

VIABILIDADE DE OVOS DE *Ascaris suum* APÓS TRATAMENTO *IN VITRO* COM EXTRATOS DE *Baccharis trimera* E EXTRATO DE *Chenopodium ambrosioides*

VIABILITY OF *Ascaris suum* EGGS *IN VITRO* AFTER TREATMENT WITH EXTRACTS OF *Baccharis trimera* AND EXTRACT OF *Chenopodium ambrosioides*

RAFAEL LUIZ DA SILVA NEVES¹, WELLINGTON DE SOUZA MATA², LAMARA LAGUARDIA VALENTE ROCHA^{3*}

1. Mestre em Meio Ambiente e Sustentabilidade do Centro Universitário de Caratinga e professor titular dos cursos da área de saúde da UNEC. 2. Médico pediatra, doutor em Biologia celular e estrutural pela UFV e coordenador do curso de Medicina da UNEC. 3. Doutora em Biologia Celular e Estrutural pela UFV, MG. Professora titular do curso de medicina do Centro Universitário de Caratinga (UNEC), MG. Pesquisadora do Instituto de Ciências da Saúde, INCISA, UNEC.

* Vila Onze, 36, Centro, Caratinga, Minas Gerais, Brasil. CEP: 35300-100. lamara.laguardia@gmail.com

Recebido em 21/12/2015. Aceito para publicação em 10/02/2016

RESUMO

A utilização de plantas medicinais como antihelmíntico é largamente difundida entre a população, mas para comprovar a sua real eficácia, testes devem ser feitos. Nesse contexto, o presente estudo avaliou, *in vitro*, a viabilidade de ovos de *Ascaris suum* expostos aos extratos: alcoólico, hexânico e acetato de etila de *Baccharis trimera* (Less.) DC. e ao extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* L., contribuindo para o desenvolvimento de novos fitoterápicos úteis para o tratamento das doenças parasitárias. Foram utilizados dois controles positivos, um com droga sabidamente ovicida, o Thiabendazol e outro utilizando droga amplamente utilizada no tratamento de doenças parasitárias, o Albendazol na concentração de 10 partes por milhão (ppm), um controle negativo com ácido sulfúrico (H₂SO₄ 0,1 N), sem interferência de extratos e para verificar a possível interferência com DMSO 1%, um experimento paralelo foi realizado. Os experimentos realizados mostraram que nenhuma das duas plantas testadas tem ação contra ovos de *A. suum*. Os resultados apresentados confirmam que apenas o Thiabendazol possui ação ovicida, não permitindo o embrião dos ovos. O ácido sulfúrico e o dimetilsulfóxido a 1% não interferiram no embrião dos ovos. Embora os extratos das plantas testadas não sejam ovicidas, outras formulações que possam melhorar a atividade destes extratos testados bem como a realização de testes sobre a motilidade das larvas e sobre os vermes adultos devem ser feitos para que outros parâmetros de eficácia possam ser analisados e comprovados.

PALAVRAS-CHAVE: Plantas medicinais, antihelmínticos, *Baccharis trimera* (Less.) DC., *Chenopodium ambrosioides* L., *Ascaris suum*.

ABSTRACT

The use of medicinal plants as anthelmintic is widespread among the population, but to prove its real effectiveness, tests should be done. In this context, this study evaluated, *in vitro*, the viability of *Ascaris suum* eggs exposed to the extracts,

alcohol, hexane and ethyl acetate of *Baccharis trimera* (Less.) DC. and the aqueous extract of *Chenopodium ambrosioides* L., contributing to the development of new herbal medicines useful for the treatment of parasitic diseases. Two positive controls were used, with a drug known ovicidal, thiabendazole and another using the widely used drug in the treatment of parasitic diseases, Albendazole in the concentration of 10 parts per million (ppm), a negative control with sulfuric acid (H₂SO₄ 0.1 N) extracts without interference and to verify the possible interference with 1% DMSO, a parallel experiment was performed. The experiments showed that none of the tested plants have two action against eggs of *A. suum*. The results confirm that only the thiabendazole has ovicidal action, not allowing the embryonated eggs. The sulfuric acid and 1% dimethyl sulfoxide did not interfere in embryonated eggs. Although the plant extracts tested are not ovicidal, other formulations that may improve the activity of plant extracts as well as tests on the motility of the larvae and adult worms should be made for other efficacy parameters can be analyzed and tested.

