

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

ROSELENA ABREU GUEDES

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE EXTRATOS VEGETAIS E SUA EFICÁCIA NO
CONTROLE *in vitro* DE PARASITOS ADULTOS DE *Fasciola hepatica*.**

ALEGRE-ES

2017

ROSELENA ABREU GUEDES

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE EXTRATOS VEGETAIS E SUA EFICÁCIA NO
CONTROLE *in vitro* DE PARASITOS ADULTOS DE *Fasciola hepatica*.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Diagnóstico e terapêutica das enfermidades clínico-cirúrgicas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a: Juliana Aparecida Severi

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a: Isabella Vilhena Freire Martins

ALEGRE-ES

2017

ROSELENA ABREU GUEDES

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE EXTRATOS VEGETAIS E SUA EFICÁCIA NO
CONTROLE *in vitro* DE PARASITOS ADULTOS DE *Fasciola hepatica*.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Diagnóstico e terapêutica das enfermidades clínico-cirúrgicas.

Aprovado em 17 de fevereiro de 2017.

COMISSÃO EXAMINADORA

**Profª Drª Juliana Aparecida Severi
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientadora**

**Profª Drª Isabella Vilhena Freire Martins
Universidade Federal do Espírito Santo
Co-orientadora**

**Profª Drª Milena Batista Carneiro
Universidade Federal do Rio de Janeiro**

**Profº Dr Francisco de Paula Careta
Universidade Federal do Espírito Santo**

Dedico à tia Célia Abreu que tanto quis
presenciar este momento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela grande oportunidade de conhecimento.

À minha mãe que me acompanha nessa jornada me dando grande incentivo.

À minha avó, tia Eliane e meu primo José Emílio por serem minha família, pequena, mas com amor.

À minha eterna tia Célia que desejou muito esse título, me fez correr atrás, mas que infelizmente não está aqui fisicamente para ver essa realização.

Agradeço aos amigos de pesquisa que sem eles nada teria se concluído: Larice, Marcelle e Winner, vocês foram primordiais para a realização de tudo isso, estarão sempre no meu coração. Aos amigos Luiz e Fernanda por toda colaboração.

À Gisele, responsável pelo abatedouro, que sempre nos ajudou e atendeu tão bem.

À minha co-orientadora Isabella por todo conhecimento veterinário que eu precisei para realizar esse trabalho.

À minha orientadora e amiga Juliana que me ajudou a realizar um sonho e que não mediu esforços para que esse trabalho fosse o melhor possível.

À minhas amigas e técnicas de laboratório Gerusa, Sandra e Magda que me deram todo o suporte necessário.

À professora e amiga Jankerle Boeloni por toda ajuda e carinho em ensinar as técnicas para realizar os testes histológicos e à querida Adelaide por me ajudar tanto nos dias de laboratório.

Agradecer aos órgãos de fomento CAPES e FAPES pelos investimentos e à UFES por disponibilizar toda a estrutura necessária para a realização do nosso trabalho.

A todos que apoiaram e que, direta ou indiretamente, ajudaram no desenvolvimento de toda pesquisa.

Meu muito obrigada!!!

“Não sabendo que era impossível, foi lá e fez”.

Jean Cocteau

RESUMO

GUEDES, ROSELENA ABREU. **COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE EXTRATOS VEGETAIS E SUA EFICÁCIA NO CONTROLE *in vitro* DE PARASITOS ADULTOS DE *Fasciola hepatica***. 2017. 70p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2017.

A fasciolose é uma doença causada pelo parasito *Fasciola hepatica*, um platelminto da família *Fasciolidae* que acomete as vias biliares e o fígado de diversas espécies, sendo as mais comuns os ruminantes. O controle da fasciolose é difícil, já que a grande maioria dos medicamentos indicados para o tratamento da doença atingem somente o parasito na forma adulta. A procura por tratamentos alternativos com o uso de produtos naturais que possam ter uma ação eficiente tanto em ovos como em adultos têm sido alvo de estudos em regiões onde a doença é endêmica. Com isso o uso de plantas medicinais tem sido visto como uma ótima alternativa ao tratamento da fasciolose. O objetivo deste trabalho foi encontrar plantas com atividade fasciolicida que possam se tornar novas alternativas no tratamento de adultos desse parasito. Para avaliar a atividade dos extratos foram preparadas soluções nas concentrações de 0,1%, 0,25% e 0,5% de cada planta selecionada e estes foram aplicados em amostras de cinco parasitos em placa de petri com triplicata e observada a mortalidade dos mesmos no período de três, doze e quinze horas de avaliação. Para fitoquímica foram utilizados os testes descritos por Matos (2009) e Wagner (1984). A análise histológica foi realizada com a produção dos blocos de parafina com os cortes das amostras reservadas após o teste de atividade fasciolicida. Os cortes dos blocos foram feitos a 3 μ m, aplicados nas lâminas e estas foram coradas com hematoxilina e eosina. A análise estatística foi realizada por delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial, sendo os fatores extratos, tempo e concentração a 5% de probabilidade pelo teste Newman-Keuls. Após realizadas as avaliações conclui-se que o melhor tempo de avaliação dos extratos foi com 12 horas, os extratos com melhor atividade foram as cascas de *Stryphnodendron adstringens*, as folhas de *Psidium guajava*, as folhas de *Guapira graciliflora*, as folhas de *Guapira noxia*, as folhas de *Momordica charantia* e as raízes

de *Harpagophytum procumbens* na concentração 0,5%. Também foi nesta concentração que foram encontradas alterações histológicas como a ausência dos espinhos e deposição celular no tegumento do parasito. É provável que a atividade fasciolicida desses extratos possa ser oriundo de atividade de terpenos esteroidais, taninos ou compostos fenólicos.

Palavras-chave: Fasciolose. Fitoquímica. Plantas medicinais.

