

ATIVIDADE OVICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL E DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Ocimum basilicum* SOBRE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DE OVINOS

CASTRO, Leonardo Mortagua de ¹;
PINTO, Natália Berne ²;
MOTA, Tairan Ourique ³;
MOURA, Micaele Quintana de ²;
DIAS DE CASTRO, Luciana Laitano ⁴;
MADRID, Isabel Martins ⁵;
FREITAG, Rogério Antônio ⁶;
BERNE, Maria Elizabeth Aires ⁷.

Recebido: 27/05/2017

Aceito: 02/09/2017

¹Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Veterinária/UFPEL; ²Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Parasitologia/UFPEL; ³Acadêmico da Faculdade de Veterinária/UFPEL; ⁴Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias/UFPR; ⁵Médica Veterinária, Prefeitura Municipal de Pelotas; ⁶Professor, Instituto de Química e Geociências/UFPEL; ⁷Professora, Instituto de Biologia/UFPEL.

RESUMO

O controle dos helmintos gastrintestinais em ovinos, realizado exclusivamente através de anti-helmínticos, tem como consequência a seleção de populações de helmintos resistentes a praticamente todos os fármacos disponíveis. Isso tem motivado à busca de alternativas para controle, entre as quais destacamos a utilização de fitoterápicos. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade ovicida *in vitro* do óleo essencial e do extrato hidroalcoólico de *Ocimum basilicum* em nematódeos de ovinos e determinar os constituintes químicos majoritários do óleo essencial. Para os estudos *in vitro* foram utilizadas fezes de ovinos naturalmente infectados, testadas frente ao óleo essencial de *O. basilicum* nas concentrações de 32 a 0,25 mg/mL e ao extrato hidroalcoólico nas concentrações 40 a 1,25 mg/mL. Como controle positivo foi utilizado o princípio ativo tiabendazol (0,025 mg/mL) e negativo a água destilada. A análise química do óleo essencial determinou como constituintes majoritários chavicol (34,68%) e linalool (27,68%). O óleo essencial apresentou atividade ovicida acima de 99% em todas as concentrações testadas. O extrato hidroalcoólico nas concentrações entre 40 e 20 mg/mL obteve 100% de ação, decrescendo a partir de 10 mg/mL, atingindo 9,76% de atividade na concentração 1,25 mg/mL. Os controles, positivo e negativo, obtiveram 98,57% e 8,5%, respectivamente. O valor da concentração letal média (CL₅₀) do extrato hidroalcoólico e óleo essencial foram de 4,797 mg/mL e 0,2123 mg/mL, respectivamente. *O. basilicum* apresentou ação anti-helmíntica *in vitro* sobre ovos de nematódeos gastrintestinais de ovinos, com maior potencial para o óleo essencial, constituindo um promissor fitoterápico para estudos visando à busca de moléculas bioativas para serem utilizadas no controle dos nematódeos gastrintestinais.

Palavras-chave: Manjeriço. *Haemonchus*. *In vitro*. Atividade anti-helmíntica.

INTRODUÇÃO

A ovinocultura vem se fortalecendo nos últimos anos, com a valorização da carne e da lã e com isso firma-se como uma área importante de investimento dentro da pecuária. Entretanto, as nematodioses gastrintestinais têm acarretado prejuízos que muitas vezes inviabilizam a produção desses pequenos ruminantes (ECHEVARRIA et al., 1996; GITHIGIA et al., 2001).

O controle dessas parasitoses em ovinos vem sendo realizada através do uso de anti-helmínticos sintéticos, o que tem acarretado o surgimento de populações de nematódeos resistentes e conseqüentemente um controle ineficiente (ALMEIDA et al., 2010). Aliado a isto, produtos de origem animal sem a presença de resíduos químicos constituem uma exigência cada vez maior dos consumidores. Entre os métodos de controle alternativos pesquisados, vem se destacando a validação de fitoterápicos, com resultados promissores em nematódeos gastrintestinais de ovinos (ASSIS et al., 2003; CARVALHO et al., 2012; GITHIORI et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2009).

Ocimum basilicum (manjeriçã) é uma planta da família *Lamiaceae* cultivada em quase todo o Brasil, muito utilizada como condimento (BOWN, 1995). Estudos avaliando seu potencial de uso no controle de protozoários (ALMEIDA et al., 2007; MOTA et al., 2012), fungos (DAMBOLENA et al., 2010), insetos (GHOSH et al., 2012) e nematódeos (CARVALHO et al., 2012) vêm sendo realizados em diferentes regiões do mundo.