KEYWORDS: Medicinal plants, anthelmintics, *Baccharis trimera* (Less.) DC., *Chenopodium ambrosioides* L., *Ascaris suum*.

1. INTRODUÇÃO

As enteroparasitoses ou parasitoses intestinais determinadas pelos helmintos e protozoários acompanham e caracterizam o subdesenvolvimento das populações. Embora, nem sempre com base em estatísticas confiáveis, é comum expressar em milhões o número de indivíduos infectados¹. Tais doenças não recebem devida atenção dos órgãos de saúde, embora possam também ser encontradas em menor escala em comunidades que apresentam elevado padrão de vida e de cultura. Nota-se então que o clima e o tipo de solo, associados à falta de informação e higiene, favorecem o aumento de casos de enteroparasitoses no mundo².

As infecções parasitárias representam um grave problema de saúde pública, sobretudo nos países em desenvolvimento, onde o crescimento populacional não é acompanhado pela melhoria das condições de vida da população³. Nestes países atingem cerca de 90% da população, ocorrendo um aumento significativo da frequência à medida que piora o nível socioeconômico⁴. Com uma ampla distribuição geográfica, são encontradas tanto em zonas rurais quanto urbanas, apresentando prevalência elevada onde são mais precárias as condições socioeconômicas da população⁵.

Estimativas mostram que um terço da população dos países subdesenvolvidos vive em condições ambientais propícias à disseminação das infecções parasitárias. É verificável, que as condições de saúde das populações estão relacionadas diretamente com a precariedade no saneamento básico e também à degradação ambiental. Neste contexto a escolaridade e o conhecimento da população exposta à contaminação também assumem papéis de destaque⁶. A falta de programas educativos fundamentais para a mudança de hábitos e costumes e o alto custo das obras de saneamento básico representam fatores de subdesenvolvimento social⁷.

No Brasil, as enteroparasitoses ainda se encontram disseminadas e com altas prevalências⁸, uma vez que, lamentavelmente, existe falta de políticas de educação em saúde. A questão das enteroparasitoses se torna mais séria do que se apresenta, pois, sua erradicação requer melhoria das condições de saneamento básico e na educação, além de mudanças de hábitos culturais incorretos⁹.

Durante anos, a pesquisa científica esteve envolvida com a procura de novos fármacos capazes de controlar ou combater as enteroparasitoses e, por conseguinte, a utilização de drogas cada vez mais potentes foi tornando-se uma prática comum na medicina humana e veterinária¹⁰.

Contudo, o uso de medicamentos sintéticos apresentam limitações atuais, como o desenvolvimento de resistência parasitária, o declínio da eficácia destes medicamentos, a não disponibilidade de produtos em algumas áreas rurais pobres ou áreas distantes de centros comerciais, o alto custo do tratamento em massa da população humana ou de animais e o risco de contaminação do ambiente por resíduos dessas drogas, estimularam a busca por alternativas de controle¹¹. Dentre estas o uso de plantas medicinais ocupa lugar de destaque¹².

Em diversas regiões é comum na medicina tradicional o uso de plantas medicinais para o tratamento de enteroparasitoses, mas pouco se sabe sobre o modo de ação ou qual a substância química é realmente eficaz, no entanto os resultados obtidos por alguns experimentos mostraram resultados promissores. Os fitoterápicos em geral são de fácil acesso e baixo custo, apresentando também baixos níveis de toxicidade e efeitos colaterais, o que os torna uma nova fonte de tratamento contra enteroparasitos¹³.

As plantas medicinais representam fator de grande importância para a manutenção das condições de saúde de homens e de animais. Além da comprovada ação terapêutica de vários chás e outras preparações que são utilizadas popularmente, representam parte importante da cultura de um povo, sendo também parte de um saber utilizado e difundido pelas populações ao longo de várias gerações¹⁴. Por serem ricas em compostos com potencial antihelmíntico¹⁵, serem biodegradáveis e apresentarem suprimento autossustentável devido à diversidade da flora medicinal, hoje se tem buscado integrar o uso de plantas medicinais ao tratamento de várias doenças inclusive as enteroparasitoses¹¹.