ABSTRACT

GUEDES, ROSELENA ABREU. **CHEMICAL COMPOSITION OF VEGETABLE EXTRACTS AND THEIR EFFICACY IN THE *in vitro* CONTROL OF *Fasciola hepatica* ADULT PARASITES.** 2017. 70p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2017.

Fasciolosis is a disease caused by the parasite *Fasciola hepatica*, a platelminth of the family *Fasciolidae* that affects the bile ducts and liver of several species, the most common being ruminants. The control of fasciolosis is difficult, since the great majority of the medicines indicated for the treatment of the disease reach only the parasite in the adult form. The search for alternative treatments with the use of natural products that can have an efficient action in both forms, eggs and adults, has been the target of studies in regions where the disease is endemic. Thereby the use of medicinal plants has been a great alternative to the treatment of fasciolosis. The objective of this work was to find plants with fasciolicidal activity that could become new alternatives in the treatment of adults of this parasite. To evaluate the activity of the extracts solutions were prepared at concentrations of 0,1%, 0,25% and 0,5% of each selected plant and these were applied in samples of 5 parasites in triplicate petri dish and observed the mortality of the same time in the period of 3, 12 and 15 hours of evaluation. For phytochemistry, the tests described by Matos (2009) and Wagner (1984) were used. The histological analysis was performed with the production of the paraffin blocks with the cuts of the reserved samples after the test of fasciolicidal activity. The blocks were cut at 3µm, applied to the slides, and stained with hematoxylin and eosin. Statistical analysis was performed using a completely randomized design (DIC), in a factorial scheme, with the extracts, time and concentration factors being 5% probability by the Newman-Keuls test. After performing the evaluations it was concluded that the best extracts activity time was 12 hours, the extracts with better activity were shells *Stryphnodendron adstringens*, the *Psidium guajava* leaves, *Guapira graciliflora* leaves, the *Guapira noxia* leaves, the *Momordica charantia* leaves and roots of *Harpagophytum procumbens* at 0,5%

concentration. It was also in this concentration that histological alterations were found such as the absence of spines and cellular deposition in the parasite's tegument. It is probable that the fasciolicidal activity of these extracts may be from the activity of steroidal terpenes, tannins or phenolic compounds.

Key words: Fasciolosis. Phytochemistry. Medicinal plants.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1A - Parasito adulto de <i>F. hepatica</i> com aspecto foliáceo, de coloração marrom acinzentada, com duas ventosas, sendo uma oral e uma acetabular ou ventral	17
Figura 1B – Esquema anatômico do parasito adulto de <i>F. hepatica</i>	17
Figura 2 – Ovos grandes, operculados, com coloração amarelo-castanho de <i>Fasciola hepatica</i> visto por lupa óptica.....	18
Figura 3 – Ciclo de <i>Fasciola hepatica</i>	19
Figura 4 – Representação do ensaio avaliação da atividade fasciolicida com controle positivo, negativo e triplicata das concentrações de extratos utilizados	40
Figura 5 – Alterações histológicas na membrana externa do tegumento dos parasitos tratados com extratos e com o meio RPMI	52

LISTA DE ABREVIATURAS

- CAO – Casca de *Anacardium occidentale* - Cajú
- CCENS - Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde
- CSA – Casca de *Stryphnodendron adstringens* – Barbatimão
- CUT – Casca de *Uncaria tomentosa* – Unha de gato
- FAO – Folhas de *Anacardium occidentale* - Cajú
- FEU – Folhas de *Eugenia uniflora* - Pitanga
- FPG – Folhas de *Psidium guajava* - Goiaba
- GG – Folhas de *Guapira graciliflora* – João mole
- GN – Folhas de *Guapira noxia* – Guapira do cerrado
- GO – Folhas de *Guapira opposita* = Maria mole
- MSC – Folhas de *Momordica charantia* - Melão de São Caetano
- RHP – Raízes de *Harpagophytum procumbens* – Garra do diabo
- RPMI 1640 – Roswell Park Memorial Institute Medium
- UFES - Universidade Federal do Espírito Santo

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Extratos vegetais com suas respectivas famílias, espécies, nome popular e função	30
Tabela 2 – Descrição e procedência das espécies vegetais utilizadas no ensaio fasciolicida.....	35
Tabela 3 – Prospecção fitoquímica qualitativa dos extratos com as reações de identificação positiva para cada classe dos compostos testados com todos os extratos brutos.....	44
Tabela 4 – Teste de Newman-Keuls (1974) para o desdobramento de extratos dentro do tempo e a concentração.....	47
Tabela 5 – Teste de Newman-Keuls (1974) para o desdobramento de concentração dentro do extratos e tempo	48
Tabela 6 – Teste de Newman-Keuls (1974) para o desdobramento de tempo dentro do extratos e concentração	50

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 <i>Fasciola hepatica</i>	17
2.2 Plantas medicinais.....	26
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	34
3.1 Reagentes e equipamentos.....	34
3.2 Material vegetal e preparo dos extratos.....	36
3.3 Avaliação Fitoquímica.....	36
3.3.1 Pesquisa de compostos fenólicos.....	36
3.3.2 Pesquisa de flavonóides.....	36
3.3.3 Pesquisa de taninos.....	37
3.3.4 Pesquisa de cumarinas.....	37
3.3.5 Pesquisa de terpenos e glicosídeos cardiotônicos.....	38
3.3.6 Pesquisa de saponinas.....	38
3.3.7 Pesquisa de alcalóides.....	39
3.4 Avaliação atividade fasciolicida.....	39
3.5 Avaliação histológica.....	41
3.6 Tratamento e descarte de resíduos químicos e biológicos.....	42
3.7 Avaliação estatística.....	42
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
4.1 Material vegetal e preparo dos extratos.....	43
4.2 Avaliação fitoquímica.....	46
4.3 Avaliação da atividade fasciolicida.....	46
4.4 Avaliação histológica.....	51
5. CONCLUSÃO.....	54
6. REFERÊNCIAS.....	55

1. INTRODUÇÃO

O parasito *Fasciola hepatica* (LYNNAEUS, 1758) é um platelminto da família *Fasciolidae* que acomete as vias biliares e o fígado de diversas espécies, sendo as mais comuns os ruminantes, ovinos, caprinos, animais silvestres e o homem (PILE et al., 2001a).

