).

2.4.2 Homeopatia

A utilização da terapia homeopática em animais de produção para o controle de parasitoses gastrointestinais vem sendo investigada nos últimos anos, uma vez que ela estimula o sistema imune dos organismos a combater inúmeras infecções a partir de seus mecanismos de defesa naturais, restabelecendo o equilíbrio imunológico individual dos animais sem atuar propriamente sobre os agentes causadores (Pacheco *et al.*, 2019).

Dessa forma, contribui para a redução do uso de medicamentos veterinários alopáticos, minimizando a resistência dos endoparasitos distribuída em vários rebanhos e a presença de resíduos em ambientes e organismos não-alvo, bem como em produtos animais oriundos da atividade pecuária (Oliveira *et al.*, 2020).

Estudos realizados por Oliveira e colaboradores (2020) e Pereira e colaboradores (2021) para avaliar o efeito do tratamento homeopático em rebanhos ovinos naturalmente infectados, demonstraram que a aplicação dos seus respectivos produtos homeopáticos apresentou resultados semelhantes aos tratamentos alopáticos; além disso, não afetou a rotina de manejo e o desempenho dos animais, resultando em um maior ganho de peso destes, uma vez que a homeopatia torna-os mais tolerantes à infecção (Molento *et al.*, 2013).

Diante disso, e considerando seu baixo efeito residual, pois utiliza substâncias diluídas e dinamizadas, a homeopatia vem se mostrando uma abordagem alternativa com ótimo custo-benefício e potencial para atender às exigências do mercado atual no que diz respeito ao controle integrado das parasitoses gastrointestinais (Giulioti *et al.*, 2016; Pereira *et al.*, 2021).

2.4.3 Fitoterapia

As plantas medicinais têm sido utilizadas para fins terapêuticos, contra diversas patologias, desde 2600 a.C. (Davis; Choisy, 2024); no entanto, por milênios, seus usos permaneceram voltados aos conhecimentos tradicionais, com base em costumes e culturas de populações, os quais eram repassados ao longo das gerações sem qualquer tipo de validação científica (Castagna *et al.*, 2022).

A busca por medicamentos fitoterápicos à base de plantas medicinais vem se expandindo rapidamente em todo o mundo nas últimas décadas, especialmente na produção pecuária, devido

aos efeitos negativos dos medicamentos alopáticos convencionais utilizados no controle de helmintíases intestinais, que incluem alto poder residual e desenvolvimento de resistência anti-helmíntica, ao alto custo dos insumos e ao interesse atual por abordagens naturais e sustentáveis em sistemas de produção (Kuralkar; Kuralkar, 2021).

Diferentes estudos biotecnológicos e etnobotânicos veterinários identificaram espécies de plantas que apresentam compostos bioativos com potencial anti-helmíntico benéfico para os animais, apoiando seu uso como vermícidias em ruminantes (Agnes *et al.*, 2023; Challaton *et al.*, 2024). As folhas e as cascas são as partes da planta mais comumente utilizadas, e a decocção e a maceração estão entre os principais métodos de extração de seus metabólitos (Challaton *et al.*, 2024).

O estudo de revisão realizado por Agnes e colaboradores (2023) relatou várias espécies de plantas medicinais nativas do Brasil, representantes de todos os seis biomas brasileiros, que apresentam propriedades anti-helmínticas validadas cientificamente, incluindo *Baccharis crispa*, *Senna occidentalis* L., *Hymenaea courbaril* L., *Stachytarpheta cayennensis*, *Annona glabra* L., *Carapa guianensis* Aubl., *Spigelia anthelmia* L., *Anacardium occidentale* L., *Hymenaea stigonocarpa*, dentre outras.

Além disso, diversos estudos experimentais, normalmente *in vitro*, demonstraram a atividade anti-helmíntica de extratos ou óleos essenciais de diferentes espécies vegetais sobre nematoides gastrointestinais de ovinos e outros ruminantes, a citar *Punica granatum* (Kaiaty *et al.*, 2023), *Thymus capitatus* (Amel *et al.*, 2024), *Azadirachta indica* (Herrera *et al.*, 2023), *Origanum vulgare* L. (Štrbac *et al.*, 2022), *Mentha x piperita* L. (Štrbac *et al.*, 2023), *Tanacetum vulgare* L. (Klavina *et al.*, 2023), *Pimenta dioica* (Jiménez-Penago *et al.*, 2021), *Cymbopogon citratus* (Rocha *et al.*, 2020), entre outras.

Considerando que existem mais de 400.000 espécies de plantas e que menos de 10% foram investigadas quanto à sua caracterização bioquímica e atividade farmacológica, é imprescindível a realização de mais estudos para explorar o potencial terapêutico de outras moléculas, visando a descoberta de novos fármacos contra infecções parasitárias e outras patologias (Romano; Lucariello; Capasso, 2021).

2.4.3.1 *Cymbopogon citratus* L.

Cymbopogon citratus, comumente chamada no Brasil de capim-santo, capim-limão, capim-cidreira ou capim-cidrô, é uma espécie de planta herbácea perene pertencente à família

Poaceae e nativa da Índia e outras regiões da Ásia tropical e subtropical (Rocha *et al.*, 2020). Apresenta folhas verdes finas, alongadas e ásperas, que exalam um aroma fortemente cítrico que remete ao limão, fonte de seu nome; além disso, é facilmente cultivada em locais de clima tropical, como grande parte do território brasileiro, uma vez que se desenvolve preferencialmente em regiões de clima quente e úmido (Oliveira; Santos, 2021).

Esta erva medicinal dispõe de um longo histórico de aplicações tradicionais relatadas em diferentes países e culturas, por suas propriedades protetoras gástricas, calmantes, antipiréticas, diaforéticas, diuréticas, reguladoras do ciclo menstrual, analgésicas, antigripais, anti-inflamatórias, antiespasmódicas e antissépticas (Kieltyka-Dadasiewicz *et al.*, 2024). Além disso, diversos estudos etnofarmacológicos presentes na literatura indicaram seus efeitos antibacterianos, antifúngicos, antivirais, repelentes de insetos, antioxidantes, hipotensores, neuroprotetores, ansiolíticos, antidiabéticos, antitumorais/anticâncer e outros, incluindo o seu potencial anti-helmíntico, os quais estão relacionados aos seus inúmeros componentes bioativos (Rocha *et al.*, 2020; Du *et al.*, 2023; Rahhal *et al.*, 2024).

Mais de 150 constituintes de *C. citratus* foram relatados, incluindo terpenoides, flavonoides, ácidos fenólicos e polissacarídeos (Du *et al.*, 2023), porém, a composição química de seus extratos e óleos essenciais pode variar dependendo da região, tipo de solo, clima, e condições de cultivo, da idade da planta, do período e horário de colheita, entre outros fatores (Kieltyka-Dadasiewicz *et al.*, 2024).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar *in vitro* a atividade ovicida do extrato salino obtido a partir das folhas de *Cymbopogon citratus* L. como controle alternativo de nematoides gastrintestinais em ovinos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar o perfil fitoquímico das principais classes de metabólitos secundários presentes nas folhas de *Cymbopogon citratus* L.;
- Comparar os efeitos *in vitro* em diferentes concentrações do extrato salino das folhas de *C. citratus* L. sobre ovos de nematoides gastrointestinais em ovinos;
- Avaliar a toxicidade aguda do extrato salino das folhas de *C. citratus* L. sobre náuplios de

Artemia salina.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 PRECEITOS ÉTICOS E LEGAIS

O estudo realizado foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA (número do parecer 027/2024) e pelo Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado - SisGen (número de cadastro AFA5243 e A137FA3).