Neste contexto o presente estudo buscou avaliar, *in vitro*, a viabilidade de ovos de *Ascaris suum* expostos aos extratos de *Baccharis trimera* (Less.) DC. e de *Chenopodium ambrosioides* L., contribuindo para o desenvolvimento de novos fitoterápicos úteis para o tratamento das doenças parasitárias.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A dificuldade em encontrar indivíduos infectados por *A. lumbricoides* e a falta de hospedeiros em laboratório para a reprodução do seu ciclo de vida faz com que a espécie *A. suum* seja amplamente utilizada como modelo experimental. Portanto os testes foram feitos contra os ovos de *A. suum*, sendo um modelo útil para este tipo de estudo¹⁶.

Os ovos de *A. suum* foram obtidos a partir do útero de fêmeas adultas recuperadas do intestino delgado de suínos abatidos em um matadouro situado no bairro Dona Clara em Belo Horizonte.

Para a realização deste estudo foram utilizados os extratos de *Baccharis trimera* (Less.) DC. (carqueja amarga) e de *Chenopodium ambrosioides* L., (erva-de-santa-maria).

Com base na literatura, vários naturalistas indicam a utilização destas plantas como antihelmíntico.

Para o ensaio com *Baccharis trimera* (Less.) DC., foram testados os extratos alcoólico, hexânico e acetato de etila. Estes extratos foram escolhidos aleatoriamente na tentativa de identificar um possível composto químico que seja eficaz contra os ovos de *A. suum*.

Para o ensaio com *Chenopodium ambrosioides* L. foi testado o extrato aquoso. A escolha deste único extrato se deu pela alta concentração de ascaricol, composto químico amplamente utilizado popularmente como antihelmíntico¹⁷.

Os ovos obtidos foram misturados de modo que fosse testado um pool de ovos. Os ovos retirados deste pool foram quantificados (± 35.000 por tubo) e colocados em tubos Falcon® de 15 ml e logo em seguida adicionados 2 ml do extrato de cada planta diluído na concentração de 50mg/ml. Foram utilizados dois controles positivos, sendo um com droga sabidamente ovicida, Thiabend-

zol¹⁸ e o segundo controle com Albendazol, medicamento amplamente utilizado no tratamento de doenças parasitárias, na concentração de 10 partes por milhão (PPM) e um controle negativo com ácido sulfúrico (H₂SO₄) – meio utilizado na eclosão dos ovos de *A. suum* – na concentração de 0,1 N¹⁹ sem interferência de extratos.

Para verificar a possível interferência com DMSO 1%, um experimento paralelo foi realizado. Os experimentos, em duplicata, foram mantidos, por 40 dias, a uma temperatura controlada em estufa de 28° C e em agitador mecânico com a finalidade de oxigenar as culturas.

A cada 10 dias até o 40° foi determinada a taxa de embrionamento em duplicata dos ovos de todas as diluições referentes a cada planta. Foi recolhida uma amostra de cada diluição, e colocada em uma lâmina, sob uma lamínula. Em seguida a lâmina foi levada ao microscópio e 100 ovos, perfazendo um total de 100%, foram contados com a ocular de 10x e a objetiva de 40x.

O mesmo procedimento foi feito com o grupo controle e DMSO 1%.

Os resultados apresentados mostram a média de duas contagens.

3. RESULTADOS

A cada 10 dias até o 40° dia de experimento foram determinadas às taxas de embrionamento dos ovos de *A. suum* de todas as diluições referentes a cada planta.

Uma amostra homogênea do conteúdo de cada tubo foi colocada entre lâmina e lamínula, examinando-se 100 ovos, em duplicata, em microscópio ótico, com a ocular de 10x e objetivo de 40x. Para efeito de determinação da porcentagem de embrionamento apenas os ovos que continham larvas completamente formadas foram considerados como ovos embrionados.

Os resultados são apresentados em tabelas e mostram a média da contagem de duas lâminas.

A Tabela 1 mostra a porcentagem de embrionamento de ovos de *A. suum* frente aos diferentes extratos de *B. trimera*.