A fasciolose é uma doença com distribuição mundial e grande impacto econômico, onde ocorre a condenação do fígado na hora do abate. A forma subclínica ou crônica da doença apresenta redução na produção de leite e carne, infecções secundárias e baixa fertilidade (MARQUES e SCROFERNEKER, 2003). Mattos et al. (1997) descreve que são fatores determinante para a disseminação da fasciolose a canalização e drenagem das pastagens, modificações ambientais, manejo dos rebanhos e lotação das pastagens.

Na região sul do Espírito Santo Fraga (2008) registrou que no ano de 2006 observou-se um crescimento na condenação de fígados por presença de *Fasciola hepatica* no abatedouro-frigorífico do município de Atílio Vivácqua, onde são abatidos animais de toda a região sul do estado.

O controle da fasciolose é difícil, já que a grande maioria dos medicamentos indicados para o tratamento da doença atingem somente o parasito na forma adulta e também pela falta de adesão dos proprietários ao tratamento, manejo dos rebanhos e manutenção das pastagens alagadas. Por isso, de acordo com MARTINS (2007), o estudo da epidemiologia da doença é essencial para o planejamento de práticas de controle dessa zoonose.

O tratamento de escolha para fasciolose é realizado com medicamentos que atuam na mortalidade de parasitos adultos, mas não são eficazes no controle da transmissão, uma vez que não tem ação satisfatória nos ovos de *Fasciola hepatica* (FAIRWEATHER, 2011).

A procura por tratamentos alternativos com o uso de produtos naturais que possam ter uma ação eficiente tanto em ovos como em adultos, e até mesmo ação molusquicida, têm sido alvo de estudos em regiões onde a doença é endêmica. MONTENEGRO et al. (2008) fizeram um estudo com várias plantas do México com resultados satisfatórios para várias delas, com eficácia no efeito fasciolicida de adultos e ovos.

Algumas plantas como o Melão de São Caetano já possuem comprovação de ação anti-helmíntica, e mais precisamente com ação fasciolicida em caprinos em testes *in vivo*, como descrito por Gomes (2010).

Considerando-se o aumento pela procura de produtos agropecuários de fontes alternativas disponíveis na natureza, a grande ocorrência de parasitos resistentes aos medicamentos disponíveis no mercado e a necessidade de garantir melhores recursos para o pequeno pecuarista, realizou-se este trabalho com objetivo de testar *in vitro* espécies vegetais brasileiras com potencial uso medicinal, avaliando a eficácia destes para possível atividade fasciolicida em parasitos adultos de *Fasciola hepatica*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Fasciola hepatica*

O parasito *Fasciola hepatica* pertence ao filo Plathelminthes, classe Trematoda, sub-classe Digenea, família Fasciolidae, gênero *Fasciola* (BOSTELMANN et al., 2000), sendo *Fasciola hepatica* a única espécie de ocorrência comprovada no Brasil (QUEIROZ et al., 2002).

Sua forma jovem é caracterizada por 1 a 2 mm de comprimento, com formato de lanceta. Nos ductos biliares, quando atinge a forma adulta (Figura 1A), passa a ser caracterizado pelo achatamento dorso-ventral, com cerca de 3,5 cm de comprimento, dando assim seu aspecto foliáceo, de coloração marrom acinzentada, com duas ventosas (Figura 1B), sendo uma oral e uma acetabular ou ventral, e cone cefálico (FAIRWEATHER et al., 1999).

Produz ovos grandes, operculados, com coloração amarelo-castanho, medindo cerca de 130 µm de comprimento por 75 µm de largura (Figura 2). Estes necessitam de umidade, oxigenação e temperatura favoráveis para continuar o desenvolvimento do miracídio.

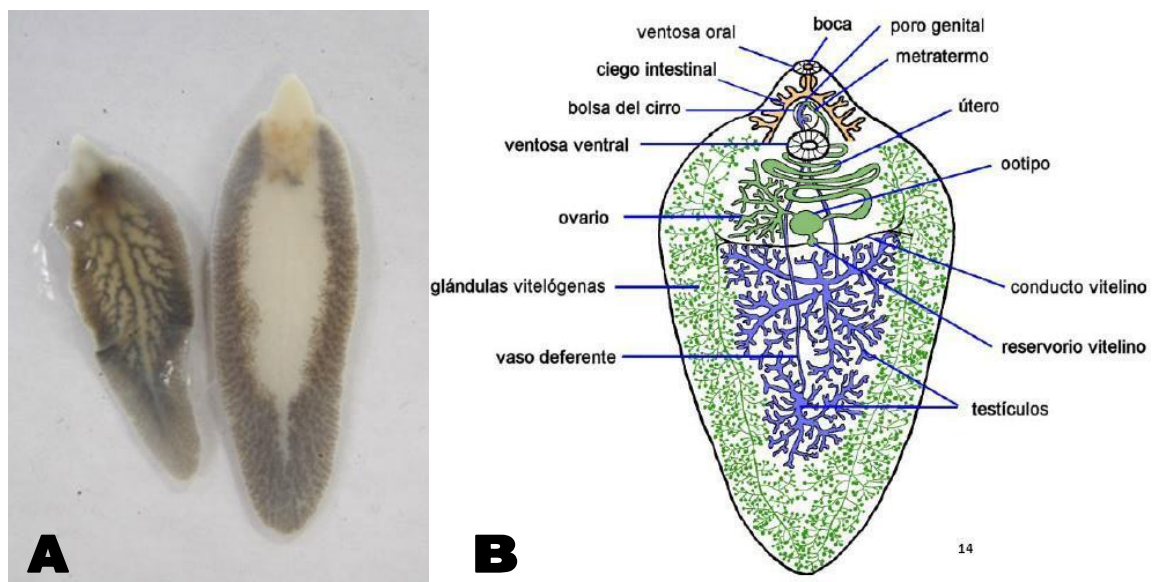


Figura 1A - Parasito adulto de *F. hepatica* com aspecto foliáceo, de coloração marrom acinzentada, com duas ventosas, sendo uma oral e uma acetabular ou ventral; Figura 1B – Esquema anatômico do parasito adulto de *F. hepatica*.