Considerando a iminente necessidade de buscar medidas alternativas de controle dos nematódeos gastrintestinais, e sendo os extratos vegetais promissores a esta finalidade, foi proposto o presente estudo. Este tem como objetivo verificar a ação *in vitro* do óleo essencial e do extrato hidroalcolico de *O. basilicum* sobre ovos de nematódeos gastrintestinais de ovinos, determinar a concentração letal média (CL₅₀), bem como quantificar os principais componentes do óleo essencial.

MATERIAL E MÉTODOS

Recuperação dos ovos

Amostras de fezes foram colhidas diretamente da ampola retal de dois cordeiros, naturalmente parasitados por nematódeos gastrintestinais. Os ovos foram quantificados (GORDON; WHITLOCK, 1939) e as larvas posteriormente identificadas (ROBERTS; O'SULLIVAN, 1950). A recuperação dos ovos se deu através da técnica de Hubert e Kerboeuf (1992) com modificações, sendo que as amostras positivas foram maceradas e acrescentadas de água a 40 °C, seguindo-se a passagem das fezes em quatro tamises com os seguintes diâmetros de abertura de malhas: 1 mm, 105 µm, 55 µm e 25 µm. Os ovos retidos no último tamis foram recolhidos através de lavagem com água destilada. Este material foi transferido para tubos de 50 mL e centrifugado a 3000 rpm, em temperatura ambiente, por cinco minutos. O sobrenadante foi descartado e o sedimento suspenso com solução salina saturada e novamente centrifugado por cinco minutos. Após a centrifugação o sobrenadante foi novamente passado em tamis de 25 µm, seguindo-se a quantificação dos ovos.

Obtenção do óleo essencial e extrato hidroalcoólico de *O. basilicum*

As folhas secas de *O. basilicum* utilizadas no teste foram adquiridas de distribuidor comercial, com certificação de qualidade e origem. Para obtenção do óleo essencial, as folhas secas foram submetidas à extração com arraste de vapor em aparelho Clevenger, durante 4 h. O óleo obtido foi seco com sulfato de sódio anidro P. A., armazenado em frasco âmbar e mantido a 18 °C até a utilização.

Para a obtenção do extrato hidroalcoólico, inicialmente foi preparada a tintura de *O. basilicum*, para isso, foram pesados 100 g da planta e adicionados 1000 mL de solução alcoólica a 70% e posteriormente esta mistura foi acondicionada ao abrigo da luz sob agitação diária durante sete dias. A seguir realizou-se a filtração, obtendo-se 760 mL da tintura, a qual foi acrescentado 240 mL de álcool 70%. Posteriormente, foi utilizado um evaporador rotativo com pressão negativa de 600 mmHg, a uma temperatura de 45 °C, com velocidade suficiente para homogeneizar e aquecer o conteúdo de maneira uniforme, resultando na evaporação da porção alcoólica da tintura.

O óleo essencial de *O. basilicum* foi submetido à análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa, em um equipamento GC/MS Shimadzu QP2010, com injetor split/splitless com coluna capilar Rtx-5MS RESTEK (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), nas seguintes condições cromatográficas: gás carreador Hélio, fragmentos obtidos por impacto de elétrons na energia de 70 V, vazão de 1,2 mL/min, split 1:10, volume injetado de amostra 1 µL. Temperatura programada do forno: a temperatura inicial foi de 40 °C, com rampa de aquecimento em 5 °C/min até 280 °C, ficando estável nessa temperatura por 10 minutos, com tempo total de 58 minutos, sendo a temperatura do injetor de 58 °C e interface 200 °C, os compostos foram analisados com base na biblioteca NIST08 do GC/MS. O óleo foi diluído em hexano P. A.

O efeito citotóxico do óleo essencial foi testado através do ensaio de MTT (brometo tiazoli azul de tetrazólio), conforme descrito por Mosmann (1983). Para isto foram utilizadas células de rim bovino Madin-Darby (MDBK).