Tabela 1. Porcentagem de embrionamento de ovos de *A. suum* frente

Tempo (dias)	Extrato alcoólico	Extrato hexânico	Extrato acetato de etila	Thiabendazol (controle positivo)	Albendazol (controle positivo)	H ₂ SO ₄ (0,1 N) (controle negativo)	DMSO 1%
10	6	20	22	0	0	23	2
20	25	22	30	0	24	33	34
30	32	42	30	0	27	38	35
40	43	31	43	0	29	27	35

aos diferentes extratos de *B. trimera*, controle positivo, negativo e DMSO 1%.

Conforme os resultados apresentados na Tabela 1, nenhum extrato mostrou ação ovicida eficaz frente aos ovos de *A. suum*.

Neste experimento, apenas o Thiabendazol manteve sua eficácia ovicida comprovada, mantendo em 0% todas as contagens, já o Albendazol, após 10 dias de cultura promoveu o embrionamento dos ovos.

O controle negativo utilizando H₂SO₄ (0,1 N), não interferiu no e o DMSO 1% utilizado na diluição dos extratos.

A Tabela 2 mostra a porcentagem de embrionamento de ovos de *A. suum* frente ao extrato aquoso de *C. ambrosioides*.

Tabela 2. Porcentagem de embrionamento de ovos de *A. suum* frente ao extrato aquoso de *C. ambrosioides*, controle positivo, negativo e DMSO 1%.

Tempo (dias)	Extrato aquoso	Thiabendazol (controle positivo)	Albendazol (controle positivo)	H ₂ SO ₄ (0,1 N) (controle negativo)	DMSO 1%
10	0	0	12	33	35
20	38	0	17	47	35
30	50	0	18	56	55
40	50	0	22	60	59

Os resultados apresentados na Tabela 2 mostram que o extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* não apresentou ação ovicida frente aos ovos de *A. suum*. Embora nos primeiros 10 dias de experimento, os ovos não apresentaram embrionamento, após a segunda contagem – 20 dias – o extrato não impediu que eles se tornassem larvados.

Contudo, neste experimento, apenas o Thiabendazol (10ppm) manteve sua eficácia ovicida comprovada (0%), já o Albendazol (10ppm), na primeira contagem, realizada nos primeiros 10 dias de cultura, não impediu o embrionamento dos ovos.

O controle negativo utilizando H₂SO₄ (0,1 N) e o DMSO 1% utilizado na diluição dos extratos, não interferiu, no embrionamento dos ovos.

B. trimera e *C. ambrosioides* mostraram que não têm ação contra ovos de *A. suum*.

Os resultados apresentados confirmam ainda que apenas o Thiabendazol (10ppm) apresentou ação ovicida, não permitindo o embrionamento dos ovos, já o Albendazol (10ppm) que é amplamente utilizado no tratamento

de diversas enteroparasitoses proporcionou o embrionamento dos ovos de *A. suum*. O H₂SO₄ (0,1 N) e o DMSO 1% não interferiram no embrionamento dos ovos.

4. DISCUSSÃO

A realização de testes *in vitro* se constitui na observação da ação do composto ativo pelo contato direto com os ovos ou larvas do parasito, possibilitando avaliar seu efeito sobre a eclosão dos ovos ou desenvolvimento das larvas²⁰.

Inicialmente estes testes eram utilizados para verificar a ação ou detectar a resistência de antihelmínticos sintéticos em nematódeos de importância veterinária²⁰, sendo atualmente, utilizados para triagem de plantas medicinais com possíveis efeitos contra enteroparasitos, permitindo a seleção de extratos promissores, apresentando facilidades de execução, baixo custo e rapidez²¹.

Como exemplo, testes feitos com a utilização de 0,5% do óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* e 1,33µl/ml⁻¹ de *Ocimum gratissimum* apresentaram 100% de ação letal sobre ovos *Haemonchus contortus*, nematódeo de pequenos ruminantes^{22,23}.

Demais testes realizados com ovos de *H. contortus*, mostraram que o extrato acetato de etila das folhas de *Azadirachta indica* na concentração de 50mg/ml⁻¹ inibiu em 51,3% a eclosão dos ovos e em 68,1% o desenvolvimento das larvas²⁴.

Em estudos utilizando camundongos infectados com nematoides *Syphacia obvelata* e *Aspicularis tetraptera* observou-se que 800mg/kg⁻¹ de óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *Croton zehntneri* e 240mg/kg⁻¹ de extrato de *Punica granatum* apresentaram eficácia de 46,0%, 11,0% e 67,0%, respectivamente na redução da carga parasitária dos animais infectados^{25,26}.