Fonte: Figura 1A - Arquivo Pessoal e Figura 1B – www.bioscripts.net



Figura 2 - Ovos grandes, operculados, com coloração amarelo-castanho de *Fasciola hepatica* visto por lupa óptica

Fonte: Arquivo Pessoal

Sob a superfície corporal está uma camada acelular, espessa denominada de tegumento que é uma das estruturas mais importantes na biologia do parasito, sendo o primeiro local de interação entre o parasito e o hospedeiro (BANHA, 2016). Tem uma espessura de 15 a 20 μ m, é uma membrana de organização sincicial cuja superfície externa, o glicocálice, está coberta de espinhos dirigidas para trás (BOWMAN, 2003) e é através dele que se realizam as trocas com o hospedeiro, sendo estas a absorção de nutrientes e a libertação de produtos de secreção/excreção (FAIRWEATHER; BORAY, 1999), bem como proteção contra o sistema imunitário do hospedeiro, lise e digestão extracorporal de células do hospedeiro e mecanismos de fixação (BOWMAN, 2003). A camada interna do tegumento é formada por células nucleadas que se projetam para o interior do parênquima e entre as duas camadas existem pontes citoplasmáticas e uma membrana basal (BANHA, 2016).

As suas secreções têm uma função digestiva e parecem estar envolvidas na defesa contra as reações imunitárias por parte do hospedeiro. O limite externo do tegumento é uma membrana plasmática provida de espinhas proteicas aguçadas (FAIRWEATHER; BORAY, 1999). O sistema muscular confere ao verme grande motilidade e grande variedade de movimentos, o que, juntamente com as espinhas superficiais, constitui um fator irritante para as mucosas do hospedeiro (CONCEIÇÃO, 2001). A integridade da superfície da membrana plasmática e o tegumento sincicial é essencial para a viabilidade do parasito (BANHA, 2016).

Com os estudos de Leuckart (1882) na Alemanha e Thomas (1883) na Inglaterra, o ciclo biológico de *Fasciola hepática* (Figura 3) foi descrito, sendo o

primeiro trematódeo a ser estudado na Europa. É do tipo heteroxeno e com formas livres, sendo assim, está muito dependente das condições ecológicas para o seu desenvolvimento. A alimentação das formas adultas baseia-se em sangue e fragmentos tissulares do hospedeiro (URQUHART et al., 1998).

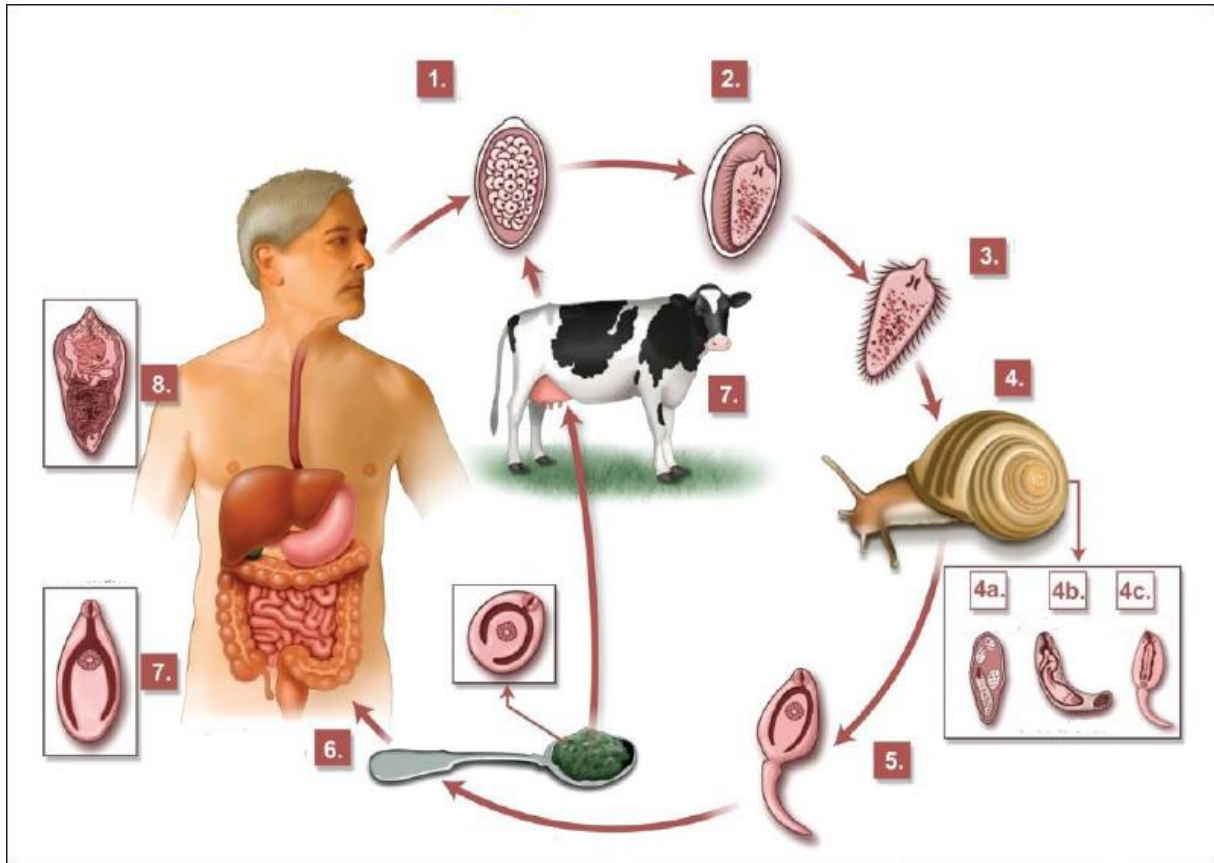


Figura 3 – Ciclo biológico de *Fasciola hepática* (1 - Ovos não embrionados liberados nas fezes; 2 – Ovos embrionados na água; 3 – Miracídio liberado na água e penetrando nas partes moles do molusco; 4 – Molusco (4a – esporocisto; 4b – rédia; 4c – cercária); 5 – Cercária a forma liberada pelo molusco na vegetação se encistam; 6 – Metacercária infectam os humanos ou gado (hospedeiro definitivo); 7 – Metacercárias se desencistam no intestino delgado se tornando adulto nos ductos biliares, os ovos são carregados pela bile e liberados nas fezes).

