

Atividade ovicida e larvicida do extrato etanólico de *Aloe vera* L. sobre *Haemonchus contortus**

Ovicidal and larvicidal activity of *Aloe vera* L. ethanolic extract against *Haemonchus contortus*

Lew Kan Sprenger**

Resumo

O objetivo deste trabalho foi determinar a eficácia *in vitro* do extrato etanólico de *Aloe vera* L. frente a estágios de vida livre de *Haemonchus contortus*. O fitoterápico foi produzido com percolação da polpa do vegetal com álcool absoluto, a 25°C, sendo posteriormente liofilizado. Foram realizados o teste de eclodibilidade de ovos (TEO) e o teste de desenvolvimento larval (TDL), com concentrações crescentes (0,78 a 100mg/mL) em seis repetições. Para analisar a composição química do fitoterápico, procedeu-se a marcha fitoquímica completa, analisando qualitativamente a presença de fenóis, taninos, antocianinas, antocianidinas, leucoantocianidinas, esteroides, triterpenos, saponinas, resinas e alcaloides; além da quantificação de fenóis totais, teste de toxicidade frente *Artemia salina* e ensaio antioxidante pelo teste de redução do radical DPPH. O produto obtido a partir de *A. vera* apresentou eficácia de $94,35 \pm 1,13\%$ no TEO, já no TDL a eficácia foi de $76,03 \pm 0,45\%$, ambos na concentração de 100mg/mL. Nas análises fitoquímicas, foram encontrados diversos compostos que podem ter contribuído com o efeito anti-helmíntico, tanto direta como indiretamente. Os dados da marcha fitoquímica, aliados aos resultados dose-dependentes obtidos nos testes *in vitro* evidenciam que o extrato produzido possui potencial para combater *H. contortus*. Novos estudos devem ser realizados buscando maximizar a eficácia deste extrato, uma vez que foram encontrados resultados excelentes nos testes realizados.

Palavras-chave: Etnoveterinária, fitoterapia, infecção parasitária.

Abstract

The aim of this study was to determine the *in vitro* efficacy of ethanolic extract of *Aloe vera* L. against *Haemonchus contortus* free-living stages. The herbal material was produced by pulp leaving the solution with ethanol at 25°C and latter the material was lyophilized. After this, the product was used for the egg hatch test (EHT) and the larval development test (LDT) in different concentrations (0.78 to 100mg/mL) with six replicates. A complete phytochemical screening was performed to analyze the materials' chemistry composition, screening qualitatively the presence of phenols, tannins, anthocyanins, anthocyanidins, leucoanthocyanidins, steroids, triterpenes, saponins, resins and alkaloids; beyond the total phenols quantification, brine shrimp toxicity test and DPPH radical reduction antioxidant test. *A. vera* extract had an efficacy of $94,35 \pm 1,13\%$ using the EHT and of $76,03 \pm 0,45\%$ when using the LDT test, both in concentration 100mg/mL. Phytochemical tests showed few chemical compounds that could exert anthelmintic properties. The results obtained with the biochemical tests together with the dose-dependent effect found in *in vitro* tests demonstrate that extract has the potential to be a good drug candidate against *H. contortus*. Further studies should be conducted to maximize the effectiveness of the herbal, because it demonstrated excellent results in experiments.

Keywords: Ethnoveterinary, herbal medicine, parasitic infection.

Introdução

A produção de pequenos ruminantes no Brasil cresce anualmente, contribuindo de forma expressiva para o balanço mercantil do país (Sprenger et al., 2013). Apesar do enorme potencial, alguns entraves sanitários diminuem a produtividade, sendo o principal deles as parasitoses gastrintestinais, que geram déficits econômicos significativos (Molento et al., 2013). A infecção por *Haemonchus contortus* é a principal doença parasitária, causando prejuízos devido a anorexia, apatia, aumento da conversão alimentar, diminuição da produção e perda de peso em animais infectados (Nery et al., 2010).