4.2 ÁREA DE ESTUDO

O estudo foi conduzido no município de Mossoró, Estado do Rio Grande do Norte, que se caracteriza por apresentar um clima predominantemente semiárido com temperatura média anual de 27,8 °C, condição esta considerada ideal para o desenvolvimento parasitário. Todos os procedimentos experimentais foram realizados no Laboratório de Parasitologia Diagnóstica e Experimental (LPDE) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).

4.3 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

As folhas da espécie *Cymbopogon citratus* foram coletadas na Farmácia Viva, localizada no Campus Leste da UFERSA e, para facilitar a remoção, retirou-se diretamente do pé utilizando material cortante. Uma amostra foi encaminhada ao Herbário Dárdano de Andrade-Lima da mesma instituição, onde foi confirmada a identificação taxonômica da espécie (Exsicata número 16033).

Posteriormente, as folhas foram encaminhadas para o laboratório, onde foram lavadas, passaram por um processo de seleção visual, sendo escolhidas as folhas sem danos morfológicos visíveis, e foram postas para secagem completa em bancada à temperatura ambiente, durante um período de aproximadamente oito dias.

4.4 PREPARO DO EXTRATO SALINO

Para a obtenção do extrato, as folhas secas foram trituradas e passadas em peneira até a obtenção de um pó extremamente fino, a partir do qual pesou-se 20 g para diluição em 200 mL de solução de NaCl 0,15M, com posterior realização da extração a 10% (peso/volume) sob agitação magnética constante por 16 horas à temperatura ambiente. Após a extração, com o auxílio de malhas finas, o líquido resultante foi filtrado e submetido à centrifugação (8.000 rpm; 20 min; 4

°C) para retirada e armazenamento do sobrenadante, que corresponde ao extrato salino bruto (10%), a partir do qual foram realizadas diluições em solução salina 0,15M para a obtenção das concentrações de 5%, 2,5% e 1,25% (Nelson; Cox, 2014).

4.5 ANÁLISE FITOQUÍMICA

A análise da composição fitoquímica foi realizada com base na metodologia descrita por Matos (2008). Para identificar as classes metabólicas presentes, o pó obtido das folhas de *C. citratus* L. foi submetido a reações colorimétricas, de precipitação e de fluorescência.

Assim, foi realizado o Teste de Fluorescência para detectar a presença ou ausência da classe metabólica das cumarinas, a Reação de Cianidina ou Shinoda para identificar os flavonoides, a Reação com Cloreto Férrico para os fenóis, os testes com os Reagentes de Wagner (iodo iodeto de potássio) e Bertrand (ácido sílico túngstico) para alcaloides, a Reação de Borträger direta para antraquinonas livres, a Reação de Liebermann-Burchard e Reação de Salkowski para a determinação e diferenciação de triterpenos (núcleos triterpênicos) e esteróides (núcleos esteroidais), o Teste de formação de espuma para saponinas, o Teste de precipitação por gelatina para taninos livres e a Reação de Stiasny para detectar taninos condensados e taninos hidrolisáveis.

4.6 COLETA DAS AMOSTRAS FECAIS E ANÁLISE DE OPG

As amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal de ovinos provenientes de rebanhos naturalmente infectados, sem tratamento antiparasitário nos últimos 90 dias, tendo estes sido selecionados de forma aleatória, independentemente do tamanho, idade ou sexo.

Logo após a coleta, as amostras foram encaminhadas para o laboratório, onde foi feita a contagem do número de ovos por grama de fezes (OPG), pela adição de 26 mL de solução hipersaturada de cloreto de sódio (NaCl) em amostras de 4 g de fezes e leitura em microscópio óptico em lente objetiva de 10x utilizando a Câmara de McMaster, sendo o resultado multiplicado por 25, que corresponde ao fator de correção da Câmara (Gordon; Whitlock, 1939; Chagas *et al.*, 2011).

4.7 RECUPERAÇÃO DOS OVOS E TESTE DE ECLOSÃO DE OVOS (TEO)

Considerando o diagnóstico positivo superior a 2.000 ovos, a recuperação foi feita de acordo com a metodologia de Hubert e Kerboeuf (1992). Dessa forma, as fezes passaram por uma sequência de peneiras com aberturas de 0,15, 0,10, 0,036 e 0,02 mm. Ao final do processo, o

volume resultante foi distribuído em tubos Falcon, com posterior centrifugação (4.000 rpm; 5 min), descarte do sobrenadante, adição de solução salina hipersaturada ao precipitado formado e nova centrifugação nas mesmas condições; por fim, o sobrenadante foi adicionado à peneira de 0,02 mm, sendo feita a lavagem dos ovos retidos.

Os ovos recuperados foram utilizados na avaliação da atividade anti-helmíntica do extrato salino de *C. citratus* por meio do Teste de Eclosão de Ovos (TEO), seguindo a metodologia descrita por Coles e colaboradores (2006). Sendo assim, foram utilizadas placas de 24 poços contendo, em cada poço, 100 µL da solução de ovos e 400 µL dos grupos controle e experimental, em cinco replicatas cada grupo. No controle negativo, os ovos foram incubados em solução de NaCl 0,15M; enquanto no controle positivo, os ovos foram submetidos ao tratamento químico com Tiabendazol na concentração de 3,2 µg/mL. Quanto aos grupos experimentais, os ovos foram incubados com o extrato salino nas concentrações de 10% (extrato bruto), 5%, 2,5% e 1,25%. As placas foram incubadas em B.O.D a uma temperatura de 27 °C e umidade controlada por 48 horas, com posterior adição de Lugol em todos os poços para estacionar o desenvolvimento parasitário e leitura em microscópio invertido para a contagem dos parasitos. Os ensaios *in vitro* foram realizados em cinco repetições independentes, sendo feita a contagem do número de ovos e de L1 (estágio de desenvolvimento larval 1) para o cálculo da porcentagem de inibição média de eclosão dos ovos, que foi determinada pela seguinte fórmula: número de ovos não eclodidos / (número de ovos não eclodidos + L1) x 100.

4.8 TESTE DE TOXICIDADE AGUDA *in vitro*

A toxicidade aguda do extrato salino de *C. citratus* foi avaliada a partir de bioensaios, realizados em quintuplicata, com náuplios de *Artemia salina*, seguindo a metodologia descrita por Meyer *et al.* (1982), com adaptações.