Fonte: Site MDhealth (<http://www.md-health.com/Fasciola-Hepatica-Life-Cycle.html>)

Segundo Urquhart et al. (1998), os parasitos sofrem pedogênese no hospedeiro intermediário, ou seja, uma única forma larvar gera vários indivíduos. Os ovos têm eliminação no hospedeiro definitivo através das fezes e se o ambiente onde se encontram é alagado ou muito úmido, ocorre a eclosão desses ovos e uma larva piriforme ciliada chamada miracídio é liberada. Este miracídio não se alimenta e precisa penetrar nas partes moles do molusco do gênero *Lymnaea*, que é o

hospedeiro intermediário, em até oito horas, onde ocorrerá a evolução de parte do ciclo de *F. hepatica*.

De acordo com Blood et al. (1983), no interior do molusco o miracídio evolui para esporocisto, rédia e depois cercaria, sendo esta a forma de eliminação. Como possui cauda, a cercaria nada até superfícies firmes, como folhas, e se encistam na vegetação já na forma infectante conhecida como metacercária. Estas são ingeridas pelo hospedeiro definitivo onde se desencistam no intestino delgado, migrando até o parênquima hepático onde se tornam jovens e depois adultos nos ductos biliares. Os ovos postos são carregados para a bile, sendo eliminados com as fezes. Estudos realizados *in vitro* por Müller et al., (1999), citam que as metacercárias permanecem ativas durante 8 meses na faixa de temperatura de 10°C a 15°C e que ocorre redução da longevidade pela metade na faixa de 5°C a 20°C. Nos locais onde a umidade se mantém mesmo na estação seca, as metacercárias guardam sua viabilidade, com sua consequente ingestão e desenvolvimento da doença (BOWMAN, 2010).

Três espécies de moluscos já foram reconhecidas no Brasil como hospedeiro intermediário de *Fasciola hepatica*: *Lymnaea columella*, *L. viatrix* e *L. cubensis*. Estudos apontam que os moluscos continuam a se reproduzir permitindo o desenvolvimento intramoluscar de *F. hepatica*, mesmo sob a influência de uma grande faixa de variação na temperatura (entre 4,4°C e 28,4°C). Algumas variações nas condições do ambiente influenciam na presença do hospedeiro intermediário, estando isso relacionado com a variação regional e anual da prevalência e incidência enzoótica da fasciolose (PILE et al., 1998).

Outros fatores que contribuem para a manutenção do molusco e disseminação da fasciolose são a temperatura entre 10 a 25°C, a baixa altitude topográfica e a vasta hidrografia com presença de áreas alagadas e banhados. Este conjunto de fatores é importante para o desenvolvimento de grandes quantidades de metacercárias, necessárias para que ocorram altas taxas de infecção (ALEIXO et al., 2015).

Uma crescente e gradativa disseminação do hospedeiro intermediário, encontrado naturalmente infectado em várias localidades das regiões no Brasil, como registrado em Minas Gerais (LIMA et al., 2009) e no próprio estado do Espírito Santo (MEDEIROS et al., 2014) são relatadas e confirmam o surgimento de novas áreas de transmissão da fasciolose, como citado por Bernardo et al. (2011).

O sistema de pastagem utilizado também é outro fator a se considerar. Pastagens partilhadas com ovinos podem constituir uma fonte contínua de contaminação, uma vez que também são hospedeiros definitivos. Animais silvestres também podem atuar como reservatório e serem responsáveis pela manutenção e disseminação da infecção na ausência de bovinos ou ovinos (MAURE et al., 1998).

Ferramentas como o sensoriamento remoto e o sistema de informação geográfica (SIG) têm sido importantes para arquivar, manipular e analisar dados sobre a epidemiologia de doenças e combinar estas informações com dados climáticos e ambientais obtidos por satélite (MALONE et al., 1998).

De acordo com Hino et al. (2006), a análise e a distribuição desta parasitose no espaço e no tempo por meio do SIG são de fundamental importância para a epidemiologia da doença, visto que os estudos da variação espacial produzem um diagnóstico comparativo que pode ser utilizado na indicação dos riscos aos quais os animais podem estar expostos.

Essas ferramentas apresentam áreas de alto risco que devem ser evitadas para o pastejo de animais, já que esses locais são considerados áreas propensas ao desenvolvimento da fasciolose. Mesmo que o controle biológico dos moluscos ou a restrição dos animais seja realizado, as características ambientais podem favorecer o desenvolvimento desta enfermidade (FREITAS et al., 2012).

São considerados hospedeiros definitivos de *Fasciola hepatica* as espécies de animais silvestres e domésticos e com maior ocorrência em ruminantes. A fasciolose já é considerada uma enfermidade de impacto na saúde pública e atualmente é caracterizada pelas organizações internacionais como uma doença negligenciada por ser normalmente diagnosticada na espécie humana apenas como um achado clínico (ZAIDEN et al., 2008). Mas-Coma (2005) afirma que os principais afetados são habitantes de áreas rurais endêmicas para fasciolose animal, devido ao risco de ingerir metacercárias por meio do consumo de água e/ou alimentos contaminados. Assim, a fasciolose é considerada uma zoonose, sendo um sério problema de saúde pública (OLIVEIRA e FILHA, 2009).