O controle da enfermidade é, geralmente, realizado de forma intensiva, com o uso indiscriminado de anti-helmínticos

comerciais, sem considerar os fatores epidemiológicos envolvidos. Este modelo de utilização favorece a seleção e a propagação da população parasitária resistente, além da deposição de resíduos no meio ambiente e aumento dos custos produtivos (Molento, 2005).

Assim sendo, diversos estudos buscando novas terapias alternativas, sendo o uso de produtos fitoterápicos o que se encontra em fase mais avançada de pesquisa e demonstrando resultados promissores (Sprenger et al., 2015). Dentre as diversas plantas que estão sendo estudadas atualmente, *Aloe vera* L., popularmente conhecida como babosa, destaca-se devido às suas propriedades medicinais (Huseini et al., 2012). O extrato produzido a partir da planta apresenta efeito comprovado no tratamento da osteoartrite, diabetes (Rajasekaran et al., 2006);

*Recebido em 25 de junho de 2015 e aceito em 25 de outubro de 2015.

**Universidade do Contestado (UnC), Campus Canoinhas, Departamento de Medicina Veterinária. R. Roberto Ehlke 86, Centro, Canoinhas, SC, 89460-000, Brasil. Correspondência: lew.sprenger@gmail.com

úlceras estomacais, febre e inflamações (Ramos e Pimentel, 2013); infecções bacterianas (Cellini et al., 2014), infecções por *Eimeria* sp. (Yim et al., 2011).

O presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a eficácia do extrato hidroalcoólico de *A. vera* em fases de vida livre de *H. contortus*, utilizando testes *in vitro*.

Material e métodos

O estudo foi realizado no laboratório de microbiologia da Universidade do Contestado, Campus Canoinhas, durante o mês de maio, 2015. Amostras de folhas de *A. vera* L. foram obtidas no Mercado Municipal de Curitiba, Paraná, autenticada pela confirmação por botânicos da Universidade Federal do Paraná (UFPR) e depositada uma amostra representativa no herbário da mesma instituição. Imediatamente após a obtenção, as folhas foram lavadas com água clorada (10ppm de cloro), seguido por água destilada. Depois disso, a polpa foi recolhida com auxílio de uma espátula e foi processada para a produção dos extratos aquoso e etanólico.

Para a produção do extrato etanólico, 100g da polpa foram misturadas com 1L de etanol absoluto (95%; Merck®, Alemanha), durante 10 min a 4°C. A suspensão foi homogeneizada e agitada vigorosamente em agitador magnético à temperatura ambiente (25°C). Transcorrido este tempo, o material foi filtrado, com auxílio de uma bomba de vácuo, em funil com papel filtro. O extrato foi concentrado em evaporador rotatório, sob pressão reduzida e à temperatura de 28°C (± 2), para posteriormente liofilização. O rendimento do extrato etanólico seco foi de 21g.

Posteriormente se realizou a marcha fitoquímica qualitativa descrita por Matos (1998) com o objetivo de verificar a presença de metabólitos secundários (fenóis, taninos, antocianinas, antocianidinas, leucoantocianidinas, esteroides, triterpenos, saponinas, resinas e alcaloides). A dosagem de fenóis totais (FT) foi realizada pelo teste de Folin-Ciocalteu, seguindo a metodologia adaptada por McDonald et al. (2001). O teor de FT foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra a curva de calibração construída com padrões de ácido gálico. Os resultados, determinados a partir da equação de regressão da curva de calibração ($y = 0,02x - 0,0063$; $R^2 = 0,9442$), foram expressos em miligramas de ácido gálico equivalentes por grama da amostra. O ensaio antioxidante foi realizado pelo método de redução do radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazila), de acordo com a metodologia de Blois (1958), usando como padrão o ácido ascórbico. A atividade toxicidade do extrato foi avaliada através do teste de letalidade frente *Artemia salina* Leach, seguindo a metodologia de Meyer et al. (1982). Como critério de toxicidade dos extratos foi estabelecido que valores abaixo de 1000 μ g/mL (tóxicos), entre 500 e 1000 μ g/mL (fracamente tóxico) e acima de 1000 μ g/mL (não tóxicos).