Outros exemplos destes testes mostram que 0,90g do extrato aquoso de *Coriandrum sativum* promoveu uma redução de 24,4% no número de OPG de ovinos após dois dias de tratamento²⁷. O extrato etanólico de *Spigelia anthelmia* na concentração de 500mg/kg⁻¹ reduziu em 76,0% o número de OPG em ovinos nove dias após o tratamento²⁸, e a administração de 283 mg/kg⁻¹ de óleo essencial de *L. sidoides* causou redução de 54% no número de OPG de ovinos, 13 dias após o tratamento²⁹.

Na medicina veterinária, diversos experimentos utilizam como modelo *in vitro* a espécie de nematódeo *Haemonchus contortus*. O uso deste parasito é justificado pelo fato de que este nematódeo gastrointestinal é de grande importância econômica na produção de pequenos ruminantes, apresentando alta prevalência e patogenicidade³⁰.

Dados da literatura mostram que um dos helmintos mais frequentes encontrados parasitando o homem é o *A. lumbricoides*, estima-se que cerca de um bilhão de indivíduos estejam infectados por esta espécie³¹. Contudo, na prática, tais estimativas apresentam resultados divergen-

tes, mostrando um número reduzido de indivíduos parasitados.

A dificuldade em encontrar indivíduos infectados por *A. lumbricoides* e falta de hospedeiros em laboratório que proporcionem a reprodução do seu ciclo de vida faz com que outras espécies de enteroparasitos sejam utilizadas³¹. Estudos com esta espécie provê importantes informações sobre a biologia de outros ascarídeos, especialmente de humanos. Para este experimento a espécie *A. suum* foi utilizada, por ser um enteroparasito de suínos e seu ciclo de vida idêntico ao do *A. lumbricoides*, sendo, portanto, um modelo útil para esse importante parasito humano¹⁶.

Após a realização dos testes *in vitro*, os resultados apresentados pelos diferentes extratos da carqueja e do extrato aquoso da erva-de-santa-maria não demonstraram efeito ovicida sobre *A. suum*. Contudo, diversos trabalhos apontam que as espécies pertencentes ao gênero *Baccharis*, por sua ampla distribuição geográfica e grande variedade de espécies, associado ao notável destaque na medicina popular do Brasil e em outros países da América do Sul, apresentam atividade antihelmíntica³². Seu grande potencial em metabólitos secundários e atividades descritas na medicina popular, deixam um vastíssimo campo aberto para a pesquisa de moléculas ativas. As propriedades medicinais atribuídas a este gênero de planta são alvos de investigações pela comunidade científica na tentativa de caracterizar seus princípios ativos³³.

Apesar de muitas plantas medicinais não terem seus constituintes químicos conhecidos, sua utilização acumula o conhecimento popular que vem sendo adquirido pelas comunidades ao longo de muitos anos e transmitido entre gerações³⁴.

Durante séculos as plantas medicinais têm sido amplamente utilizadas no tratamento e controle de doenças parasitárias que acometem o homem e animais de produção em diversos países, entre eles o Brasil³⁵.

Embora os testes utilizando plantas medicinais possam ser feitos em diferentes fases do ciclo biológico - ovo, motilidade das larvas e verme adulto - de diversas parasitoses, as plantas testadas neste estudo não apresentaram ação ovicida.

Outros testes *in vitro* para avaliar a provável propriedade antihelmíntica das plantas testadas neste estudo são necessários. Estes testes podem ser feitos com base na observação dos seus efeitos em outras fases do ciclo biológico do *A. suum*. Contudo, a falta de hospedeiros em laboratório para a reprodução do seu ciclo de vida faz com que estes experimentos se tornem mais trabalhosos e desafiadores, nem por isto menos interessante, dificultando a comprovação da eficácia não só das plantas testadas neste estudo, como de diversas outras.

5. CONCLUSÃO

Os extratos de *B. trimera* e o extrato de *C. ambrosioides* não demonstraram ação ovicida frente ao *A. suum*.

Os resultados obtidos neste estudo mostraram que embora as plantas testadas não sejam ovicidas, outras formulações que possam melhorar a atividade dos extratos testados bem como a realização de testes sobre a motilidade das larvas e sobre os vermes adultos devem ser feitos para que outros parâmetros de eficácia possam ser analisados e comprovados.