Um estudo sobre a ocorrência de fasciolose em humanos foi realizado por Mas-Coma et al. (2001), onde foi observado a existência da enfermidade e do hospedeiro intermediário, com adaptação às condições ambientais das regiões de altitude elevada e antiplano boliviano.

Marcos et al. (2005) realizaram estudo em uma região endêmica do Peru, onde foi encontrada prevalência da doença em humanos e uma grande relação com fatores de risco associados, onde 51,9% foi através de exame sorológico e 33,3% no exame coproparasitológico. A ingestão de salada como hábito alimentar da região foi considerado um grande fator de risco.

O primeiro relato de ocorrência das espécies de *F. hepatica* e *F. gigantica* foi através de um estudo realizado na Nigéria por Ali et al. (2008), em que ovinos e bovinos foram avaliados por caracterização genética.

Foi avaliado no México, na região nordeste semi-desértica, a prevalência da fasciolose em ruminantes utilizando o método ELISA e o coproparasitológico onde houve registro de 19,4% na sedimentação fecal e 30,6% no teste de ELISA para ovinos, 24,5% na sedimentação fecal e 43% no teste ELISA para caprinos e 11,4% na sedimentação fecal e 24,4% para teste ELISA para bovinos, sendo a maior sensibilidade do teste de ELISA a explicação para a diferença dos valores encontrados nos testes aplicados (MUNGUÍA-XÓCHIHUA et al., 2007).

No Brasil, o estado do Rio de Janeiro teve os primeiros registros da fasciolose bovina e desde então, a doença tem sido registrada nas regiões Centro-Oeste, Nordeste, Sul e Sudeste. Em especial nas regiões Sul e Sudeste são relatados altos índices de infecção em bovinos (PILE et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2007; OLIVEIRA e FILHA, 2009), incluindo o Espírito Santo (CARNEIRO et al., 2010; ALVES et al., 2011; BERNARDO et al., 2011; MARTINS et al., 2012, MARTINS et al., 2014).

A região com a maior área de contaminação no Brasil fica na região sul do país, tendo também muitos relatos da Fasciolose a região do Vale do Paraíba, em São Paulo, na região sudeste. Honer (1979) descreve dois aspectos importantes para a distribuição de *Fasciola* nessas regiões, sendo elas as criações intensivas de gado de leite no centro-sul e as criações extensivas de gado de corte no sul.

Novas áreas endêmicas estão surgindo nos estados de Minas Gerais, Goiás, Bahia e Espírito Santo, com presença de hospedeiros intermediários e vertebrados infectados (LIMA et al., 2009).

O primeiro relato de contaminação por *Fasciola hepatica* em caprinos, ovinos e búfalos no estado do Espírito Santo foi feito por Carneiro et al. (2013). Utilizando a técnica de sedimentação foram encontradas 58 (13,68%) amostras de ovinos, 76 (21,78%) amostras de caprinos e 10 (23,81%) amostras de bubalinos positivas para

ovos de *F. hepatica*, com registro da presença do molusco do gênero *Lymnaea* em algumas das propriedades.

Segundo Malone et al. (1998), os limites de distribuição da doença não são estritamente fixos e podem mudar de acordo com clima e outros componentes do meio ambiente, podendo ser observada ao longo do tempo e do espaço geográfico. Com clima quente e úmido ideal para o desenvolvimento do ciclo de *Fasciola hepatica*, juntamente com a topografia local muito acidentada que contribuem de forma significativa para o desenvolvimento do parasito e do seu hospedeiro, o Espírito Santo se torna uma região com grande potencial endêmico (BERNARDO et al., 2011).

O modelo espacial de distribuição do risco de fasciolose no sul do Espírito Santo indica que 50% das áreas já estudadas estão classificadas como risco alto ou muito alto para fasciolose (MARTINS et al., 2012).

Bernardo et al. (2011) fizeram um estudo com dados provenientes de um matadouro no município de Atílio Vivácqua, no sul do estado, onde 27.625 fígados foram condenados devido a fasciolose, o que representou uma prevalência de 24,89% entre os anos de 2006 a 2009. Dados de inspeção estadual registrou 27,04% de prevalência entre os anos de 2008 e 2010 (VIEIRA et al., 2011).

De acordo com os dados do Instituto de defesa agropecuária e florestal (IDAF-ES) para o sul do estado, a prevalência de fígados bovinos condenados por fasciolose chegou a 17,57% em 2011 e 13,49% no ano de 2014. Foi relatado que ao longo do ano a distribuição das condenações nos estabelecimentos do sul do estado é uniforme, com um aumento pouco significativo no outono. Um estudo relatou que a prevalência durante a estação seca quando comparada com a chuvosa é maior, já que nesse período os animais têm acesso a vegetação em áreas que foram inundadas durante a estação chuvosa (BERNARDO et al., 2011).

Segundo Sargison (2008), a forma crônica da doença é causada por metacercárias ingeridas durante um período prolongado de tempo em número moderado. Os sinais clínicos incluem ganho de peso reduzido, baixa ingestão de alimentos, redução da produção de leite, anemia, emaciação, edema submandibular e ascite.

Já a forma aguda ocorre a curto prazo, com ingestão de um grande número de metacercárias que invadem o fígado ao mesmo tempo. São sinais clínicos a

inapetência, dor abdominal, perda de peso, anemia, ascite e depressão. A morte súbita ocorre em apenas alguns dias (SARGISON, 2008).

São características de animais parasitados por *F. hepatica* um retardo no desenvolvimento, grande redução da produção de leite, do ganho de peso, e problemas de reprodução (LUZ et al., 1996). Devido a essas deficiências são consideráveis as perdas econômicas, sendo o mais visível o número elevado de condenações de fígados pela presença de formas imaturas e adultas do parasito no momento do abate (ECHEVARRIA, 2004).