Avaliação da inibição da eclosão

A avaliação do óleo essencial e do extrato hidroalcoólico foi realizada utilizando placas de cultivo de 24 poços com aproximadamente 150 ovos por orifício. O óleo essencial foi testado em oito concentrações (32, 16, 8, 4, 2, 1, 0,5 e 0,25 mg/mL) e o extrato hidroalcoólico em seis concentrações (40, 20, 10, 5, 2,5 e 1,25 mg/mL). Como controle positivo foi utilizado cloridrato de tiabendazol na concentração de 0,025 mg/mL e como controle negativo água destilada. Todas as avaliações foram realizadas em quatro repetições, seguindo-se de incubação em estufa B. O. D. a 28 °C com umidade relativa de 80% por 24 horas. A quantificação de ovos e larvas foi realizada em microscópio invertido (Zeiss, Alemanha). As médias da inibição da eclosão para cada tratamento foi determinada conforme a equação (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2007):

$$\% \text{ de inibição da eclosão} = \frac{\text{número de larvas}}{(\text{número de larvas} + \text{número de ovos})} \times 100$$

Análise estatística

A análise estatística foi realizada usando o software Statistix 9.0, ANOVA e comparação de médias pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A concentração letal média (CL_{50}), concentração capaz de inibir 50% da eclosão foi determinada a partir da curva dose-resposta. Com intervalo de confiança de 95%, utilizando o programa GraphPad Prism para Windows, versão 5.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As larvas infectantes foram identificadas na coprocultura como 97% de *Haemonchus contortus* e 3% de *Trichostrongylus* spp., este resultado confirma a importância destes dois gêneros, pertencentes a família *Trichostrongylidae*, sendo o *H. contortus* considerado o mais patogênico aos ovinos em todo o Brasil (AMARANTE et al., 2004).

No presente estudo, o extrato hidroalcoólico nas concentrações de 40 e 20 mg/mL apresentou 100% de atividade de inibição dos ovos destes parasitos, mostrando uma queda gradual até a concentração de 1,25 mg/mL (Tabela 1). O valor da CL_{50} deste extrato foi de 4,797 mg/mL. Dias de Castro et al. (2013) em estudo com o extrato hidroalcoólico de *Origanum vulgare*, também da família *Lamiaceae*, observaram que, embora tenha demonstrado ação ovicida, esta ocorreu apenas na concentração de 80 mg/mL (96,7%), quando testado contra ovos de nematódeos gastrintestinais de bovinos. Enquanto no presente estudo, a concentração de 10 mg/mL do extrato hidroalcoólico de *O. basilicum* já apresentou eficácia semelhante (98,6%). Esta diferença pode estar relacionada à presença e concentrações dos diferentes compostos químicos entre as plantas, mesmo pertencendo à mesma família.

Tabela 1 - Percentual médio (\pm desvio padrão) da inibição da eclosão do extrato hidroalcoólico de *Ocimum basilicum* sobre nematódeos gastrintestinais de ovinos.

Tratamento	Concentrações (mg/mL)							
	*AH	40	20	10	5	2,5	1,25	Água
Atividade	98,58 \pm 2,1 ^A	100 \pm 0,0 ^A	100 \pm 0,0 ^A	98,56 \pm 0,77 ^A	59,36 \pm 1,3 ^B	14,01 \pm 1,7 ^C	9,75 \pm 3,6 ^C	9,9 \pm 1,1 ^C
Ovicida								

*AH= tratamento com tiabendazol a 0,025 mg/mL. Letras maiúsculas distintas, na linha, diferem significativamente ($p \leq 0,05$).

Quando na forma de óleo essencial, o *O. basilicum* apresentou percentual de inibição da eclosão de 100% nas concentrações de 32 a 0,5 mg/mL, sendo que somente na concentração 0,25 mg/mL ocorreu uma pequena queda para 99% de eficiência (Tabela 2). A CL_{50} para inibição da eclosão foi de 0,2123 mg/mL. Resultados similares foram descritos por Pessoa et al. (2002), com o óleo essencial de *O. gratissimum*, planta pertencente ao mesmo gênero, tendo obtido atividade de inibição da eclosão sobre ovos de nematódeos gastrintestinais de ovinos próximo a 100%, até a concentração de 0,25 mg/mL.

Tabela 2 - Percentual médio (\pm desvio padrão) da inibição da eclosão do óleo essencial de *Ocimum basilicum* sobre nematódeos gastrintestinais de ovinos.

