

Ação dos extratos de quatro plantas sobre larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de ovinos

Acción de extractos de cuatro plantas en las larvas infectivas de nematodos gastrointestinales de ovinos

Action of extracts of four plants against infective larvae of gastrointestinal nematodes of sheep

Dra. Izabella Cabral Hassum,^I MSc. Caroline Rita Venturi,^{II} Dra. Grace Gosmann,^{II} Dra. Ana M. Girardi Deiro^{III}

^I Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária EMBRAPA Meio Norte. Teresina, Piauí. Brasil.

^{II} Universidade Federal do Rio Grande do Sul UFRGS. Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Brasil.

^{III} Universidade da Região da Campanha URCAMP. Bagé, Rio Grande do Sul. Brasil.

RESUMO

Introdução: a ação de extratos hidroalcoólicos de *Eugenia uniflora* L. (pitangueira), *Mentha x piperita* L. (hortelã), *Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand (guabiju) e *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. (canafístula) foi avaliada sobre o desenvolvimento de nematódeos gastrintestinais nas coproculturas de ovinos.

Objetivo: avaliar a ação *in vitro* dos extratos vegetais sobre os nematódeos gastrintestinais de ovinos.

Métodos: cada extrato foi testado em culturas triplicadas de fezes nas seguintes concentrações: 200, 100, 20 e 2 mg.mL⁻¹. Como controle positivo foi utilizado moxidectina (0,001 mg.mL⁻¹) e água destilada como controle negativo. Após incubação, as larvas recuperadas foram fixadas, coradas e conservadas para posterior leitura.

Resultados: a concentração de 200 mg.mL⁻¹ do extrato de *Eugenia uniflora* foi a que promoveu menor número de larvas infectantes recuperadas das coproculturas

de ovinos (número de larvas por grama de fezes= 19) quando comparada as outras concentrações. Este valor foi dez vezes menor que o ldpq recuperado das coproculturas tratadas com o mesmo extrato na menor concentração (2 mg.mL⁻¹). **Conclusão:** a ação do extrato de *Eugenia uniflora* na maior concentração não diferiu estatisticamente do controle positivo (p< 0,05), sugerindo um efeito sobre a cultura destes nematódeos gastrointestinais.

Palavras chave: helmintos, pequeno ruminante, extrato vegetal, larva, *Eugenia uniflora*, *Mentha x piperita*, *Myrcianthes pungens*, *Peltophorum dubium*.

RESUMEN

Introducción: la acción de los extractos hidroalcohólicos de *Eugenia uniflora* L. (pitangueira), *Mentha x piperita* (menta), *Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand (guabiju) y *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. (cañafistula) se valoró en el desarrollo de los nematodos gastrointestinales en cultivos fecales de ovinos.

Objetivo: evaluar el efecto *in vitro* de extractos de plantas sobre los nematodos gastrointestinales de ovinos.

Métodos: cada extracto se probó en cultivos por triplicado de las heces en las concentraciones siguientes: 200 mg.mL⁻¹, 100 mg.mL⁻¹, 20 mg.mL⁻¹ y 2 mg.mL⁻¹. Se utilizó como control positivo moxidectina (0,001 mg.mL⁻¹) y agua destilada como control negativo. Después de la incubación, las larvas se recuperaron, se fijaron y tiñeron, y se conservaron para su posterior lectura.

Resultados: la concentración de 200 mg.mL⁻¹ de extracto de *Eugenia uniflora* se promovió a la disminución del número de larvas infectantes, se recuperó a partir de cultivos de heces de ovejas (número de larvas por gramos de heces= 19) en comparación con otras concentraciones. Este valor fue 10 veces menor que el recuperado de coprocultivos tratados con la concentración más baja en el extracto crudo (2 mg.mL⁻¹).

Conclusión: la acción del extracto de *Eugenia uniflora* en la mayor concentración no difirió estadísticamente del control positivo (p< 0,05), lo que sugiere un efecto en el cultivo de los nematodos gastrointestinales.

Palabras clave: helmintos, pequeños rumiantes, extracto de planta, larvas, *Eugenia uniflora*, *Mentha x piperita*, *Myrcianthes pungens*, *Peltophorum dubium*.