Para a realização do teste de eclodibilidade larval (TEO), inicialmente se procedeu à recuperação dos ovos. Para tal, foram colhidas fezes diretamente da ampola retal de caprinos, previamente selecionados, com contagem de OPG superior a 2800. Um *pool* de 55g de fezes foi processado conforme o protocolo de Coles et al. (1992), adaptado por Bizimenyera et al. (2006). Para seguir a adaptação, aproximadamente 55 μ L da suspensão contendo 200 ovos foram acondicionados em cada poço em placas de 24 poços. Calculado o volume final de 1mL

para cada poço, os tratamentos fitoterápicos foram preparados nas concentrações de: 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,562 e 0,781mg/mL. O extrato foi diluído com 3% de DMSO. O controle negativo foi feito com água destilada; já os controles positivos foram realizados com o emulsificante DMSO aquoso a 3% (v/v) e o outro com albendazol 0,63mg/mL. A contagem dos ovos e das larvas foi realizada em microscópio invertido. Seis réplicas foram realizadas para cada tratamento e também para os controles. No cálculo da eficácia, utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{Percentual de eclodibilidade (\%)} = L1 / (\text{ovos} + L1) \times 100$$

No teste de desenvolvimento larval (TDL), para a obtenção das larvas de primeiro estágio (L1), obteve-se uma alíquota de suspensão de ovos, conforme método descrito por Hubert e Kerboeuf (1992), a qual posteriormente foi incubada por 24 horas em estufa a 37°C. O TDL foi realizado seguindo-se a metodologia descrita por Roberts e O'Sullivan (1950), modificado. Uma alíquota de 1mL, contendo aproximadamente 230 L1 de *H. contortus*, foi incubada por 6 dias com 2g de fezes de um animal livre de infecção parasitária, juntamente com 1mL do extrato nas concentrações 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,562 e 0,781mg/mL. O controle negativo foi feito com água destilada, já os controles positivos foram realizados com o emulsificante DMSO aquoso a 3% (v/v) e o outro com ivermectina (0,63mg/mL). Seis réplicas foram realizadas para cada tratamento e também para os controles.

A análise estatística foi realizada com a análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey, onde foram considerados estatisticamente diferentes os resultados que apresentaram probabilidade de ocorrência da hipótese de nulidade menor que 5% ($p < 0,05$). Todas as análises foram realizadas usando-se o programa GraphPad Prism® 5.

Resultados e discussão

Na busca por fitoterápicos antiparasitários, os testes *in vitro* são fundamentais para fazer uma análise preliminar dos compostos químicos e sua ação. Tendo em vista a grande quantidade de herbais sendo pesquisados, os métodos *in vitro* destacam-se por seu baixo custo e tempo empregados, além de não serem utilizados animais vertebrados experimentais (Fortes et al., 2014).

Na marcha fitoquímica, foram detectadas a presença de alcaloides, catequinas, esteroides, fenóis, resinas e taninos. Antocianinas, antocianidinas, leucoantocianidinas e triterpenos não foram encontradas nos testes usados. O teor de fenóis totais, em equivalentes de ácido gálico, foi de $0,184 \pm 0,021$ mg/g. O teste de toxicidade frente *A. salina* apresentou DL50 de 1.785 μ g/mL ($R^2 = 0,8875$). No ensaio antioxidante foi observado que a CE_{50} , concentração na qual ocorre 50% do efeito, foi $47,55 \pm 0,99$ mg/mL, já a do padrão foi $0,5 \pm 0,03$ mg/mL.

Na marcha fitoquímica, os compostos encontrados nos testes qualitativos corroboram com os expostos na literatura científica (Dagne et al., 2000). Dentre os principais responsáveis pela atividade anti-helmíntica de *A. vera*, destacam-se os flavonoides e taninos (Kayser et al., 2003). Além destes, a planta possui outros metabólitos capazes de produzir respostas pró-inflamatórias, as quais são importantes para combater os desafios sanitários enfrentados pelos animais (Cellini et al., 2014).