Concentrações (mg/mL)	
Tratamento	Atividade ovicida
*AH	98,58 \pm 2,1 ^B
32	100 \pm 0,0 ^A
16	100 \pm 0,0 ^A
8	100 \pm 0,0 ^A
4	100 \pm 0,0 ^A
2	100 \pm 0,0 ^A
1	100 \pm 0,0 ^A
0,5	100 \pm 0,0 ^A
0,25	99,05 \pm 0,41 ^B
Água	9,9 \pm 1,1 ^C

*AH= tiabendazol a 0,025 mg/mL. Letras maiúsculas distintas, na coluna, diferem significativamente ($p \leq 0,05$).

Em estudos realizados com óleos essenciais de plantas de diferentes famílias, a eficácia próxima a 100% foi obtida com concentrações maiores que as do presente estudo, como detectado com os óleos essenciais de *Croton zehntneri* e *Lippia sidoides*, que demonstraram 100% de inibição da eclosão de ovos na concentração de 1,25 mg/mL. (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2007). Esta diferença pode ser resultado da composição, atividade e concentração de compostos destas plantas com potencial anti-helmíntico.

Tendo em vista a ampla biodiversidade da flora brasileira, estudos com plantas buscando produtos naturais com atividade biológica são de fundamental importância para o desenvolvimento de novos fármacos anti-helmínticos (ASSIS et al., 2003). Assim a avaliação *in vitro* é amplamente utilizada por possibilitar a obtenção de resultados rápidos, com

menores gastos, e, sobretudo evitar o uso indiscriminado de animais de experimentação (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2005).

O teste de citotoxicidade realizado com o óleo essencial demonstrou que em todas as concentrações testadas foram obtidas entre 50% e 55% de células viáveis, na concentração de 0,12 mg/mL houve um aumento do número de células viáveis, atingindo 72% (Tabela 3).

Tabela 3 - Percentual médio de células de rim bovino Madin-Darby (MDBK) viáveis após tratamento com diferentes concentrações de óleo essencial de *Ocimum basilicum*.

Tratamento	Água	Concentração (mg/mL)								
		32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,12
Percentual de células viáveis	97,37	55	52	55	57	50	52	51	51	72

Os resultados obtidos nos testes *in vitro* mostraram que ambos os extratos avaliados apresentaram eficiência na inibição da eclosão, sendo que o óleo essencial de *O. basilicum* manteve seu potencial em todas as concentrações utilizadas, já o extrato hidroalcoólico nas concentrações de 5 mg/mL ou menores, não foi efetivo. Essa diferença de eficácia pode estar relacionada aos constituintes presentes e à concentração dos mesmos nos extratos, visto que os métodos de obtenção desses extratos são diferentes. Na análise da CL₅₀, podemos observar que o óleo essencial atingiu 50% de ação na inibição da eclosão na concentração de 0,2123 mg/mL, ou seja, uma concentração 22,6 vezes menor quando comparado ao extrato hidroalcoólico.

Estudos com extratos de plantas pertencentes à família de *O. basilicum* tem mostrado ação anti-helmíntica promissora (DIAS DE CASTRO et al., 2013; PESSOA et al., 2002). Entretanto muitas são as variáveis que podem interferir na ação final de um extrato, como: época de colheita da planta, grau de umidade, parte da planta utilizada, métodos de extração, tipo de plantio, dentre outros (DAOUK et al., 1995). Segundo Powers et al. (1982), a classificação do índice de eficácia de um anti-helmíntico é dividida em: efetivo, quando ação está acima de 90%; moderadamente efetivo, entre 80 a 90%; pouco efetivo, entre 60 e 80%; e não efetivo, abaixo de 60%. Sendo assim, os resultados aqui apresentados mostram que o óleo foi efetivo em todas as concentrações testadas, enquanto que o extrato hidroalcoólico foi

efetivo nas concentrações de 10 mg/mL, 20 mg/mL e 40 mg/mL, pouco efetivo na concentração de 5 mg/mL e as demais concentrações não foram efetivas em inibir a eclosão.

Visto que o óleo essencial de *O. basilicum* demonstrou ação anti-helmíntica mais promissora, foi realizada análise química (Tabela 4) que identificou como constituintes majoritários o chavicol (34,68%) e o β -linalool (27,68%). Resultados próximos aos obtidos na análise do óleo essencial foram descritos sobre diferentes espécies de *Ocimum* cultivadas no Brasil, nos quais os componentes majoritários foram chavicol (36,81 a 41,62%) e linalool (29,50 a 32,26%) (OLIVEIRA et al., 2013).