Inicialmente, foram adicionados cistos desidratados de *A. salina* em um recipiente contendo o meio de cultivo (solução salina a 33%) durante 24h à temperatura ambiente, sob aeração e iluminação ininterruptas. Após a eclosão, utilizando pipetas de Pasteur, os náuplios de artêmia foram retirados do recipiente de cultivo e transferidos para uma placa de Petri. Depois, com o auxílio de estereomicroscópio e utilizando micropipetas, foram adicionados em placas de 24 poços: 10 náuplios de artêmias, 100 µL da solução de cultivo a 33% e 400 µL dos controles (controle positivo: Tiabendazol a 3,2 µg/mL; controle negativo: a própria solução de cultivo a 33%) e tratamentos (extrato salino nas concentrações de 10%, 5%, 2,5% e 1,25%), para cada

réplica de todos os grupos do estudo. Após 24h de incubação em bancada à temperatura ambiente, as artêmias foram observadas no estereomicroscópio e avaliadas considerando a sua mobilidade, para a contagem do número de náuplios vivos e mortos (Fonseca *et al.*, 2013).

4.9 ANÁLISE DE DADOS

4.9.1 Teste de Eclosão de Ovos (TEO)

Os dados da porcentagem de inibição de eclosão dos ovos de todos os grupos analisados, obtidos pela fórmula: número de ovos não eclodidos / (número de ovos não eclodidos + L1) x 100, foram tabulados em planilha de Excel e, posteriormente, foram submetidos a análise estatística. O Teste de Shapiro-Wilk foi aplicado para verificar a normalidade dos dados e o Teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste *post-hoc* de Dunn para analisar as diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

4.9.2 Teste de Toxicidade Aguda *in vitro*

Os dados obtidos do número total de náuplios vivos e mortos dos grupos analisados foram tabulados em planilha de Excel.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE FITOQUÍMICA

Os resultados obtidos na análise da composição fitoquímica evidenciaram a presença de inúmeros metabólitos secundários (**Tabela 1**).

Tabela 1. Classes de metabólitos identificadas por meio de diferentes análises fitoquímicas a partir do pó das folhas de *Cymbopogon citratus* L.

Classe de metabólitos secundários	Ensaio	Resultado
Fenóis	Reação com cloreto férrico	+ (verde-escuro)
Taninos livres	Teste de precipitação por gelatina	+ (precipitado)
Taninos hidrolisáveis e condensados	Reação de Stiasny	+ para taninos hidrolisáveis (azul)
Saponinas	Teste de formação de espuma	+ (camada de espuma)

		persistente)
Antraquinonas livres	Reação de Borträger direta	-
Flavonoides	Reação de Cianidina ou Shinoda	+ (vermelho)
Cumarinas	Teste de Fluorescência	-
Triterpenos e esteroides	Reação de Liebermann-Burchard	+ para esteroides (verde)
Núcleos esteroidais insaturados	Reação de Salkowski	+ (anel castanho-escuro-avermelhado)
Alcaloides	Reagentes de Wagner e Bertrand	+ (precipitado marrom e precipitado branco, respectivamente)

+ (presença do metabólito após reação); - (ausência do metabólito após reação).

A análise fitoquímica realizada neste estudo a partir do pó obtido das folhas de *C. citratus* L. identificou a presença de metabólitos, dentre eles fenóis, taninos hidrolisáveis, saponinas, flavonoides, esteroides e alcaloides.

Os organismos vegetais produzem inúmeros metabólitos, os quais podem ser produtos intermediários ou finais de reações metabólicas, e seu uso pode ser aplicado em diferentes indústrias (Ozyigit *et al.*, 2023). No caso dos metabólitos secundários, sua função primária está relacionada ao estímulo de respostas de defesa da planta contra estresses bióticos e abióticos, e vários são reconhecidos por apresentarem propriedades antimicrobianas, antifúngicas e antivirais, além de outras atividades biológicas, emergindo como potenciais compostos importantes comercialmente (Al-Khayri *et al.*, 2023).

O resultado positivo para a presença de fenóis foi identificado pelo desenvolvimento de coloração verde-escuro. Os fenóis são compostos orgânicos que possuem um ou mais grupos hidroxila ligados diretamente a um anel aromático e são conhecidos por suas propriedades anti-inflamatórias e, principalmente, propriedades antioxidantes, atuando em uma série de distúrbios relacionados ao estresse oxidativo, incluindo o câncer (Hila; Khan; Fariduddin, 2024; Edo *et al.*, 2025). Além disso, estudos como o de Saini e colaboradores (2024) evidenciam outros papéis dos compostos fenólicos, incluindo suas atividades antimicrobianas e sua capacidade de atuar como agente quelante de metais. Ainda, estudos como o de Soto-Sánchez (2022) relataram o potencial promissor de alguns compostos fenólicos contra *Leishmania* spp. e *Trypanosoma* spp.

A presença de taninos livres, por sua vez, foi identificada pela formação de um precipitado, sendo feita uma segunda reação que apresentou indicação positiva para taninos hidrolisáveis pelo desenvolvimento de coloração azul esverdeado. Os taninos hidrolisáveis são compostos orgânicos formados por moléculas de ácidos fenólicos (gálico ou elágico) ligadas a uma molécula de açúcar e, diferente dos taninos condensados, são mais facilmente quebrados em água (Smeriglio *et al.*, 2016). Estudos evidenciam seus efeitos farmacológicos, incluindo propriedades antioxidantes, antimicrobianas, antivirais, anticancerígenas, cardioprotetoras, antidiabéticas, anti-inflamatórias e imunorreguladoras (Buzzini *et al.*, 2008; Yang e Liu, 2014; Smeriglio *et al.*, 2016; Cosme *et al.*, 2025). Além disso, pesquisas como a de Engström e colaboradores (2016) relataram a atividade anti-helmíntica *in vitro* de taninos hidrolisáveis de plantas contra a eclosão de ovos e a motilidade de nematoides da espécie *Haemonchus contortus*.

A presença de saponinas foi observada pelo aparecimento de uma camada de espuma persistente na reação. As saponinas são compostos químicos glicosilados reconhecidos por suas atividades contra diferentes agentes bióticos, incluindo insetos herbívoros – como o cupim, gorgulho e pulgão, que podem atuar como pragas em diversas culturas –, fungos, bactérias, nematoides e vírus (Shakeel *et al.*, 2025). Além disso, outros estudos relataram atividades anticâncer, anti-inflamatória, imunomoduladora, antialérgica, anti-hepatotóxica, moluscicida, antimicrobiana, antioxidante, antidiabética, neuroprotetora e cardiovascular, além de efeitos na regulação de mitocôndrias e no alongamento de telômeros (Lacaille-Dubois e Wagner, 1996; Wang *et al.*, 2024).

Por outro lado, apesar de estudos demonstrarem a inibição de pragas e patógenos por formulações à base de saponinas, esta classe está entre os metabólitos secundários de plantas menos pesquisados, e, portanto, seu potencial como agentes biocidas e aplicação no mercado agrícola, visando a geração de produtos ecologicamente corretos para o Manejo Integrado de Pragas (MIP), ainda são pouco explorados (Shakeel *et al.*, 2025).