ABSTRACT

Introduction: an assessment was made of the action of hydroalcoholic extracts of *Eugenia uniflora* L. (pitangueira), *Mentha x piperita* (menta), *Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand (guabiju) and *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. (cañafistula) on the development of gastrointestinal nematodes in fecal cultures from sheep.

Objective: evaluate the *in vitro* effect of the plants upon gastrointestinal nematodes of sheep.

Methods: Each extract was tested in triplicate cultures of the faeces at the following concentrations: 200 mg.mL⁻¹, 100 mg.mL⁻¹, 20 mg.mL⁻¹ and 2 mg.mL⁻¹. moxidectin (0.001 mg.mL⁻¹) was used as positive control, and distilled water as negative control. After incubation, the larvae were recovered, fixed and stained, and preserved for future reading.

Results: the 200 mg.mL⁻¹ concentration of *Eugenia uniflora* extract was promoted to a decrease in the number of infective larvae, and was recovered from cultures of sheep faeces (number of larvae per gram of faeces = 19), in comparison with other concentrations. This value is 10 times smaller than the one recovered from

coprocultures treated with the lowest concentration in the crude extract (2 mg.mL⁻¹).

Conclusion: statistically, the action of the extract of *Eugenia uniflora* at the highest concentration did not differ from the positive control ($p < 0.05$). This is suggestive of an effect on the culture of gastrointestinal nematodes.

Key words: helminths, small ruminants, plant extract, larvae, *Eugenia uniflora*, *Mentha x piperita*, *Myrcianthes pungens*, *Peltophorum dubium*.

INTRODUÇÃO

No Brasil, a verminose constitui um dos maiores problemas sanitários na produção de pequenos ruminantes, sendo *Haemonchus contortus* o nematódeo mais patogênico e mais prevalente durante todo ano no Sul do Brasil, com ápice de infecção nos meses de verão e outono, quando se observa menor prevalência de nematódeos do gênero *Trichostrongylus*, que durante os meses de inverno apresentam alta prevalência.¹

O uso exclusivo de anti-helmínticos no controle destes parasitos já demonstra ser pouco eficaz, principalmente quando se considera *H. contortus*, e possivelmente contribui para a seleção de nematódeos resistentes aos princípios químicos existentes no mercado. Somado a este fato, a presença de resíduos químicos na carne e no meio ambiente faz aumentar a preocupação e a necessidade de viabilizar alternativas complementares ao método tradicional de controle e, conseqüentemente, produzir alimentos livres de contaminações, sem prejuízo para o meio ambiente.

A identificação de plantas com potencial efeito anti-helmíntico poderá ser uma dessas alternativas. Dentre as plantas escolhidas para este estudo, existem relatos na literatura científica sobre a *Mentha piperita*² e a *Eugenia uniflora*³ como plantas utilizadas no tratamento de diarreia, alterações no trato digestório e, especialmente no caso da *M. piperita* o tratamento de verminoses.² A atividade anti-helmíntica sobre *Trichostrongylus colubriformis* apresentada pelo extrato da planta *Peltophorum africanum*, (mesmo gênero de *P. dubium*) foi relatada em pesquisa realizada na África.⁴

As avaliações da ação desses extratos contra parasitos do trato digestório, especificamente os nematódeos, incluem testes *in vivo* e *in vitro*. Embora não possam substituir os testes *in vivo*, os ensaios *in vitro* para avaliação de potenciais efeitos anti-helmínticos servem como precursores de estudos nos animais, reduzindo os custos da pesquisa.

As coproculturas mimetizam a fase de vida livre não parasitária que estes nematódeos apresentam durante seu ciclo biológico, período no qual os ovos eliminados nas fezes se desenvolvem em larvas infectantes (L3). O presente trabalho avaliou a ação *in vitro* de extratos hidroalcoólicos de folhas de *E. uniflora* L. (pitangueira), *M. piperita* L. (hortelã), *Myrcianthes pungens* (O. Berg.) D. Legrand (guabiju) e *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. (canafístula) sobre o cultivo de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de ovinos naturalmente infectados, considerando o número de larvas recuperadas.