Tabela 4 - Análise química do óleo essencial de *Ocimum basilicum* por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa.

Compostos	%
1,8 Cineol (eucalyptol)	6,72
Beta linalool	27,68
Chavicol (estragole)	34,68
Ácido 2-propenóico, 3-fenil-, éster metílico (ácido cinâmico, éster metílico)	16,08
Alfa bergamotene	8,77
Gama-cadineno	6,07

O chavicol está presente em diversas plantas pesquisadas, como em *Feronia limonia*, que apresenta o chavicol como principal constituinte (34,69%), e quando testada contra larvas dos mosquitos *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*, alcançou excelentes resultados (SENTHILKUMA et al., 2013). Quanto à ação ovicida sobre *H. contortus*, *C. zehntneri* contendo 21,84 % de chavicol também mostrou resultados promissores (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2007).

Almeida et al. (2007), testaram o linalool, segundo maior constituinte do óleo essencial de *O. basilicum*, na concentração de 300 μ g/mL, causando a morte de 100% dos trofozoítos de *Giardia lamblia*, enquanto que 2 mg/mL do óleo essencial mostrou ação giardicida de 80%, indicando o linalool como um dos compostos com maior atividade sobre *G. lamblia*. No presente estudo, o linalool pode estar envolvido na ação de inibição da eclosão apresentada pelo óleo de *O. basilicum*.

Outro composto identificado nesse estudo, o 1,8 – cineol (eucaliptol), embora presente em menor concentração (6,72%), obteve sua ação anti-helmíntica confirmada em avaliação realizada com o óleo essencial de *Eucalyptus globulus*, com 83,89% deste constituinte

(MACEDO et al., 2009). Da mesma forma, esse constituinte presente no óleo essencial de *Artemisia lancea* (34,6%), mostrou ação ovicida sobre *H. contortus*, mas quando analisados separadamente, o óleo essencial e o 1,8 – cineol, apresentaram inibição da eclosão de ovos de 99,4% e 74,8%, respectivamente (ZHU et al., 2013).

Embora o chavicol e o linalool sejam os principais constituintes do óleo essencial de *O. basilicum*, com o excelente resultado verificado no presente estudo, não se pode desconsiderar os demais constituintes, mesmo que em menor concentração, pois podem ocorrer ações sinérgicas entre os mesmos, com interações entre as múltiplas moléculas que agem sobre o parasito (MARIE-MAGDELEINE et al., 2009).

CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos no presente estudo pode-se concluir que, tanto o extrato hidroalcoólico como o óleo essencial de *O. basilicum* possuem atividade na inibição da eclosão sobre *Haemonchus* spp. e *Trichostrongylus* spp. de ovinos, sendo o óleo essencial mais promissor, mostrando-se eficaz em menores concentrações. Futuros estudos são necessários para avaliar a ação anti-helmíntica *in vitro* e *in vivo* dos componentes majoritários do óleo, visando uma alternativa sustentável de controle desses nematódeos.

OVICIDAL ACTIVITY OF THE ESSENCIAL OIL AND THE HIDROALCOHOLIC EXTRACT OF *Ocimum basilicum* ON GASTROINTESTINAL NEMATODES OF SHEEP

ABSTRACT

The control of gastrointestinal helminths in sheep, carried out exclusively through anthelmintics, results in the selection of helminth populations resistant to practically all available drugs. This has motivated the search for control alternatives, among which is highlighted the use of herbal medicines. In this context the aim of this study was to evaluate the ovicidal activity *in vitro* of the essential oil and the hydroalcoholic extract of *Ocimum basilicum* in nematodes of sheep and determine the major chemical constituents of the essential oil. For the *in vitro* studies feces from naturally infected sheep were tested against the *O. basilicum* essential oil in concentrations from 32 to 0.25 mg/mL and the hydroalcoholic extract at concentrations from 40 to 1.25 mg/mL. Thiabendazole was used as positive control (0.025 mg/mL) and distilled water as negative control. The chemical analysis of the essential oil determined as major constituents chavicol (34.68%) and linalool

(27.68%). The essential oil showed ovicidal activity above 99% at all concentrations tested. The hydroalcoholic extract at concentrations between 40 and 20 mg/mL had 100% of action, decreasing from 10 mg/mL, reaching 9.76% of activity in the concentration 1.25 mg/mL. Positive and negative controls obtained 98.57% and 8.5%, respectively. The LC_{50} values of hydroalcoholic extract and essential oil were 4.797 mg/mL and 0.2123 mg/mL, respectively. *O. basilicum* presents anthelmintic action *in vitro* on gastrointestinal nematodes of sheep, with the greatest potential for the essential oil, being a promising herbal substance for studies searching for bioactive molecules to be used in the control of gastrointestinal nematodes.