A detecção de flavonoides foi observada pelo desenvolvimento de coloração vermelha, mais especificamente vermelho a violeta, indicando a presença de compostos como as flavanonas. Os flavonoides são compostos orgânicos pertencentes à classe dos polifenóis, constituídos por anéis C6–C3–C6 com diferentes padrões de substituição – de modo que muitas subclasses são obtidas – e são reconhecidos por suas bioatividades anti-inflamatórias, antimicrobianas, anticancerígenas, antimutagênicas e, principalmente, antioxidantes e de

eliminação de radicais livres (Roy *et al.*, 2022; Shen *et al.*, 2022; Chen *et al.*, 2023). Outros estudos, como o de Baker (2022) e o de Romano e colaboradores (2013), relataram que os flavonoides também podem atuar como antivirais, antidiabéticos, hepatoprotetores, antiulcerosas gástricas e cardioprotetores, além de possuírem efeitos contra doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer, e outras atividades terapêuticas. A subclasse das flavanonas, também conhecida como di-hidroflavonas, difere estruturalmente de outros flavonoides pela saturação da ligação dupla entre as posições 2 e 3 do anel C, é encontrada quase exclusivamente em plantas cítricas e atua como um antioxidante bastante eficaz (Shen *et al.*, 2022).

A reação de diferenciação de triterpenos e esteroides indicou a presença de esteroides pelo desenvolvimento de coloração esverdeada, sendo feita uma segunda reação que indicou a presença de núcleos esteroidais insaturados devido à formação de um anel com coloração castanho-escuro-avermelhado. Os esteroides vegetais são uma classe de metabólitos secundários estruturalmente constituídos por quatro anéis de carbono fundidos e conhecidos por suas propriedades antibacterianas, antifúngicas, anticancerígenas, anti-inflamatórias, antidiabéticas e imunomoduladoras (Hajdaś, Koenig e Pospieszny, 2025).

Ainda, a presença de alcaloides foi determinada pela formação de um precipitado marrom e um precipitado branco através dos Reagentes de Wagner (iodo iodeto de potássio) e Bertrand (ácido sílico túngstico), respectivamente. Os alcaloides são compostos orgânicos caracterizados pela presença de um ou mais átomos de nitrogênio dentro do anel heterocíclico que existem principalmente em plantas superiores e são conhecidos por suas propriedades tóxicas, uma vez que atuam como compostos de defesa e protegem as plantas contra organismos herbívoros e agentes patogênicos, e farmacológicas, incluindo efeitos analgésicos, anticolinérgicos, estimulantes do SNC, antioxidantes, antivirais, antimicrobianos, antidiuréticos, antineoplásicos, anti-inflamatório, antimaláricos e outros (Debnath *et al.*, 2018; Guo *et al.*, 2025).

No que se refere às reações para a detecção de antraquinonas livres e cumarinas, ambas apresentaram resultado negativo. A ausência de antraquinonas livres foi verificada, pois não houve o desenvolvimento de coloração róseo-avermelhada na reação, mas sim uma coloração amarronzada. Enquanto a ausência de cumarinas foi verificada pela não fluorescência verde azulada mesmo após 2 a 3 minutos de observação em câmara de luz UV.

Vale ressaltar, ainda, que os perfis metabólicos das plantas medicinais são controlados por fatores genéticos e influenciados por fatores ambientais e interações bióticas; portanto, podem

ocorrer, ao longo do tempo, alterações na expressão dos genes biossintéticos e, consequentemente, variações nos tipos e níveis de compostos fitoquímicos, representando interações ecológicas e processos evolutivos (Bazargani, Falahati-Anbaran e Rohloff, 2021).

5.2 TESTE DE ECLOSÃO DE OVOS (TEO)

As diferentes concentrações testadas do extrato salino de *Cymbopogon citratus* L. demonstraram atividade ovicida dependente da dose (**Gráfico 1**).

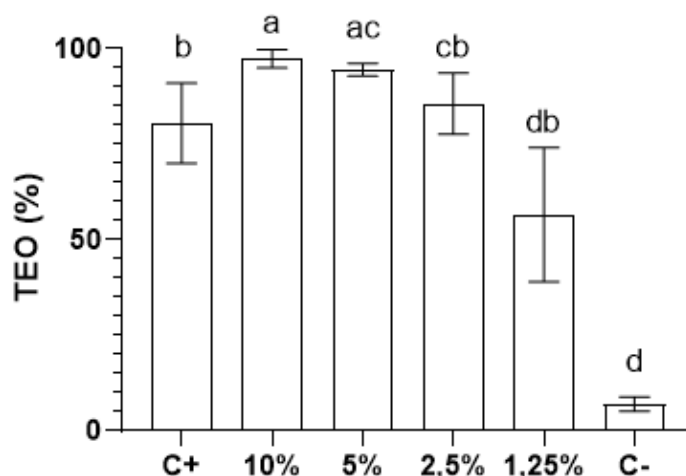


Gráfico 1. Taxa de inibição da eclosão dos ovos. Valores expressos em média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes representam diferença estatística (Teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste *post-hoc* de Dunn; $p < 0,05$). Gráfico gerado utilizando o software Graphpad Prism.

A taxa de inibição da eclosão dos ovos após a realização do TEO foi mais eficaz nas concentrações de 10% e 5%, com médias de 97,40% e 95,36%, respectivamente, não apresentando diferença estatística significativa entre si, mas apresentando diferença estatística significativa quando comparadas ao controle positivo (Tiabendazol a 3,2 $\mu\text{g/mL}$), que foi estatisticamente inferior e obteve uma média de 80,12% de inibição. Este, por sua vez, não demonstrou diferença estatística significativa quando comparado às concentrações de 2,5% e 1,25%, as quais obtiveram médias de 85,64% e 56,60%, respectivamente. Além disso, o controle negativo (solução de NaCl 0,15M), que obteve uma média de 7,04% de inibição, não apresentou diferença estatística significativa quando comparado ao tratamento na concentração de 1,25% (**Tabela 2**).

Tabela 2. Valores de média (% de inibição da eclosão dos ovos) e desvio-padrão da atividade anti-helmíntica do extrato salino de *Cymbopogon citratus* L., controle positivo (Tiabendazol a 3,2 $\mu\text{g/mL}$)

e controle negativo (solução de NaCl 0,15M) sobre ovos de nematoides gastrointestinais em ovinos.

Grupos experimentais					
Controle +	Extrato 10%	Extrato 5%	Extrato 2,5%	Extrato 1,25%	Controle -
80,12 ± 10,17 ^B	97,40 ± 2,36 ^A	95,36 ± 2,61 ^{AC}	85,64 ± 8,00 ^{CB}	56,60 ± 17,52 ^{DB}	7,04 ± 2,01 ^D

A, B, C, D Médias e desvios-padrão seguidos de letras diferentes significam diferença estatística (Teste de Kruskal-Wallis, teste *post-hoc* de Dunn; $p < 0,05$).

A atividade ovicida do extrato pode ser justificada pela ação dos diferentes metabólitos secundários encontrados nas folhas de *C. citratus*.

Os fenóis, por exemplo, são capazes de se ligar a proteínas digestivas, tornando inativas enzimas essenciais neste processo (Solla *et al.*, 2016). Além disso, estes compostos também atuam prejudicando o processo de fosforilação oxidativa, que é fundamental para a produção de ATP pelas células, afetando a geração de energia necessária ao desenvolvimento e à sobrevivência do parasita (Salhan *et al.*, 2011).