MÉTODOS

Coleta e identificação das espécies botânicas

Foram coletados exemplares de quatro espécies botânicas: *E. uniflora* (pitangueira) e *M. pungens* (guabiju), pertencentes à família Myrtaceae, *P. dubium* (canafistula) pertencente à família Fabaceae e *M. piperita* (hortelã) da família Lamiaceae para identificação ou confirmação e, quando necessário, formação de exsicatas sob depósito no Herbário CNPO da Embrapa Pecuária Sul. Exemplares da canafistula (CNPO No. 4085) foram adquiridos dentro da própria Unidade da Embrapa Pecuária Sul (CPPSUL) enquanto que os de pitangueira (CNPO No. 4089) e guabiju (CNPO No. 4084) foram coletados, de acordo com sua distribuição natural, em propriedades particulares situadas no município de Bagé, RS, Brasil. A hortelã (CNPO No. 4090) foi cultivada e coletada em propriedade particular neste mesmo município.

A identificação do material vegetal foi realizada seguindo a metodologia clássica através do uso de chaves de identificação botânica, comparação com descrições de espécies na bibliografia, comparação com exsicatas existentes no herbário CNPO e, quando necessário, consulta a especialistas. A base da nomenclatura botânica seguiu o sistema APG II.⁵

Material vegetal

Ramos contendo folhas de aspecto normal, novas e livres de alterações visíveis a olho nu, como presença de manchas e pulgões, foram coletados das quatro espécies vegetais pouco antes do início da floração. Os galhos foram desfolhados e apenas as folhas foram secas em estufa de circulação de ar à 60 °C durante 24 a 48 h e armazenadas, em sacos de papel, em temperatura ambiente (17 a 20 °C) ao abrigo da luz até o momento da extração. O tempo de armazenagem não ultrapassou três meses.

Obtenção dos extratos

A extração foi realizada no Laboratório de Fitoquímica da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), através de maceração com o solvente etanol: água (60:40) à temperatura ambiente. As folhas secas das espécies vegetais foram trituradas em moinho de facas e as extrações realizadas na proporção 10 % (material vegetal/líquido extrator), com agitação diária com bastão de vidro durante sete dias. Foram realizadas duas macerações para cada espécie. Após a primeira maceração, os extratos de cada espécie vegetal foram filtrados e novo líquido extrator foi adicionado ao material vegetal, dando início a uma segunda maceração. Os filtrados das duas macerações de cada espécie vegetal foram reunidos e evaporados em evaporador rotatório à temperatura inferior a 40 °C para retirada do etanol. Após extração, a fase aquosa foi congelada e liofilizada.

Os extratos liofilizados foram armazenados em um dessecador, mantido no Laboratório de Parasitologia/Helmintologia da Embrapa Pecuária Sul, até o momento dos testes.

Amostras fecais

Como doadores de fezes foram utilizados ovinos SRD, com idades variando de um a três anos de idade, naturalmente infectados com nematódeos gastrintestinais (NGI), provenientes de propriedade particular do Distrito de Palmas, Bagé, RS. As amostras de fezes foram coletadas, diretamente da ampola retal dos animais, para determinação do OPG (número de ovos por grama de fezes) e em seguida, homogeneizadas para obtenção de um "pool", do qual foram retirados os dois gramas necessários para preparação das coproculturas.

Teste in vitro

Os extratos foram testados, em triplicata, nas culturas de fezes em quatro concentrações (200, 100, 20 e 2 mg.mL⁻¹). As coproculturas foram preparadas com 2 g de fezes, 2 g de serragem e 2 mL do extrato, e permaneceram incubadas durante sete dias em estufas a 27 °C e umidade relativa superior a 80 %. O controle positivo foi formado por culturas preparadas com moxidectina a 0,001 mg.mL⁻¹, enquanto que os controles negativos receberam água destilada. Após incubação, as larvas foram recuperadas por técnica parasitológica *modificada*⁶ e colocadas em tubos de ensaio, coradas com lugol, conservadas em formol 5 %, identificadas e quantificadas. O número de larvas por grama de fezes (ldpg) foi determinado de acordo com metodologia previamente descrita.⁷

Análise estatística

Os valores de ldpg recuperados das culturas de fezes foram transformados em log (x+1)⁸ e submetidos à análise de variância (teste F) e o teste de *Duncan* foi utilizado para comparação entre as médias obtidas. Para isso foi utilizado o Programa Estatístico XLSTAT (versão para avaliação).

RESULTADOS

Nenhuma larva infectante foi recuperada das coproculturas do grupo controle positivo, sendo a moxidectina 100 % eficaz na concentração de 0,001 mg.mL⁻¹.