Os taninos possuem efeito anti-helmíntico pronunciado, devido principalmente à diminuição da disponibilidade de nutrientes ao organismo do parasita (Hoste et al., 2006). Especificamente para helmintos, também ocorre redução da fertilidade das fêmeas adultas e da eclodibilidade dos seus ovos. Além disso, há diminuição da motilidade das larvas, o que pode diminuir a taxa de contaminação da pastagem (Molan et al., 2003). Como efeito secundário, acontece uma maior biodisponibilidade de proteínas no organismo do animal, podendo levar a uma maior resposta imune sobre parasitos intestinais (Alonso-Díaz et al., 2011). Athanasiadou et al. (2001) verificaram que o extrato de quebracho (*Schinopsis balansae*) rico em taninos diminuiu a viabilidade de larvas de *H. contortus*. Em estudo realizado por Juhnke et al. (2012), foi demonstrado que o uso de extrato de taninos para combater *H. contortus* não só diminuiu o grau de parasitismo como também reduziu o grau de anemia dos animais infectados. Cordeiros quando parasitados e expostos a pastos com diferentes tipos de forrageiras, tendem a consumir plantas com maior teor de tanino (Lisonbee et al., 2009). Essa ingestão ocorre pela associação estabelecida de que o consumo de plantas com elevado teor deste composto reduz a carga parasitária (Lisonbee et al., 2009). Os flavonoides têm ação indireta frente aos parasitas, devido ao fato deste composto ser o maior responsável pela atividade antioxidante da planta; assim sendo, possui efeito direto sobre a redução do envelhecimento celular e melhora da imunidade (Lakshmi et al., 2010).

Avaliar toxicidade dos extratos para os animais e/ou para o meio ambiente é outro ponto-chave que pode e deve ser abordado na metodologia *in vitro* (Carvalho et al., 2009). Para estabelecer a toxicidade dos fitoterápicos, o ensaio de letalidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina* Leach apresenta-se como um método de alta especificidade (Lhullier et al., 2006). Além de ter menor custo barato, é vendido em forma de cistos, possui distribuição cosmopolita, sendo seguro e prático (Koutsaftis e Aoyama, 2007). Os resultados encontrados nos testes *in vitro* aliados aos vistos neste teste mostram que o extrato produzido possui propriedades antiparasitárias e ao mesmo tempo não é tóxico ao meio ambiente. Somente após a comprovação de que o herbal não possui toxicidade *in vitro* o mesmo pode ser aprovado para ser testado *in vivo* (Arcanjo et al., 2012).

O extrato demonstrou atividade de inibição da eclodibilidade de ovos com característica dose-dependente e atingiu eficácia superior a 90% nas concentrações de 50 e 100mg/mL (Tabela 1). Diversos compostos fitoterápicos, produzidos a partir de diferentes plantas, já foram testados no TEO com ovos de *H. contortus*. Extratos hidroalcoólicos de *Maesa lanceolata* e *Plectranthus punctatus* inibiram 100% a eclosão de ovos de *H. contortus* quando testados em concentração abaixo de 1mg/mL (Tadesse et al., 2009). A mesma concentração inibitória foi observada por Egaule et al. (2011), que testaram extratos aquosos de *Leonotis ocymifolia*, *Leucas martinicensis*, *Albizia schimperiana* e *Senna occidentalis*. O extrato aquoso de *Anacardium humile* demonstrou inibição da eclosão dos ovos de 90,9% na dosagem de 100mg/mL (Nery et al., 2010). Extratos aquosos de *Syzygium cumini*, *Genipa americana* e *Solanum lycocarpum* inibiram, respectivamente, 96,17; 18,27 e 14,2% na concentração de 100mg/mL (Oliveira, 2013). Extrato aquoso de *Annona senegalensis* na concentração 7,1mg/mL, reduziu a eclodibilidade dos ovos em 88,5% (Alawa et al., 2003).