Quanto aos taninos, seu mecanismo de ação pode estar associado à sua capacidade de interagir com outras moléculas, como proteínas, o que, por sua vez, contribui para o aumento da permeabilidade celular dos parasitos; essa interação, ao atingir as glicoproteínas presentes na cutícula do parasito, compromete a absorção de nutrientes, afetando diretamente a mobilidade e capacidade reprodutiva dos mesmos, o que pode levá-los à morte (Cala *et al.*, 2012).

Estudos como o de Hoste e colaboradores (2006) e Iqbal e colaboradores (2007), por exemplo, evidenciam os efeitos benéficos de plantas ricas em tanino sobre nematoides gastrointestinais em ruminantes, podendo atuar por meio de atividade antiparasitária direta, ou ainda, de maneira indireta, contribuindo para o fortalecimento do animal hospedeiro através da nutrição. Forragens alternativas contendo taninos como aditivo já são conhecidas por melhorar a absorção de proteínas, modular a fermentação do rúmen e diminuir a ocorrência de infecções por nematoides gastrointestinais em pequenos ruminantes em pastejo, o que contribui para um melhor desempenho produtivo destes animais (Acevedo-Ramírez *et al.*, 2019); este mesmo estudo, ainda, explorou a atividade anti-helmíntica *in vitro* de taninos hidrolisáveis sobre a fase adulta do nematódeo gastrointestinal *Haemonchus contortus* e obteve como resultado a indução de danos estruturais internos e externos, incluindo o rompimento da cutícula ao redor da boca e dos órgãos reprodutivos e a evisceração, alcançando a mortalidade do parasito.

A ação ovicida das saponinas, por sua vez, pode estar relacionada à sua capacidade de se ligar permanentemente à membrana do parasito, modificando sua permeabilidade; este processo leva à formação de vacúolos citoplasmáticos, o que implica na desintegração do parasito e interrompe o seu desenvolvimento (Gomes *et al.*, 2016; Doligalska *et al.*, 2017; Poolperm e Jiraungkoorskul, 2017).

Com relação aos flavonoides, sua bioatividade pode ser atribuída à capacidade de interagir com enzimas, alterando-as estruturalmente, o que, por consequência, interfere em processos metabólicos fundamentais ao desenvolvimento parasitário (Botura *et al.*, 2013).

Quanto à classe metabólica dos alcaloides, estudos inferem que seu mecanismo de ação pode estar relacionado à sua capacidade de interferir no sistema nervoso, competindo com a acetilcolina, que é o principal neurotransmissor do sistema nervoso parassimpático; portanto, atua como relaxante muscular, comprometendo a movimentação do parasito e levando à perda de motilidade e alongamento, em função do relaxamento da musculatura longitudinal (Wink, 2012).

As plantas medicinais apresentam um amplo escopo para a descoberta de novos fármacos – os chamados fitoterápicos – contra diferentes patologias, considerando os seus inúmeros compostos metabólicos derivados (Ranasinghe *et al.*, 2023). Atrelado a isso, vários estudos apontam a crescente resistência dos parasitos a múltiplos medicamentos sintéticos atualmente disponíveis no mercado, incluindo o Tiabendazol utilizado neste estudo (Fissiha e Kinde, 2021; Mphahlele *et al.*, 2021; McEvoy *et al.*, 2024), ao passo que outros estudos relatam sobre suas propriedades de persistência e bioacumulação, sendo encontrados resíduos de medicamentos anti-helmínticos em diferentes ambientes e organismos não-alvo (Lumaret *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2023).

É evidente, portanto, a demanda crescente por novos princípios ativos que ofereçam maior segurança no seu uso, e a exploração de compostos botânicos com potencial antiparasitário pode ser uma alternativa promissora neste cenário (Ranasinghe *et al.*, 2023).

5.3 TESTE DE TOXICIDADE AGUDA *in vitro*

Em todas as quatro concentrações testadas (10%, 5%, 2,5% e 1,25%) do extrato salino de *C. citratus* houve a morte dos 10 náuplios de *Artemia salina*, indicando que o extrato foi tóxico para estes organismos. Em contrapartida, tem-se que no controle positivo houve uma média de 7 náuplios vivos e 3 náuplios mortos; enquanto no controle negativo os 10 náuplios permaneceram vivos.

Este pequeno crustáceo de água salgada é um organismo-modelo amplamente utilizado em testes de toxicidade devido, principalmente, à sua facilidade de cultivo, baixo custo e ciclo de vida curto, sendo bastante útil e conveniente para uma triagem rápida (Davidović *et al.*, 2023). Porém, alguns estudos revelam que bioensaios realizados a partir de náuplios de *Artemia salina* de maneira isolada são considerados insuficientes para avaliar riscos à saúde humana e animal, sendo necessários testes complementares com linhagens celulares de mamíferos ou outros organismos superiores (Hisem *et al.*, 2011; Davidović *et al.*, 2023).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato salino proveniente de folhas da espécie *Cymbopogon citratus* L. apresentou ação inibitória na eclosão de ovos de nematoides gastrointestinais em ovinos demonstrada *in vitro* através do TEO. Inferiu-se que os efeitos ovicidas observados estão associados às classes de metabólitos secundários encontradas na planta a partir de análises fitoquímicas, incluindo fenóis, taninos, saponinas, flavonóides, esteróides e alcaloides, estas consideradas bioativos naturais. No teste de toxicidade aguda, realizado com náuplios de *Artemia salina*, o extrato se mostrou tóxico aos organismos em todas as concentrações testadas, sendo necessário a realização de testes em outros organismos. O uso do extrato salino das folhas de *C. citratus* apresenta-se como uma alternativa bastante promissora no controle de endoparasitoses, especialmente aquelas que afetam pequenos ruminantes.

REFERÊNCIAS

- ACEVEDO-RAMÍREZ, P. M. C. *et al.* Anthelmintic effect and tissue alterations induced *in vitro* by hydrolysable tannins on the adult stage of the gastrointestinal nematode *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v. 266, p. 1-6, fev. 2019.
- AGNES, K. N. K. *et al.* Ethnobotanical knowledge on native Brazilian medicinal plants traditionally used as anthelmintic agents – A review. **Experimental Parasitology**, v. 249, p. 108531, jun. 2023.
- ALFRAJ, N. K. Determinants of meat and milk production of Awassi sheep in Syria: a cobb-douglas production function estimation approach. **Heliyon**, v. 10, n. 14, p. e34566, jul. 2024.
- AL-KHAYRI, J. M. *et al.* Plant Secondary Metabolites: The weapons for biotic stress management. **Metabolites**, v. 13, n. 6, p. 716, 31 maio 2023.
- 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.
- AMEL, A. *et al.* *In vitro* and *in vivo* anthelmintic effect of essential oil obtained from *Thymus capitatus* flowers against *Haemonchus contortus* and *Heligmosomoides polygyrus*. **Experimental Parasitology**, v. 262, p. 108778, jul. 2024.
- AQUINO, R. S. *et al.* A realidade da caprinocultura e ovinocultura no semiárido brasileiro: um retrato do sertão do Araripe, Pernambuco. **Pubvet**, v. 10, p. 271-281, 2016.
- BAKER, D. H. A. An ethnopharmacological review on the therapeutical properties of flavonoids and their mechanisms of actions: a comprehensive review based on up to date knowledge. **Toxicology Reports**, v. 9, p. 445-469, 2022.
- BASSETTO, C. C. *et al.* Revisiting anthelmintic resistance in sheep flocks from São Paulo State, Brazil. **International Journal For Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 24, p. 100527, abr. 2024.