Para o diagnóstico da fasciolose são usados a detecção de ovos nas fezes ou a presença do parasito no fígado e ductos biliares no exame *post-mortem* (MOLLOY et al., 2005). Por possuírem baixa sensibilidade, muitas técnicas coproparasitológicas para a detecção de ovos não são utilizadas no diagnóstico da doença. A presença de poucos adultos no fígado do indivíduo dificulta a detecção de ovos nas fezes (BERNARDO et al., 2012). Animais infectados podem não ser detectados pelo teste, estabelecendo em fonte de infecção responsável pela manutenção da doença nos rebanhos (SÁNCHEZ-ANDRADE et al., 2000). Flanagan et al. (2011) mostram que os testes para detecção de coproantígenos diagnosticam a doença mais precocemente do que os exames coproparasitológicos.

Segundo estudos realizados por Reichel (2005), entre 60 e 70 dias da infecção é que os ovos do parasito começam a ser eliminados nas fezes. Sendo assim, ainda que a doença clínica possa ocorrer três semanas pós-infecção, a confirmação do diagnóstico de fasciolose por meio do exame de fezes somente poderá ocorrer aproximadamente dez semanas após ingestão de metacercárias (LECLIPTEUX et al., 1998).

O uso das técnicas de determinação de presença dos parasitos é importante para descobrir os animais positivos e selecionar um padrão de infecção. São utilizadas algumas técnicas como a de quatro tamises metálicos, Flukefinder (FARIA et al., 2008) para o diagnóstico da fasciolose, mas a técnica de sedimentação proposta por Foreyt (2005) e validada por Martins et al. (2008) é a mais utilizada.

A implantação de um programa de controle integrado têm sido o grande problema no controle da fasciolose. Este programa necessita atuar desde o uso do controle químico no hospedeiro definitivo, passando por medidas de manejo do rebanho, medidas de controle do molusco transmissor e até mesmo adaptações de instalações em áreas de alto risco (FAIRWEATHER, 2011). Por acarretaram

prejuízos ao ambiente, os moluscicidas sintéticos estão sendo evitados levando à necessidade de desenvolver novas medidas de controle. O uso de plantas e seus derivados como novas fórmulas de moluscicida vem sendo estudados (PILE et al., 2001b).

A redução da população de hospedeiros intermediários através de métodos químicos, físicos e biológicos é a maneira ideal de controle efetivo da doença. A redução do número de animais infectados, o que pode ser realizado pela transferência do rebanho a uma área de pastejo livre do parasito, também é uma boa estratégia de controle (FOREYT, 2005).

O grupo dos compostos anti-helmínticos mais usados são os benzimidazóis que possuem amplo espectro e podem ser prescritos tanto na medicina veterinária como para humanos no controle de infecções causadas por nematódeos, cestódeos e trematódeos (MCKELLAR; SCOTT, 1990). Seu mecanismo de ação principal é a potente inibição da formação de microtúbulos do parasito (MARTIN; ROBERTSON e BJORN, 1997). Algumas moléculas da família dos benzimidazóis demonstram atividade contra *Fasciola hepatica* (FAIRWEATHER, 2005).

O medicamento de escolha para o tratamento químico é o triclabendazol sendo utilizado em animais infectados, principalmente porque agem nos três estágios de desenvolvimento de *F. hepatica*, sendo bem eficaz nas formas jovens e adultas, o que não ocorre com a maioria dos medicamentos encontrados no mercado como por exemplo albendazol, closantel, nitroxinil, clorsulon e rafxanida, mesmo exercendo bom desempenho frente ao parasito adulto (RADOSTISTS et al., 2002; FAIRWEATHER, 2005; FAIRWEATHER, 2011),

O uso do triclabendazol vem apresentando populações de parasitos resistentes a esta droga (FAIRWEATHER, 2005) sendo a criação de novas fórmulas alternativas uma opção viável (FAIRWEATHER, 2011). A aplicação inadequada e mal condicionamento do medicamento pode explicar a baixa efetividade do tratamento (HANNA et al., 2015).

Atualmente, as principais fontes naturais para a síntese de medicamentos são as plantas medicinais conferindo-lhes destaque no panorama americano e mundial (REIS et al., 2004). Segundo a Organização Mundial da Saúde (2002), as plantas medicinais são utilizadas por 80% da população mundial na atenção primária à saúde. A produção de fitoterápicos tem aumentado nas indústrias de países desenvolvidos nas últimas décadas. Os países europeus como a Alemanha, e

americanos como os Estados Unidos, possuem os principais mercados produtores e consumidores desses medicamentos (TORRES e SOUZA, 2010).

As plantas medicinais podem ser uma ótima alternativa no controle de parasitos gastrintestinais, sendo muitas dessas plantas conhecidas como possuidoras de atividade anti-helmíntica, necessitando de comprovação científica de sua eficácia. É necessária a validação dos fitoterápicos como etapa inicial obrigatória para a utilização correta de plantas medicinais ou de seus compostos ativos. A avaliação da existência de propriedades anti-helmínticas nos extratos vegetais é realizada pelos testes *in vitro*, que colaboram com caracterização de novos compostos ativos presentes nos vegetais, levando a criação de novas fórmulas alternativas no controle das parasitoses (DIAS e DESSOY., 2009).

2.2 Plantas medicinais

O uso de plantas medicinais, especialmente na América do Sul, contribui significativamente para os cuidados básicos com a saúde. Para o tratamento de infecções comuns, muitas plantas são utilizadas no Brasil na forma de extrato bruto, infusões ou emplastos, sem nenhuma evidência científica de sua eficácia. Na área da medicina veterinária é crescente a procura por terapias que utilizam plantas medicinais, uma vez que esses produtos podem reduzir custos para o produtor, reduzir contaminações ao ambiente e ter alta eficácia no controle sanitário o que está diretamente ligado a produtividade dos animais (ARAÚJO et al., 2002).