Extrato aquoso de *Myrsine africana* na concentração de 24mg/mL obteve eficácia de 77% (Gathuma et al., 2004). Extrato hidroalcoólico de *Tarenaya spinosa* inibiu a eclosão de 81,53% dos ovos do referido parasito, quando utilizado na dosagem de 150mg/mL (Andrade et al., 2014).

Tabela 1: Percentual médio (\pm desvio padrão) de inibição da eclosão de ovos de nematódeos gastrintestinais no teste TEO e do desenvolvimento larval no teste TDL do extrato etanólico obtido de *Aloe vera*

Concentração (mg/mL)	TEO	TDL
100,0	94,35 \pm 1,13%A	76,03 \pm 0,45%B
50,0	90,87 \pm 0,58%A	70,33 \pm 1,56%B
25,0	66,14 \pm 1,09%B	55,67 \pm 1,33%C
12,5	53,93 \pm 0,67%C	39,26 \pm 1,14%D
6,25	31,28 \pm 0,78%D	15,24 \pm 2,26%E
3,12	20,03 \pm 0,80%E	5,78 \pm 0,58%F
1,56	16,07 \pm 1,34%EF	4,24 \pm 1,83%F
0,78	10,99 \pm 2,54%F	3,16 \pm 0,77%FG
C- DMSO (3%)	0,79 \pm 0,13%G	0,79 \pm 0,13%G
C + ^{TEO}	97,13 \pm 0,67%A	-
C + ^{TMLA}	-	97,85 \pm 1,03%A
CL ₅₀	11,49 mg/mL	22,36 mg/mL

C - = Água destilada; C +^{TEO} = albendazol 0,63 mg/mL; C +^{TMLA} = moxidectina 0,63 mg/mL; CL₅₀ = concentração letal para 50% dos ovos. Letras maiúsculas comparam médias nas colunas; letras dessemelhantes indicam diferença significativa (P<0,05).

O fitoterápico não inibiu mais de 90% o desenvolvimento larval em nenhuma das concentrações testadas, sendo seu efeito igualmente dose-dependente (Tabela 1). É importante enfatizar que os resultados encontrados no TEO são superiores ao TDL, em todas as concentrações testadas (p<0,05), o que também foi observado na literatura científica consultada. Extratos aquosos de *Leonotis ocymifolia*, *Leucas martinicensis*, *Albizia schimperiana* e *Senna occidentalis* induziu 100, 99,85, 99,31 e 96,36% de inibição do desenvolvimento larval de *H. contortus*, respectivamente (Egaule et al., 2011). Em estudo conduzido por Macedo et al. (2009), utilizando óleo essencial de *Eucalyptus globulus* na concentração de 43,5mg/mL, foi demonstrado 98,7% de inibição do desenvolvimento larval. Extrato aquoso de *Musa* sp., avaliado na concentração de 57,76mg/mL apresentou eficácia de 90% (Oliveira et al., 2010). Extratos de folhas e sementes produzidos com acetona, etilacetato e metanol produzidos com *Annona squamosa*, *Eclipta prostrata*, *Solanum torvum*, *Terminalia chebula* e *Catharanthus roseus* mostraram completa inibição (100%) quando utilizados na concentração de 50mg/mL (Kamaraj e Rahuman, 2011). Utilizando a concentração de 50mg/mL de extrato acetato de etila produzido com *Azadirachta indica* observou-se inibição no desenvolvimento larvar de 68,10% (Costa et al., 2008).

Mesmo existindo diversos estudos acerca das propriedades biológicas da *A. vera*, nunca houve pesquisas focando na ação da planta frente *H. contortus*. Essa planta possui diversas finalidades já documentadas. Todavia, muitas serão elucidadas devido à grande quantidade de compostos presentes em sua estrutura (Boudreau e Beland, 2006; Cellini et al., 2014). O extrato demonstrou desempenho promissor, mesmo quando comparados com os controles positivos, o que evidencia a potente atividade antiparasitária da planta.