- BAZARGANI, M. M.; FALAHATI-ANBARAN, M.; ROHLOFF, J. Comparative Analyses of Phytochemical Variation Within and Between Congeneric Species of Willow Herb, *Epilobium hirsutum* and *E. parviflorum*: contribution of environmental factors. **Frontiers In Plant Science**, v. 11, p. 1-16, 17 fev. 2021.
- BOTURA, M. B. *et al.* *In vitro* ovicidal and larvicidal activity of *Agave sisalana* Perr. (sisal) on gastrointestinal nematodes of goats. **Veterinary Parasitology**, v. 192, n. 1-3, p. 211-217, fev. 2013.
- BRAGA, F. R. *et al.* Efficiency of the Bioverm® (*Duddingtonia flagrans*) fungal formulation to control in vivo and in vitro of *Haemonchus contortus* and *Strongyloides papillosus* in sheep. **3 Biotech**, v. 10, n. 2, 23 jan. 2020.
- BUZZINI, P. *et al.* Antimicrobial and Antiviral Activity of Hydrolysable Tannins. **Mini-Reviews In Medicinal Chemistry**, v. 8, n. 12, p. 1179-1187, 1 out. 2008.
- CAIN, J. L. *et al.* Rapid, automated quantification of *Haemonchus contortus* ova in sheep faecal samples. **International Journal For Parasitology**, v. 54, n. 1, p. 47-53, jan. 2024.
- CALA, A. C. *et al.* *In vitro* anthelmintic effect of *Melia azedarach* L. and *Trichila clausenu* C. against sheep gastrointestinal nematodes. **Experimental Parasitology**, v. 130, n. 2, p. 98-102, 2012.
- CASTAGNA, F. *et al.* Potential New Therapeutic Approaches Based on *Punica granatum* Fruits Compared to Synthetic Anthelmintics for the Sustainable Control of Gastrointestinal Nematodes in Sheep. **Animals**, v. 12, n. 20, p. 2883, 21 out. 2022.
- CHAGAS, A. C. S. *et al.* Manual Prático: metodologia de diagnóstico da resistência e de detecção de substâncias ativas em parasitas de ruminantes. Brasília: **EMBRAPA**, p. 153, 2011.
- CHAI, Jong-Yil; JUNG, Bong-Kwang; HONG, Sung-Jong. Albendazole and Mebendazole as Anti-Parasitic and Anti-Cancer Agents: an update. **The Korean Journal Of Parasitology**, v. 59, n. 3, p. 189-225, 21 jun. 2021.

CHALLATON, K. P. *et al.* Gastrointestinal anthelmintic plants used on small ruminants in Benin: traditional use and scientific results - Review. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 50, p. 101015, maio 2024.

CHARUAUD, L. *et al.* Veterinary pharmaceutical residues in water resources and tap water in an intensive husbandry area in France. **Science Of The Total Environment**, v. 664, p. 605-615, maio 2019.

CHEN, S. *et al.* A Review of Classification, Biosynthesis, Biological Activities and Potential Applications of Flavonoids. **Molecules**, v. 28, n. 13, p. 4982, 25 jun. 2023.

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

COSME, F. *et al.* A Comprehensive Review of Bioactive Tannins in Foods and Beverages: functional properties, health benefits, and sensory qualities. **Molecules**, v. 30, n. 4, p. 800, 9 fev. 2025.

CUNHA S. M. F. *et al.* Genomic Regions Associated with Resistance to Gastrointestinal Nematode Parasites in Sheep – A Review. **Genes (Basel)**, v. 15, n. 2, p. 187, jan. 2024.

DARCAN, N. K. *et al.* Improving reproduction and growth characteristics of indigenous goats in smallholding farming system. **Ciência Rural**, v. 54, n. 5, e20230028, 2024.

DAVIDOVIĆ, P. *et al.* Biotests in Cyanobacterial Toxicity Assessment – Efficient Enough or Not? **Biology**, v. 12, n. 5, p. 711, 12 maio 2023.

DAVIS, C. C.; CHOISY, P. Medicinal plants meet modern biodiversity science. **Current Biology**, v. 34, n. 4, p. 158-173, fev. 2024.

DEBNATH, B. *et al.* Role of plant alkaloids on human health: a review of biological activities. **Materials Today Chemistry**, v. 9, p. 56-72, set. 2018.

DELMILHO, G. *et al.* Evaluation of the supply of *Duddingtonia flagrans* for the control of gastrointestinal parasites in sheep. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 96, n. 1, 2024.

DOLIGALSKA, M. *et al.* The antiparasitic activity of avenacosides against intestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 241, p. 5-13, jul. 2017.

DU, X. *et al.* Ethnopharmacology, chemical composition and functions of *Cymbopogon citratus*. **Chinese Herbal Medicines**, v. 16, n. 3, p. 358-374, jul. 2024.

EDO, G. I. *et al.* A review on the composition, extraction and applications of phenolic compounds. **Ecological Frontiers**, v. 45, n. 1, p. 7-23, fev. 2025.

ENGSTRÖM, M. T. *et al.* Chemical Structures of Plant Hydrolyzable Tannins Reveal Their in Vitro Activity against Egg Hatching and Motility of *Haemonchus contortus* Nematodes. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, v. 64, n. 4, p. 840-851, 25 jan. 2016.

FAUSTO, G. C. *et al.* Formulation of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in the control of equine gastrointestinal parasitic nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 295, p. 109458, jul. 2021.

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.

FISSIHA, W.; KINDE, M. Z. Anthelmintic Resistance and Its Mechanism: a review. **Infection And Drug Resistance**, v. 14, p. 5403-5410, dez. 2021.

FONSECA, R. C. *et al.* Assessment of toxic potential of Cerrado fruit seeds using *Artemia salina* bioassay. **Food Science And Technology**, v. 33, n. 2, p. 251-256, 10 maio 2013.

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, n. 374, p. 1-11, 2023.

GEDDES, E. *et al.* Investigating the perceived versus actual gastrointestinal nematode challenge on extensive sheep farms. **Veterinary Parasitology**, v. 327, p. 110148, abr. 2024.

GEURDEN, T. *et al.* World association for the advancement of veterinary parasitology (WAAVP) guideline for the evaluation of the efficacy of anthelmintics in food-producing and

companion animals: general guidelines. **Veterinary Parasitology**, v. 304, p. 109698, abr. 2022.

GIULIOTTI, L. *et al.* Gastrointestinal strongyles burden monitoring in a flock of Zerasca sheep treated with homeopathy. **European Journal Of Integrative Medicine**, v. 8, n. 3, p. 235-238, jun. 2016.