Keywords: Basil. *Haemonchus*. *In vitro*. Anthelmintic activity.

ACTIVIDAD OVICIDA DEL ACEITE ESENCIAL Y EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Ocimum basilicum* SOBRE NEMATODOS GASTROINTESTINALES DE OVINOS

RESUMEN

El control de los helmintos gastrointestinales en ovinos, realizado exclusivamente a través de antihelmínticos, tiene como consecuencia la selección de poblaciones de helmintos resistentes a prácticamente todos los fármacos disponibles. Esto ha motivado a la búsqueda de alternativas para el control, entre las que cabe destacar la utilización de fitoterapéuticos. En este contexto el objetivo de este estudio fue evaluar la actividad ovicida *in vitro* del aceite esencial y del extracto hidroalcohólico de *Ocimum basilicum* en nematodos de ovinos e identificar los componentes mayoritarios del aceite esencial. Para los estudios *in vitro* fueron utilizadas las heces de ovinos naturalmente infectados, probados frente al aceite esencial de *O. basilicum* en las concentraciones de 32 a 0,25 mg/mL y al extracto hidroalcohólico en las concentraciones de 40 a 1,25 mg/mL, como control positivo se usó tiabendazol (0,025 mg/mL) y como control negativo agua destilada. El análisis químico del aceite esencial determinó como componentes mayoritarios el chavicol (34,68%) y el linalool (27,68%). El aceite esencial presentó actividad ovicida arriba del 99% en todas las concentraciones probadas. El extracto hidroalcohólico en las concentraciones de entre 40 e 20 mg/mL obtuvo 100% de acción, disminuyendo a partir de la concentración de 10 mg/mL, con 9,76% de actividad en la concentración de 1,25 mg/mL. Los controles positivos y negativos obtuvieron 98,57% y 8,5%, respectivamente. El valor de la CL_{50} del extracto hidroalcohólico y del aceite esencial fueron de 4,797 mg/mL y 0,2123 mg/mL, respectivamente. El *O. basilicum* presentó acción antihelmíntica *in vitro* sobre huevos de nematodos gastrointestinales de ovinos, con mayor potencial el aceite esencial, siendo un promisor fitoterapéutico para estudios en la búsqueda de moléculas bioactivas para ser utilizadas en el control de los nematodos gastrointestinales.

Palabras clave: Albaca. *Haemonchus*. *In vitro*. Actividad anti helmíntica.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, I.; ALVIANO, D. S.; VIEIRA, D. P.; et al. Antigiardial activity of *Ocimum basilicum* essential oil. **Parasitology Research**, v. 101, p. 443–452, 2007.
- ALMEIDA, F. A.; GARCIA, K. C. O. D.; TORGERSON, P. R.; et al. Multiple resistance to anthelmintics by *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in sheep in Brazil. **Parasitology International**, v. 59, p. 622–625, 2010.
- AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A.; ROCHA, R. A.; et al. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France lambs to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v. 120, p. 91–106, 2004.
- ASSIS, L. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, S. M.; et al. Ovicidal and larvicidal activity in vitro of *Spigelia anthelmia* Linn extracts on *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v. 117, n. 1-2, p. 43-49, 2003.
- BOWN, D. **Encyclopedia of Herbs & Theirs Uses**. New York; Dorling Kindersley Publishing, Inc., 1995. 424p.
- CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, S. M.; et al. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. **Veterinary Parasitology**, v. 148, n. 3-4, p. 288-294, 2007.
- CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; MORAIS, S. M.; SANTOS, L. F. L. Validação de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 7, n. 3, p. 97-106, 2005.
- CARVALHO, C. O.; CHAGAS, A. C. S.; COTINGUIBA, F.; et al. The anthelmintic effect of plant extracts on *Haemonchus contortus* and *Strongyloides venezuelensis*. **Veterinary Parasitology**, v. 183, p. 260–268, 2012.
- DAMBOLENA, J. S.; ZUNINO, M. P.; LOPEZ, A. G.; et al. Essential oils composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. from Kenya and their inhibitory effects on growth and fumonisim production by *Fusarium verticillioides*. **Innovative Food Science and Emmerging Technologies**, v. 11, p. 410-414, 2010.
- DAOUK, R. K.; DAGHER, S. M.; SATTOUT, E. J. Antifungal Activity of the Essential Oil of *Origanum syriacum* L. **Journal of Food Protection**, v. 58, n. 10, p. 1147-1149, 1995.
- DIAS DE CASTRO, L. L.; MADRID, I. M.; AGUIAR, C. L. G.; et al. *Origanum vulgare* (Lamiaceae) ovicidal potential on gastrointestinal nematodes of cattle. **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, n. 4, p. 508-513, 2013.