Nas culturas de fezes utilizadas como controle negativo a média de larvas infectantes recuperadas foi 200 ± 99 no total, sendo 85 % larvas de *H. contortus* e 15 % de *Trichostrongylus* sp. (tabelas 1, 2, 3 e 4). E, embora L3 de *H. contortus* e *Trichostrongylus* sp. tenham sido recuperadas em maior número das coproculturas, outros gêneros também foram identificados, como: *Cooperia* sp., *Ostertagia* sp., *Oesophagostomum* sp. e *Strongyloides* sp.

As diferenças entre as médias de ldpg recuperadas das coproculturas tratadas com os extratos de *M. piperita*, *M. pungens*, *P. dubium* e *E. uniflora* estão apresentadas nas tabelas 1, 2, 3 e 4, respectivamente.

Para cada um dos extratos de *M. piperita*, *M. pungens* e *P. dubium* testados em diferentes concentrações e comparados aos controles positivo e negativo não foi observado redução significativa ($p < 0,05$) no número de L3 recuperadas das coproculturas considerando todos os gêneros de NGI, assim como, quando a avaliação foi para o gênero *Trichostrongylus* sp. e a espécie *H. contortus* (tabelas 1, 2 e 3).

Na comparação entre as maiores e menores concentrações de *P. dubium* foi observado diferença significativa no número de L3 aferido, com menos L3 recuperadas das coproculturas tratadas com as menores concentrações; em nenhuma delas foi observada diferença entre as quatro concentrações quando comparadas ao controle negativo (tabela 3).

Não houve o estudo fitoquímico das plantas avaliadas neste trabalho, para identificar compostos ativos que possivelmente sejam responsáveis pela ação sobre os NGI.

Quando comparados os resultados de Idpg nas coproculturas tratadas com extratos de *E. uniflora* foi observado que na concentração de 2 mg.mL⁻¹ a recuperação de L3 foi dez vezes maior do que na maior concentração (200 mg.mL⁻¹) (tabela 4). O mesmo ocorreu quando considerado apenas a espécie *H. contortus*.

Tabela 1. Número médio de larvas infectantes (L3) de nematódeos gastrintestinais recuperadas das culturas de fezes ovinas tratadas com extratos hidroetanólicos de folhas de *Mentha piperita*, comparado ao obtido no controle positivo

Extrato	Concentração (mg.mL ⁻¹)	L3 Total (Idpg ± DP) ¹	<i>Haemonchus contortus</i> (Idpg ± DP) ¹	<i>Trichostrongylus</i> sp. (Idpg ± DP) ¹
<i>Mentha piperita</i>	200	270 ± 204 ^{ab}	203 ± 153 ^{ab}	40 ± 26 ^a
	100	287 ± 182 ^{ab}	260 ± 161 ^{ab}	27 ± 21 ^a
	20	590 ± 383 ^a	520 ± 329 ^a	27 ± 25 ^a
	2	457 ± 101 ^a	420 ± 78 ^a	20 ± 10 ^a
CP ²	-	0 ^c	0 ^c	0 ^b
CN ³	-	200 ± 99 ^b	170 ± 85 ^b	30 ± 14 ^a

Idpg: número de larvas por grama de fezes. Letras minúsculas iguais na coluna não representam diferença estatística significativa a 5 % (Teste Duncan). ¹: valores não transformados ± desvio padrão.

²: controle positivo= moxidectina 0,001 mg.mL⁻¹. ³: controle negativo= água destilada.

Tabela 2. Número médio de larvas infectantes (L3) de nematódeos gastrintestinais recuperadas das culturas de fezes ovinas tratadas com extratos hidroetanólicos de folhas de *Myrcianthes pungens*, comparado ao obtido no controle positivo

Extrato	Concentração (mg.mL ⁻¹)	L3 Total (ldpg ± DP) ¹	<i>Haemonchus contortus</i> (ldpg ± DP) ¹	<i>Trichostrongylus</i> sp. (ldpg ± DP) ¹
<i>Myrcianthes pungens</i>	200	104 ± 67 ^c	89 ± 58 ^c	10 ± 5 ^c
	100	1020 ± 756 ^a	883 ± 694 ^a	90 ± 36 ^a
	20	417 ± 523 ^{ab}	350 ± 433 ^{ab}	50 ± 61 ^{ab}
	2	167 ± 90 ^{bc}	122 ± 55 ^{bc}	25 ± 15 ^b
CP ²	-	0 ^d	0 ^d	0 ^d
CN ³	-	200 ± 99 ^{bc}	170 ± 85 ^{bc}	30 ± 14 ^{bc}

Letras minúsculas iguais na coluna não representam diferença estatística significativa a 5 % (Teste Duncan). ¹: valores não transformados ± desvio padrão. ²: controle positivo= moxidectina 0,001 mg.mL⁻¹. ³: controle negativo= água destilada.