GOMES, D. C. *et al.* *In vitro* anthelmintic activity of the *Ziziphus joazeiro* bark against gastrointestinal nematodes of goats and its cytotoxicity on Vero cells. **Veterinary Parasitology**, v. 226, p. 10-16, 2016.

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

GUO, Z. *et al.* Optimizing Plant Alkaloid Biosynthesis under Drought Stress: regulatory mechanisms and biotechnological strategies. **Journal Of Plant Physiology**, v. 311, p. 154545, ago. 2025.

HAJDAŚ, G.; KOENIG, H.; POSPIESZNY, T. Recent Advances in Steroid Discovery: structural diversity and bioactivity of marine and terrestrial steroids. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 26, n. 7, p. 3203, 30 mar. 2025.

HAO, L. *et al.* Preparation and application of biocontrol formulation of nematode-trapping fungus-*Duddingtonia flagrans*. **Veterinary Parasitology**, v. 327, p. 110119, abr. 2024.

HENRY, M. K. *et al.* Small-scale sheep and cattle enterprises in Scotland: demographics, animal health, and biosecurity. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 229, p. 106236, ago. 2024.

HERRERA, N. C. *et al.* Effect of aqueous extract of *Azadirachta indica* leaves on gastrointestinal nematodes in ruminants: an in vitro study. **Bionatura**, v. 8, n. 3, p. 1-10, 15 set. 2023.

HILAL, B.; KHAN, M. M.; FARIDUDDIN, Q. Recent advancements in deciphering the therapeutic properties of plant secondary metabolites: phenolics, terpenes, and alkaloids. **Plant Physiology And Biochemistry**, v. 211, p. 108674, jun. 2024.

HISEM, D. *et al.* Cyanobacterial cytotoxicity versus toxicity to brine shrimp *Artemia salina*. **Toxicon**, v. 57, n. 1, p. 76-83, jan. 2011.

HOSTE, H. *et al.* The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. **Trends In Parasitology**, v. 22, n. 6, p. 253-261, jun. 2006.

HUBERT, J.; KERBOEUF, D. A microlarval development assay for the detection of anthelmintic resistance in sheep nematodes. **Veterinary Record**, v. 130, n. 20, p. 442-446, 1992.

IBGE. Rebanho de Ovinos (Ovelhas e Carneiros). **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)**. 2023. Disponível em:
<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/ovino/br>. Acesso em: 11 ago. 2025.

IMPERIALE, F. A. *et al.* Milk excretion of ivermectin and moxidectin in dairy sheep: assessment of drug residues during cheese elaboration and ripening period. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 20, p. 6205-6211, 2004.

IQBAL, Z. *et al.* Direct and indirect anthelmintic effects of condensed tannins in sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 144, n. 1-2, p. 125-131, mar. 2007.

JIMÉNEZ-PENAGO, G. *et al.* *In vitro* anthelmintic activity of *Pimenta dioica* and *Origanum vulgare* essential oils on gastrointestinal nematodes from sheep and cattle. **Journal Of Parasitic Diseases**, v. 45, n. 3, p. 583-591, 4 jun. 2021.

KAIATY, A. M. *et al.* Emerging alternatives to traditional anthelmintics: the in vitro antiparasitic activity of silver and selenium nanoparticles, and pomegranate (*Punica granatum*) peel extract against *Haemonchus contortus*. **Tropical Animal Health And Production**, v. 55, n. 5, p. 6-7, 22 set. 2023.

KATZUNG, Bertram G.; TREVOR, Anthony J. (Orgs.). **Farmacologia Básica e Clínica**. 13 ed. Porto Alegre: McGraw-Hill, 2017. 1202 p.

Kiełtyka-Dadasiewicz, A.; Esteban, J.; Jabłońska-Trypuć, A. Antiviral, Antibacterial, Antifungal, and Anticancer Activity of Plant Materials Derived from *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf Species. **Pharmaceuticals**, v. 17, n. 6, p. 705, 2024.

KLAVINA, A. *et al.* Anthelmintic Activity of *Tanacetum vulgare* L. (Leaf and Flower) Extracts against Trichostrongylidae Nematodes in Sheep *in vitro*. **Animals**, v. 13, n. 13, p. 2176, 2 jul. 2023.

KOVAĽČUKA, 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.

KURALKAR, P.; KURALKAR, S.V. Role of herbal products in animal production – An updated review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 278, p. 114246, out. 2021.

LACAILLE-DUBOIS, M. A.; WAGNER, H.. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. **Phytomedicine**, v. 2, n. 4, p. 363-386, mar. 1996.

LIMA, L. D. S. C. *et al.* Viabilidade técnica e econômica da implantação de uma Agroindústria de extrato vegetal. **Revista Brasileira de Engenharia e Sustentabilidade**, v. 4, n. 2, p. 48-53, 2017.

LIU, Xin-Yu *et al.* Biological control of sheep gastrointestinal nematode in three feeding systems in Northern China by using powder drug with nematophagous fungi. **Biocontrol Science And Technology**, v. 30, n. 7, p. 701-715, 11 jun. 2020.

LUMARET, JP *et al.* A Review on the Toxicity and Non-Target Effects of Macrocyclic Lactones in Terrestrial and Aquatic Environments. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 13, n. 6, p. 1004-1060, 1 abr. 2012.

MACEDO, I. T. F. *et al.* Anthelmintic activity of *Cymbopogon citratus* against *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 3, p. 268-275, set. 2015.

MAHEFARISOA, K. L. *et al.* The threat of veterinary medicinal products and biocides on pollinators: a One Health perspective. **One Health**, v. 12, p. 100237, jun. 2021.

MARTIN R. J., ROBERTSON A. P., BJORN H. Target sites of anthelmintics. **Parasitology**. 1997; 114, p 111-124.

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

MAURIZIO, A. *et al.* Control of gastrointestinal helminths in small ruminants to prevent anthelmintic resistance: the italian experience. **Parasitology**, v. 150, n. 12, p. 1105-1118, 11 abr. 2023.

MCEVOY, A. *et al.* Comparison of traditional copromicroscopy with image analysis devices for detection of gastrointestinal nematode infection in sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 329, p. 110216, jul. 2024.

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 med.**, v. 45, n. 5, p. 31-34, 1982.

MICKIEWICZ, M. *et al.* Prevalence of anthelmintic resistance of gastrointestinal nematodes in Polish goat herds assessed by the larval development test. **BMC Veterinary Research**, v. 17, n. 1, p. 19, 7 jan. 2021.

MOLENTO, M. B. *et al.* Alternativas para o controle de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 80, n. 2, p. 253-263, jun. 2013.

MOTA, Y. T. R. *et al.* Ovicidal effect of eucalyptus wood vinegar on gastrointestinal nematodes eggs from shee. **Veterinary World**, v. 18, p. 1156-1167, 2025.

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. 302-313, 2 fev. 2021.

MUBEEN, B. *et al.* Harnessing plant defense: Elicitors, hormones and immunity-driven production of medicinally valuable secondary metabolites. **South African Journal Of Botany**, v. 179, p. 280-292, abr. 2025.