A validação científica de plantas medicinais não pode ser desmotivada, portanto é fundamental que novos estudos, químicos e biológicos, com estas e com outras espécies de plantas sejam realizados, buscando identificar novos compostos químicos com atividades antihelmínticas que possam servir como alternativa para o tratamento destas doenças, principalmente para o crescente número de organismos resistentes aos tratamentos hoje disponíveis.

REFERÊNCIAS

- [1] Farthing MJG, Mata L, Urrutia JJ, Kronmal RA. Natural history of Giardia infection of infants and children in rural Guatemala and its impact on physical growth. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1986; 43:395-405.
- [2] Costa-Gurgel MS, Nunes MPO, Nunes JFL, Silva EMA. Prevalência de enteroparasitoses em Natal: Rotina coprocópica da parasitologia clínica-UFRN. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 1992; 24:103-7.
- [3] Ferreira CB, Junior OM. Enteroparasitose em escolares do distrito de Martinesia, Uberlândia, Minas Gerais: um estudo piloto. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 1997; 30:373-7.
- [4] Ludwing KM,; Frei F, Filho FA, Paes TR. Correlação entre condições de saneamento básico e parasitoses intestinais na população de Assis, São Paulo. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 1999; 32:547-55.
- [5] Mesquita VCL, Serra CMB, Bastos OMT, Uchoa CMA. Contaminação por enteroparasitos em hortaliças comercializadas nas cidades de Niterói e Rio de Janeiro, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 1999; 32:363-6.
- [6] Fontbonne A, Freese-Carvalho E, Acioli MD, Sá GA, Cesse EAP. Fatores de risco para poliparasitismo intestinal em uma comunidade indígena de Pernambuco, Brasil. *Caderno de Saúde Pública*. 2001; 17:367-73.
- [7] Gioia I. Levantamento eco-parasitológico da população residente na Fazenda Intervalas, São Paulo. Tese de Doutorado. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. 1995.
- [8] Rocha RS, Silva JG, Peixoto SV. Evaluation of the schistosomiasis and others intestinal parasitosis in the school children of Bambuí country, Minas Gerais, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2000; 33:431-6.
- [9] Tavares-Dias M, Grandini AA. Prevalência e aspectos epidemiológicos de enteroparasitoses na população de São José da Bela Vista, São Paulo. *Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 1999; 32(1): 63-65.
- [10] Reinemeyer R, Courtney H. Antinematodal drugs. In: Adams, H. R. (Ed.). *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Iowa State University Press/Ames, U.S.A. 2001; 947-79.
- [11] Hammond JA, Fielding D, Bishop SC. Prospects for plant anthelmintics in tropical veterinary medicine. *Veterinary Research Communications*. 1997; 21:213-28.
- [12] Vieira LS. Métodos alternativos de controle de nematóides gastrintestinais em caprinos e ovinos. *Tecnologia & Ciência Agropecuária*. 2008; 2:49-56.
- [13] Silva AVM, Massara CL. *Ascaris lumbricoides*. Em: Neves, D. P. (Ed). *Parasitologia Humana*. Atheneu. São Paulo. 2005.
- [14] Leite SN. Além da medicação: a contribuição da fitoterapia para a saúde pública. Dissertação de Mestrado. São Paulo: Departamento de Saúde Materno-Infantil da Faculdade de Saúde Pública/USP. 2000.
- [15] Akhtar MS, Iqbal Z, Khan MN, Lateef M. Anthelmintic activity of medicinal plants with particular reference to their use in animals in the Indo – Pakistan subcontinent. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2000; 38:99-107.
- [16] Enobe CS, Araujo CA, Perini A, Martins MA, Macedo MS, Macedo-Soares MF. Early stages of *Ascaris suum* induce airway inflammation and hyperreactivity in a mouse model. *Parasite Immunology*. 2006; 28:453-61.
- [17] Santos SG, Corrêa RX. Diversidade genética de *Chenopodium ambrosioides* da região cacaueira da Bahia com base em marcadores RAPD. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 2006; 41(1):161-4.
- [18] Massara CL, Ferreira RS, Guerra HL, Carvalho OS. In vitro study on thiabendazole action on viability of *Ascaris lumbricoides* (Lineu, 1758) eggs. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2001; 34(4):319-22.
- [19] Fairbairn, D. The *in vitro* hatching of *Ascaris lumbricoides* eggs. *Canadian Journal of Zoology*, 39:153-162, 1961.
- [20] Coles GC, Bauer C, Borgsteede FHM, Geerts S, Klei TR, Taylor MA, Waller PJ. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W. A. A. V. P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes veterinary importance. *Veterinary Parasitology*. 2002; 44:35-44.
- [21] Camurça-Vasconcelos ALF, Morais SM, Santos LFL, Rocha MFG, Bevilaqua CML. Validação de plantas medicinais com atividade antihelmíntica. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. 2005; 7(3):97-106.
- [22] Ketzis JK, Taylor A, Bowman DD, Brow DL, Warnick L D, Erb HN. *Chenopodium ambrosioides* and its essential oil as treatments for *Haemonchus contortus* and mixed adult-nematode infections in goats. *Small Ruminant Research*. 2002; 44:193-200.
- [23] Pessoa LM, Morais SM, Bevilaqua CM, Luciano JHS. Anthelmintic activity essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn. and eugenol against *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 2002; 109:59-63.
- [24] Costa CTC, Bevilaqua CML, Camurça-Vasconcelos ALF, Maciel MV, Morais SM, Castro CMS, Braga RR, Oliveira LMB. In vitro ovicidal and larvicidal activity of *Azadirachta indica* extracts on *Haemonchus contortus*. *Small Ruminant Research*. 2008; 74:284-7.
- [25] Michelin DC, Moreschi PE, Lima AC, Nascimento GGF, Paganelli MO, Chaud MV. Avaliação da Atividade Anti-helmíntica de Extratos Vegetais. *Saúde em Revista*. 2005; 7:7-10.
- [26] Camurça-Vasconcelos ALF, Bevilaqua CML, Morais SM, Maciel MV, Costa CTC, Macedo ITF, Oliveira LMB, Braga RR, Silva RA, Vieira LS. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. *Veterinary Parasitology*. 2007; 148:288-94.
- [27] Equale T, Tilahun G, Debella A, Feleke A, Makonnen E. In vitro and in vivo anthelmintic activity of crude extracts of *Coriandrum sativum* against *Haemonchus contortus*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007; 110:428-33.