Tabela 3. Número médio de larvas infectantes (L3) de nematódeos gastrintestinais recuperadas das culturas de fezes ovinas tratadas com extratos hidroetanólicos de folhas de *Peltophorum dubium*, comparado ao obtido no controle positivo.

Extrato	Concentração (mg mL ⁻¹)	L3 Total (ldpg ± DP) ¹	<i>Haemonchus contortus</i> (ldpg ± DP) ¹	<i>Trichostrongylus</i> sp. (ldpg ± DP) ¹
<i>Peltophorum dubium</i>	200	526 ± 671 ^a	309 ± 332 ^a	211 ± 337 ^a
	100	372 ± 316 ^a	337 ± 277 ^a	27 ± 25 ^{ab}
	20	123 ± 94 ^b	106 ± 82 ^b	12 ± 9 ^{bc}
	2	50 ± 24 ^b	23 ± 8 ^b	5 ± 3 ^{bc}
CP ²	-	0 ^c	0 ^c	0 ^d
CN ³	-	200 ± 99 ^{ab}	170 ± 85 ^{ab}	30 ± 14 ^{abc}

Letras minúsculas iguais na coluna não representam diferença estatística significativa a 5% (Teste Duncan). ¹: valores não transformados ± desvio padrão. ²: controle positivo= moxidectina 0,001 mg.mL⁻¹. ³: controle negativo= água destilada.

Tabela 4. Número médio de larvas infectantes (L3) de nematódeos gastrintestinais recuperadas das culturas de fezes ovinas tratadas com extratos hidroetanólicos de folhas de *Eugenia uniflora*, comparado ao obtido no controle positivo.

Extrato	Concentração (mg mL ⁻¹)	L3 Total (ldpg ± DP) ¹	<i>Haemonchus contortus</i> (ldpg ± DP) ¹	<i>Trichostrongylus</i> sp. (ldpg ± DP) ¹
<i>Eugenia uniflora</i>	200	19 ± 27 ^c	15 ± 21 ^b	2 ± 2 ^c
	100	373 ± 58 ^{ab}	324 ± 53 ^a	32 ± 6 ^{ab}
	20	473 ± 267 ^a	337 ± 213 ^a	63 ± 39 ^a
	2	181 ± 161 ^b	157 ± 140 ^a	14 ± 12 ^b
CP ²	-	0 ^c	0 ^c	0 ^c
CN ³	-	200 ± 99 ^{ab}	170 ± 85 ^a	30 ± 14 ^{ab}

Letras minúsculas iguais na coluna não representam diferença estatística significativa a 5 % (Teste Duncan). ¹: valores não transformados ± desvio padrão. ²: controle positivo= moxidectina 0,001 mg.mL⁻¹. ³: controle negativo= água destilada.

DISCUSSÃO

Em um trabalho realizado na Bahia,² foi observado o efeito dos extratos aquosos de folhas de *M. piperita* (115,9; 196 mg.mL⁻¹) sobre cultivos de larvas infectantes de NGI de caprinos promovendo redução superior a 95 %.

Os resultados obtidos com este trabalho também diferiram daqueles observados em estudos da atividade *in vitro* do extrato acetona de *Peltophorum africanum* sobre eclosão de ovos e desenvolvimento larval de *Trichostrongylus colubriformis*, que revelaram completo efeito ovicida e larvicida nas concentrações de 0,2 a 1,0 mg.mL⁻¹ dos extratos da folha, casca e raiz.⁴ Segundo os autores, a utilização de acetona resulta em extração de maior quantidade de compostos de *P. africanum*, quando comparado ao etanol.⁴

Nenhuma publicação prévia sobre atividade anti-helmíntica de *M. pungens* foi encontrada.