Referências

- ALAWA, C.B.; ADAMU, A.M.; GEFU, J.O.; AJANUSI, O.J.; ABDU, P.A.; CHIEZEY, N.P.; ALAWA, J.N.; BOWMAN, D.D. *In vitro* screening of two Nigerian medicinal plants (*Vernonia amygdalina* and *Annona senegalensis*) for anthelmintic activity. *Veterinary Parasitology*, v.113, p.73-81, 2003.
- ALONSO-DÍAZ, M.A.; TORRES-ACOSTA, J.F.J.; SANDOVAL-CASTRO, C.A.; HOSTE, H. Comparing the sensitivity of two *in vitro* assays to evaluate the anthelmintic activity of tropical tannin rich plant extracts against *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, v.181, p. 360-364, 2011.
- ANDRADE, F.D.; RIBEIRO, A.R.C.; MEDEIROS, M.C.; FONSECA, S.S.; ATHAYDE, A.C.R.; FERREIRA, A.F.; ONALDO, G.R.; SILVA, W.W. Anthelmintic action of the hydroalcoholic extract of the root of *Tarenaya spinosa* (Jacq.) Raf. for *Haemonchus contortus* control in sheep. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 34, p. 942-946, 2014.
- ARCANJO, D.D.R.; ALBUQUERQUE, A.C.M.; MELO-NETO, B.; SANTANA, L.C.L.R.; MEDEIROS, M.; CITÓ, A.M.G.L. Bioactivity evaluation against *Artemia salina* Leach of medicinal plants used in Brazilian Northeastern folk medicine. *Brazilian Journal of Biology*, v.72, n. 3, p. 505-509, 2012.
- ATHANASIADOU, S.; KYRIAZAKIS, I.; JACKSON, F.; COOP, R.L. Direct anthelmintic effects of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: *in vitro* and *in vivo* studies. *Veterinary Parasitology*, v. 99, p. 205-219, 2001.
- BIZIMENYERA, E.S.; GITHIORI, J.B.; ELOFF, J.N.; SWAN, G.E. *In vitro* activity of *Peltophorum africanum* Sond. (Fabacea) extracts on the egg hatching and larval development of the parasitic nematode *Trichostrongylus colubriformis*. *Veterinary Parasitology*, v.142, p. 336-343, 2006.
- BLOIS, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, v.181, p.1199-1200, 1958.
- BOUDREAU, M.D.; BELAND, F. A. An evaluation of the biological and toxicological properties of *Aloe barbadensis* (miller), *Aloe vera*. *Journal of Environmental Science and Health Part C*, v.24, n.1, p.103-154, 2006.
- CELLINI, L; DI BARTOLOMEO, S.; DI CAMPLI, E.; GENOVESE, S.; LOCATELLI, M.; DI GIULIO, M. *In vitro* activity of *Aloe vera* inner gel against *Helicobacter pylori* strains. *Letters in applied microbiology*, v.59, n.1, p. 43-48, 2014.
- COLES, G.C.; BAUER, C.; BORGSTEEDE, F.H.M.; GEERTS, S.; KLEI, T.R.; TAYLOR, M.A.; WALLER, P.J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) - methods for detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, v. 44, p. 35-44, 1992.

Conclusão

Concluiu-se que o extrato obtido pela metodologia descrita no presente experimento demonstrou ser candidato a fitoterápico antiparasitário frente *H. contortus*. Os exames bioquímicos apontaram a presença de diversos compostos químicos que possuem a capacidade nematocida. Novos estudos devem ser realizados buscando maximizar a eficácia do produto e posteriormente testá-lo em testes *in vivo*.