ECHEVARRIA, F.; BORBA, M. F. S.; PINHEIRO, A. C.; et al. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 62, p. 199-206, 1996.

GHOSH, A.; CHOWDHURY, N.; CHANDRA, G. Plant extracts as potential mosquito larvicides. **Indian Journal of Medical Research**, v. 135, p. 581-598, 2012.

GITHIGIA, S. M.; THAMSBORG, S. M.; MUNYUA, W. K. Impact of gastrointestinal helminths on production in goats in Kenia. **Small Ruminant Research**, v. 42, p. 21-29, 2001.

GITHIORI, J. B.; HÖGLUND, J.; WALLER, P. J.; BAKER, R. L. Anthelmintic activity of preparations derived from *Myrsine africana* and *Rapanea melanophloeos* against the nematode parasite, *Haemonchus contortus*, of sheep. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 80, n. 2-3, p. 187-191, 2002.

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, p. 50-52, 1939.

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

MACEDO, I. T. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; OLIVEIRA, L. M. B.; et al. Atividade ovicida e larvicida in vitro do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 3, p. 62-66, 2009.

MARIE-MAGDELEINE, C.; HOSTE, H.; MAHIEU, M.; et al. *In vitro* effects of *Cucurbita moschata* seed extracts on *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v. 161, p. 99-105, 2009.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.

MOTA, M. L.; LOBO, L. T.; COSTA, J. M.; et al. *In Vitro* and *In Vivo* Antimalarial Activity of Essential Oils and Chemical Components from Three Medicinal Plants Found in Northeastern Brazil. **Planta Medica**, v. 78, n. 7, p. 658-664, 2012.

OLIVEIRA, L. M. B.; BEVILAQUA, C. M.; COSTA, C. T. Anthelmintic activity of *Cocos nucifera* L. against sheep gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 159, p. 55-59, 2009.

OLIVEIRA, R. A.; MOREIRA, I. S.; OLIVEIRA, F. F. Linalool and methyl chavicol present basil (*Ocimum* sp.) cultivated in Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 2, p. 309-311, 2013.

PESSOA, L. M.; MORAIS, S. M.; BEVILAQUA, C. M. L. Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn. and eugenol against *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v. 109, n. 1-2, p. 59-63, 2002.

POWERS, K. G.; WOOD, L. B.; ECKERT, J.; et al. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W. A. A. V. P.) guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminantes (bovine and ovine). **Veterinary Parasitology**, v. 10, n. 4, p. 265-284, 1982.

ROBERTS, F. H. S.; O'SULLIVAN, P. J. Methods for egg counts and larvae cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 1, p. 99-102, 1950.

SENTHILKUMA, A.; JAYARAMAN, M.; VENKATESALU, V. Chemical constituents and larvicidal potential of *Feronia limonia* leaf essential oil against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Parasitology Research**. v. 112, p. 1337–1342, 2013.

ZHU, L.; DAÍ, J. L.; YANG, L.; QIU, J. *In vitro* ovicidal and larvicidal activity of the essential oil of *Artemisia lancea* against *Haemonchus contortus* (*Strongylidae*). **Veterinary Parasitology**, v. 195, p. 112–117, 2013.

Autor para correspondência:
Leonardo Mortagua de Castro.
leonardomortagua@gmail.com

Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Veterinária, Campus Universitário, Capão do Leão (RS), Brasil.