Em estudos realizados no estado do Paraná utilizando extrato de *E. uniflora* foi observada atividade sobre os ovos de trichostrongilídeos com taxa de inibição superior a 80 % da eclodibilidade dos ovos.⁹

Após muitos estudos realizados foi possível conhecer a atividade de alguns extratos vegetais que por serem ricos em taninos apresentaram propriedade anti-helmíntica.¹⁰⁻¹²

Os testes *in vitro* de eclodibilidade de ovos e desenvolvimento larval serão realizados futuramente utilizando extratos de *E. uniflora*.

Neste ensaio *in vitro* foi possível observar o efeito dos extratos das folhas de *E. uniflora*, planta pertencente à família Myrtaceae, em uma concentração de 200 mg.mL⁻¹,

sobre o desenvolvimento dos NGI cultivados nas fezes de ovinos, medido pelo número de L3 recuperadas.

O extrato de *E uniflora* em concentração igual a 200 mg.mL⁻¹ contribuiu para a redução do número de larvas de nematódeos gastrintestinais, especialmente *H. contortus* e *Trichostrongylus* sp., recuperadas das culturas de fezes ovinas. Os extratos de *M. piperita*, *M. pungens* e *P. dubium* não foram eficientes na redução do número de larvas de nematódeos gastrintestinais.

AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos aos Srs. Edegar Scholante, Godofredo Collares, Amauri Marques, Bernardo Franck e Valdonir Marin.

REFERÊNCIAS

1. Pinheiro AC, Echevarria FAM, Alves Branco FPJ. Epidemiologia da helmintose ovina em Bagé (R. G. SUL Brasil) In: Coletânea das Pesquisas Medicina Veterinária Parasitologia. v.5, t.2 Bagé, Brasil: EMBRAPA. CNPO. Documentos 3; 1987. p. 369.
2. Almeida MAO, Domingues LF, Almeida GN, Simas MMS, Botura MB, Cruz ACFG, et al. Efeitos dos extratos aquosos de folhas de *Mentha piperita* e de *Chenopodium ambrosoides* sobre cultivos de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de caprinos. Rev Brasileira Parasitologia Veterinária, Seropédica. 2007;16(1):57-9.
3. Garcia JPO, Lunardi JJ. Práticas alternativas de prevenção e controle das doenças dos bovinos. Porto Alegre: EMATER-ASCAR; 2001. p. 46.
4. Bizimenyera ES, Githiori JB, Eloff JN, Swan GE. *In vitro* activity of *Peltophorum africanum* Sond. (Fabaceae) extracts on the egg hatching and larval development of the parasitic nematode *Trichostrongylus colubriformis*. Veterinary Parasitology, Amsterdam. 2006;142(3-4):336-43.
5. Angiosperm Phylogeny Group 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. Bot J Linnean Soc. 2003;141:399-436.
6. Roberts FH, O'Sullivan PJ. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastro-intestinal tract of cattle. Australian J Agricultural Research, Collingwood. 1950;1(1):99-102.
7. Ueno H, Gonçalves PC. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes. 4 ed. Tokyo: JICA; 1998. p. 143.
8. Sampaio IBM. Estatística aplicada à experimentação animal. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia; 1998. p. 221.
9. Furtado KS. Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no estado do Paraná: testes *in vitro* e *in vivo* [Tese Doutorado]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2006.

10. Athanasiadou S, Kyriazakis I, Jackson F, Coop RL. Direct anthelmintic effects of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: *in vitro* and *in vivo* studies. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam. 2001;99(3):205-19.
11. Hoste H, Jackson F, Athanasiadou S, Thamsborg SM, Hoskin SO. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends Parasitology*. 2006;22(6):253-61.
12. Min BR, Pomroy WE, Hart SP, Sahlou T. The effect of short-term consumption of a forage containing condensed tannins on gastro-intestinal nematode parasite infections in grazing wether goats. *Small Ruminant Research*. 2004;51(3):279-83.

Recibido: 11 de octubre de 2011.

Aprobado: 22 de octubre de 2012.

Izabella Cabral Hassum. Pesquisadora, Embrapa Meio Norte CPAMN. Av. Duque de Caxias, 5650 Buenos Aires, Teresina/PI, Brasil. CEP: 64.006-220. Correo electrónico: izabella.hassum@embrapa.br