- COSTA, C.T.C.; BEVILAQUA, C.M.L.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L.F.; MACIEL, M.V.; MORAIS, S.M.; CASTRO, C.M.S.; BRAGA, R.R.; OLIVEIRA, L.M.B. *In vitro* ovicidal and larvicidal activity of *Azadirachta indica* extracts on *Haemonchus contortus*. *Small Ruminant Research*, v. 74, p. 284-287, 2008.
- DAGNE, E.; BISRAT, D.; VILJOEN, A.; VAN WYK, B.E. Chemistry of Aloe species. *Current Organic Chemistry*, v. 4, n.10, p.1055-1078, 2000.
- FORTES, F.S.; KLOSTER, F.S.; SCHAFER, A.S.; BIER, D.; BUZATTI, A.; YOSHITANI, U.Y.; MOLENTO, M.B. Avaliação da resistência em um isolado de campo selecionado de *Haemonchus contortus* à ivermectina e moxidectina usando o Teste de Migração de Larvas em Ágar. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 33, p.183-187, 2014.
- GATHUMA, J.M.; MBARIA, J.M.; WANYAMA, J.; KABURIA, H.F.A.; MPOKE, L.; MWANGI, J.N. Efficacy of *Myrsine africana*, *Albizia anthelmintica* and *Hilderbrandtia sepalosa* herbal remedies against mixed natural sheep helminthosis in Samburu district, Kenya. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 91, p. 7-12, 2004.
- HOSTE, H.; JACKSON, F.; ATHANASIADOU, S.; THAMSBORG, S.M.; HOSKIN, S.O. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends in Parasitology*, v.22, p. 253-261, 2006.
- Hubert, J.; Kerboeuf, D. A microlarval development assay for the detection of anthelmintic resistance in sheep nematodes. *Veterinary Record*, v.130, p. 442-446, 1992.
- HUSEINI, H.F.; KIANBAKHT, S.; HAJIAGHAEI, R.; DABAGHIAN, F. H. Anti-hyperglycemic and anti-hypercholesterolemic effects of *Aloe vera* leaf gel in hyperlipidemic type 2 diabetic patients: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Planta Medica-Natural Products and Medicinal Plant Research*, v.78, n. 4, p. 311, 2012.
- JUHNKE, J.; MILLER, J.; HALL, J.O.; PROVENZA, F.D.; VILLALBA, J. J. Preference for condensed tannins by sheep in response to challenge infection with *Haemonchus contortus*. *Veterinary parasitology*, v.188, n.1, p.104-114, 2012.
- KAMARAJ, C.; RAHUMAN, A.A. Efficacy of anthelmintic properties of medicinal plant extracts against *Haemonchus contortus*. *Research in veterinary science*, v. 91, n. 3, p.400-404, 2011.
- KAYSER, O.; KIDERLEN, A.F.; CROFT, S. L. Natural products as antiparasitic drugs. *Parasitology Research*, v.90, n. 2, p. 55-62, 2003.
- KOUTSAFTIS, A.; AOYAMA, I. Toxicity of four antifouling biocides and their mixtures on the brine shrimp *Artemia salina*. *Science of the Total Environment*, v. 387, n.1, p.166-174, 2007.