- [28] Ademola IO, Fagbemi BO, Idowu SO. Anthelmintic activity of *Spigelia anthelmia* extract against gastrointestinal nematodes of sheep. *Parasitology Research*. 101(1):63-9.
- [29] Camurça-Vasconcelos ALF, Bevilaqua CML, Morais SM, Maciel MV, Costa CTC, Macedo ITF, Oliveira LMB, Braga RR, Silva RA, Vieira LS, Navarro AMC. 2008. Anthelmintic activity of *Lippia sidoides* essential oil on sheep gastrointestinal nematodes. *Veterinary Parasitology*. 2008; 154:167-70.
- [30] Diehl MS, Atindehou KK, Tere H, Betschart B. 2004. Prospect for anthelmintic plants in the Ivory Coast using ethnobotanical criteria. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004; 95:277-84.
- [31] Crompton DWT. 2001. *Ascaris* and Ascariasis. *Advances in Parasitology*, 48, 285–375.
- [32] Verdi LG, Brighente IMC, Pizzolatti MG. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. *Química Nova*. 2005; 28:85-94.
- [33] Moreira FPM, Coutinho V, Montanher ABP, Caro MSB, Brighente IMC, Pizzolatti MG, Monache FD. Flavonóides e triterpenos de *Baccharis pseudotenuifolia*: bioatividade sobre *Artemia salina*. *Química Nova*. 2003; 26:309-11.
- [34] Barboza RRD, Souto WMS, Mourão JS. The use of zooterapeutics in folk veterinary medicine in the district of Cubati, Paraíba State, Brazil. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 2007; 3:1-14
- [35] Athanasiadou S, Githiori J, Kyriazakis I. Medicinal plants for helminth parasite control: facts and fiction. *Animal*. 2007; 1:1392-1400.
- [36] Bethony J, Brooker S, Albonico M, Geiger SM, Loukas A, Deimert D, Hotez P. Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. *The Lancet*. 2006; 367(9521):1521-32.