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

NUNES, G. T. *et al.* Efficacy Evaluation of a Commercial Formulation With *Duddingtonia flagrans* in Equine Gastrointestinal Nematodes. **Journal Of Equine Veterinary Science**, v. 131, p. 104930, dez. 2023.

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, D. S. *et al.* Homeopatia na alimentação de cordeiros. **Research, Society And Development**, v. 9, n. 4, p. e28942670, 12 mar. 2020.

OLIVEIRA, C. C. A.; SANTOS, J. S. Compostos ativos de capim-cidreira (*Cymbopogon citratus*): uma revisão. **Research, Society And Development**, v. 10, n. 12, p. 1-11, 19 set. 2021.

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.

OZYIGIT, I. I. *et al.* Production of secondary metabolites using tissue culture-based biotechnological applications. **Frontiers In Plant Science**, v. 14, p. 1-28, 29 jun. 2023.

PACHECO, P. A. *et al.* Evaluation of Parasitological Homeopathic Complex in the Control of Gastrointestinal Nematodes in Peripartum Sheep. **Homeopathy**, v. 108, n. 04, p. 248-255, 4 jun. 2019.

PAOLETTI, B. *et al.* A pilot study of the in vitro efficacy of different concentrations of *Duddingtonia flagrans* for the control of gastrointestinal nematodes of sheep. **Annals Of Parasitology**, v. 70, n. 2, p. 113-118, ago. 2024. Polish Parasitological Society.

PEREIRA, J. E. G. *et al.* Avaliação do tratamento integrativo no controle de parasitas gastrintestinais de ovinos. **Research, Society And Development**, v. 10, n. 10, p. e594101019124, 21 ago. 2021.

POOLPERM, S.; JIRAUNGKOORSKUL, W. An update review on the anthelmintic activity of bitter gourd, *Momordica charantia*. **Pharmacognosy Reviews**, v. 11, n. 21, p. 31, 2017.

RAHHAL, B. *et al.* Multi-biological activity assessment and phytochemical characterization of

an aqueous extract of the *Cymbopogon citratus* grown in Palestine. **BMC Complementary Medicine and Therapies** 24, 27 (2024).

ROBERTO, F. F. S. *et al.* Nematoides gastrintestinais na ovinocultura de corte sob regime de pastejo. **Pubvet**, v. 12, n. 4, p. 1-12, abr. 2018.

ROCHA, L. O. *et al.* Chemical characterization and in vitro biological activity of *Cymbopogon citratus* extracts against *Haemonchus* spp. and *Trichostrongylus* spp. nematodes from sheep. **Parasitology**, v. 147, n. 13, p. 1559-1568, 3 ago. 2020.

RODRIGUES, J. A. *et al.* Efficacy of a commercial fungal formulation containing *Duddingtonia flagrans* (Bioverm®) for controlling bovine gastrointestinal nematodes. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 30, n. 2, 2021.

RODRIGUES, J. A. *et al.* Control of sheep gastrointestinal nematodes on pasture in the tropical semiarid region of Brazil, using Bioverm® (*Duddingtonia flagrans*). **Tropical Animal Health And Production**, v. 54, n. 3, 5 maio 2022.

ROMANO, B. *et al.* Novel Insights into the Pharmacology of Flavonoids. **Phytotherapy Research**, v. 27, n. 11, p. 1588-1596, 4 jul. 2013.

ROMANO, B.; LUCARIELLO, G.; CAPASSO, R. Topical Collection “Pharmacology of Medicinal Plants”. **Biomolecules**, v. 11, n. 1, p. 101, 14 jan. 2021.

ROY, A. *et al.* Flavonoids a Bioactive Compound from Medicinal Plants and Its Therapeutic Applications. **Biomed Research International**, v. 2022, n. 1, p. 1-9, jan. 2022.

SAINI, N. *et al.* Exploring phenolic compounds as natural stress alleviators in plants - a comprehensive review. **Physiological And Molecular Plant Pathology**, v. 133, p. 102383, set. 2024.

SALHAN, M. *et al.* Comparative anthelmintic activity of aqueous and ethanolic leaf extracts of *Clitoria ternatea*. **International Journal of Drug Development and Research**, v. 3, n. 1, p. 62-69, mar. 2011.

SAUTIER, M.; CHIRON, P.. Challenges and opportunities for reducing anthelmintic use in

ruminant livestock systems: insights from a sheep farmer survey in france. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 221, p. 106078, dez. 2023.

SHAKEEL, A. *et al.* Saponins, the Unexplored Secondary Metabolites in Plant Defense: opportunities in integrated pest management. **Plants**, v. 14, n. 6, p. 861, 10 mar. 2025.

SHEN, N. *et al.* Plant flavonoids: classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 383, p. 132531, jul. 2022.

SILVA, V. W. P. *et al.* Descarte de medicamentos e os impactos ambientais: uma revisão integrativa da literatura. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 28, n. 4, p. 1113-1123, abr. 2023.

SMERIGLIO, A. *et al.* Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: occurrence, dietary intake and pharmacological effects. **British Journal Of Pharmacology**, v. 174, n. 11, p. 1244-1262, 21 out. 2016.

SOLLA, A. *et al.* Genetic determination of tannins and herbivore resistance in *Quercus ilex*. **Tree Genetics & Genomes**, v. 12, n. 117, 14 nov. 2016.

SOTO-SÁNCHEZ, Jacqueline. Bioactivity of Natural Polyphenols as Antiparasitic Agents and their Biochemical Targets. **Mini-Reviews In Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 20, p. 2661-2677, nov. 2022.

ŠTRBAC, F. *et al.* A Potential Anthelmintic Phytopharmacological Source of *Origanum vulgare* (L.) Essential Oil against Gastrointestinal Nematodes of Sheep. **Animals**, v. 13, n. 1, p. 45, 22 dez. 2022.

ŠTRBAC, F. *et al.* *In vitro* and *in vivo* anthelmintic efficacy of peppermint (*Mentha x piperita* L.) essential oil against gastrointestinal nematodes of sheep. **Frontiers In Veterinary Science**, v. 10, 10 ago. 2023.

SZEWC, M.; WAAL, T.; ZINTL, A. Biological methods for the control of gastrointestinal nematodes. **The Veterinary Journal**, v. 268, p. 105602, fev. 2021.

WANG, D. *et al.* Environmental fate of the anti-parasitic ivermectin in an aquatic micro-ecological system after a single oral administration. **Peerj**, v. 7, p. e7805, 9 out. 2019.

WANG, J. *et al.* Sources, metabolism, health benefits and future development of saponins from plants. **Food Research International**, v. 197, p. 115226, dez. 2024.

WILLIAMS, E. G *et al.* Assessing periparturient ewe characteristics and nemabiome composition to guide targeted selective treatment for sustainable gastrointestinal nematodes control in sheep, **Animal**, v. 18: 101156, 2024.

WINK, M. Medicinal Plants: a source of anti-parasitic secondary metabolites. **Molecules**, v. 17, n. 11, p. 12771-12791, 31 out. 2012.

YANG, B. ; LIU, P. Composition and Biological Activities of Hydrolyzable Tannins of Fruits of *Phyllanthus emblica*. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, v. 62, n. 3, p. 529-541, 9 jan. 2014.