- LHULLIER, C.; HORTA, P.A.; FALKENBERG, M. Avaliação de extratos de macroalgas bênticas do litoral catarinense utilizando o teste de letalidade para *Artemia salina*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.16, p.158-163, 2006.
- LISONBEE, L.D.; VILLALBA, J.J.; PROVENZA, F.D.; HALL, J.O. Tannins and self-medication: Implications for sustainable parasite control in herbivores. *Behavior Processes*, v. 82, p.184-189, 2009.
- MACEDO, I.T.; BEVILAQUA, C.M.; OLIVEIRA, L.D.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L.; VIEIRA, L.D.S.; OLIVEIRA, F.R.; BARROS, R.S.; CHAGAS, A.C. Atividade ovicida e larvicida *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Haemonchus contortus*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.18, p. 62-66, 2009.
- MATOS, F.J.A. *Farmácias vivas*. 3. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1998. 220 p.
- MCDONALD, S.; PRENZLER, P.D.; ANTOLOVICH, M.; ROBARDS, K. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, v.73, p.73-84, 2001.
- MEYER, B.N.; FERRIGNI, N.R.; PUTNAM, J.E.; JACOBSEN, L.B.; NICHOLS, D.E.; MCLAUGHLIN, J.L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Plant Medica*, v. 45, p. 31-34, 1982.
- MOLAN, A.L.; DUNCAN, A.J.; BARRY, T.N.; MCNABB, W.C. Effects of condensed tannins and crude sesquiterpene lactones extracted from chicory on the motility of larvae of deer lungworm and gastrointestinal nematodes. *Parasitology*, v. 52, p.209-218, 2003.
- MOLENTO, M.B. Resistência parasitaria em helmintos de equídeos e propostas de manejo. *Ciência Rural*, v. 35, p.1469-1477, 2005.
- MOLENTO, M.B.; VERÍSSIMO, C.J.; AMARANTE, A.T.; VAN WYK, J.; CHAGAS, A.C.S.; DE ARAÚJO, J.V.; BORGES, F.A. Alternativas para o controle de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 80, n. 2, p. 253-263, 2013.
- NERY, P.S.; NOGUEIRA, F.A.; MARTINS, E.R.; DUARTE, E.R. Effects of *Anacardium humile* leaf extracts on the development of gastrointestinal nematode larvae of sheep. *Veterinary Parasitology*, v.171, p. 361-364, 2010.
- OLIVEIRA, L.D.R. *Plantas medicinais como alternativa para o controle de Haemonchus contortus em ovinos: testes in vitro e in vivo*, 2013. 59 p. Dissertação (Mestrado) - Ciências Animais - Universidade de Brasília, Brasília, 2013.
- OLIVEIRA, L.N.; DUARTE, E.R.; NOGUEIRA, F.A.; SILVA, R.B.; FILHO, D.E.F.; GERASEEV, L.C. Eficácia de resíduos da bananicultura sobre a inibição do desenvolvimento larval em *Haemonchus* spp. provenientes de ovinos. *Ciência Rural*, v. 40, p. 488-490, 2010.
- RAJASEKARAN, S.; RAVI, K.; SIVAGNANAM, K.; SUBRAMANIAN, S. Beneficial effects of Aloe vera leaf gel extract on lipid profile status in rats with streptozotocin diabetes. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, v. 33, n. 3, p. 232-237, 2006.
- RAMOS, A.P.; PIMENTEL, L.C. Ação da Babosa no reparo tecidual e cicatrização. *Brazilian Journal of Health*, v. 2, n.1, 2013.
- ROBERTS, F.H.S.; O'SULLIVAN, P.J. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastro-intestinal tract of cattle. *Crop Pasture Science*, v.1, p. 99-102, 1950.
- SPRENGER, L.K.; AMARAL, C.H.; LEITE FILHO, R.V.; AGUIAR, T.N.; MOLENTO, M. B. Eficácia do fosfato de levamisol em nematódeos gastrintestinais de caprinos e ovinos. *Archives of Veterinary Science*, v.18, n.1, p. 29-39, 2013.
- SPRENGER, L.K.; BUZATTI, A.; CAMPESTRINI, L.H.; YAMASSAKI, F.T.; MAURER, J.B.B.; BAGGIO, S.F.Z.; MAGALHÃES, P.M.; MOLENTO, M.B. Atividade ovicida e larvicida do extrato hidroalcoólico de *Artemisia annua* sobre parasitas gastrintestinais de bovinos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 67, n.1, p. 25-31, 2015.
- TADESSE, D.; EGUALE, T.; GIDAY, M.; MUSSA, A. Ovicidal and larvicidal activity of crude extracts of *Maesa lanceolata* and *Plectranthus punctatus* against *Haemonchus contortus*. *Journal of ethnopharmacology*, v.122, n. 2, p. 240-244, 2009.
- YIM, D.; KANG, S.S.; KIM, D.W.; KIM, S.H.; LILLEHOJ, H.S.; MIN, W. Protective effects of *Aloe vera*-based diets in *Eimeria maxima*-infected broiler chickens. *Experimental Parasitology*, v.127, n.1, p.322-325, 2011.