A predominância do uso de plantas e extratos vegetais como recursos terapêuticos até o século XIX pode ser ilustrado pela Farmacopeia Geral para o Reino e Domínios de Portugal, de 1794. As plantas medicinais e seus extrativos constituíam a maioria dos medicamentos (400 espécies em média), sendo que muitas das espécies estão presentes em farmacopeias mais recentes, resistindo assim à ação do tempo e da crítica científica (SCHENCKEL et al., 2001).

Lorenzi e Matos (2002) descrevem que os escravos trouxeram do continente africano o uso de plantas medicinais para o Brasil, influenciando assim para a tradição popular do uso dessa terapêutica. Os europeus foram os responsáveis por trazer os conhecimentos de uso de plantas medicinais, uma vez que testaram muitas plantas nativas que eram usadas por tribos indígenas e que seriam similares as encontradas em sua região da Europa, aprimorando seu uso através das gerações.

A partir do século XX a industrialização e urbanização do Brasil leva o acesso a medicamentos sintéticos e o uso das plantas medicinais passa a ser considerado um retrocesso tecnológico (LORENZI e MATOS, 2002).

De acordo com a descrição de Oliveira e Akisue (2000), plantas medicinais são plantas com a presença de substâncias com atividade para fins terapêuticos ou precursores que possam ser sintetizados e utilizados para esses mesmos fins. Droga vegetal é a planta ou suas partes que, após sofrerem processo de extração, justifiquem seu emprego na preparação de medicamentos. Uma das características da droga corresponde à presença de princípios ativos, que são substâncias quimicamente definidas, nas matérias primas e nos fitoterápicos responsáveis pelos efeitos terapêuticos desses materiais.

Segundo Castro et al. (1993), é provável que metade das espécies vegetais existentes no Brasil tenha alguma propriedade terapêutica útil à população. No entanto, menos de 1% dessas espécies com potencial foi conduzido para estudos adequados. Já existem casos de substâncias exclusivas de plantas brasileiras já terem sido patenteadas por empresas ou órgãos governamentais estrangeiros, que encontram nesta matéria prima medicamentos em menor tempo e com custos inferiores aos medicamentos sintéticos.

Pelas descrições de Castro et al. (1993) e Oliveira e Akissue (2000), as formas de extração frequentemente utilizadas pela população são:

- **Infusão:** Consiste em verter água aquecida até o ponto de fervura à droga vegetal, mantendo o sistema abafado até alcançar temperatura ambiente. É utilizado para todas as partes de plantas ricas em componentes voláteis, aromas delicados e princípios ativos que se degradam pela ação combinada da água e do calor prolongado.
- **Decocção:** Nesta preparação as partes da planta são fervidas junto com a água por alguns minutos. Normalmente utilizada para as ervas não aromáticas (que contêm princípios estáveis ao calor) e para as drogas vegetais constituídas por sementes, raízes, cascas e outras partes de maior resistência à ação da água quente.
- **Maceração:** Submissão de um corpo sólido à ação de um líquido extrator. Consiste em colocar a parte da planta medicinal dentro de um recipiente contendo álcool, óleo, água, ou outro líquido extrator que ficam macerando por até 24 horas. É usada no caso de plantas com grande quantidade dessas

substâncias ou facilmente degradáveis. Plantas com possibilidade de fermentações não devem ser preparadas desta forma.

- Percolação: Processo dinâmico onde se faz o arrastamento do princípio ativo pela passagem contínua do líquido extrator levando ao esgotamento da planta através do gotejamento lento do material. Também permite obter soluções extrativas mais concentradas, gradiente de polaridade, economia do líquido extrator e tempo relativamente curto. É indicada para substâncias farmacologicamente muito ativas, presentes em pequena quantidade ou pouco solúveis.

Etnoveterinária é definida como a investigação sistemática e aplicação prática do conhecimento popular dentro de uma visão holística e comparativa, onde os sistemas de produção animal seriam abordados nos seus aspectos ecológicos, socioeconômicos, culturais, políticos, históricos, entre outros. O objetivo prático seria incrementar saúde e produção animal através da pesquisa e do desenvolvimento de alternativas sustentáveis, culturalmente aceitáveis e economicamente viáveis. O reconhecimento da complexidade de variáveis que influenciam a saúde animal é o princípio superior da etnoveterinária (OLIVEIRA, 2003).

Existe um crescente interesse das sociedades ocidentais em práticas da medicina veterinária tradicional através da utilização de alternativas não convencionais, tais como, as plantas medicinais, a homeopatia, a acupuntura, dentre outras (SCHILHORN VAN VEEN, 1997). Mesquita et al. (1998) realizaram uma pesquisa, no curso de Medicina Veterinária da UNIFENAS (MG), onde se revelou o largo emprego de fitoterápicos no tratamento de enfermidades dos animais. Entre as plantas mais utilizadas foram citados a “carqueja”, o “barbatimão”, a “goiabeira” e a “erva-de-são-joão”. A maioria das plantas era utilizada no estado fresco (75,11%); 45,41% empregavam folhas e para 48,31% dos entrevistados o modo de preparo mais utilizado era o decocto. As plantas eram utilizadas no tratamento de enterites, ferimentos, retenção de placenta e verminose. A maioria dos entrevistados obtinha efeitos desejados e não observou efeitos colaterais.

Em um relato descrito em Oliveira (2003), os nativos da África Ocidental possuem um repertório de recursos terapêuticos para o tratamento de enfermidades nos animais, incluindo antifúngicos, antivirais, anti-helmínticos, hemoparasiticidas, ectoparasiticidas, anti-hemorragicos, catárticos, laxantes, antiofídicos e galactágogos. A literatura científica sobre o potencial das plantas para prática

veterinária na Índia é ampla e crescente, sendo as plantas o principal recurso, na ótica etnoveterinária indiana, empregados na atenção à saúde animal. Existe a crença entre os produtores de que as plantas, que são geralmente nativas da própria região, ajudam a prevenir ou tratar doenças nos animais. Dependendo da anormalidade, uma única planta ou uma combinação destas pode ser utilizada sozinha ou juntamente com outros ingredientes. Práticas tradicionais, a base de plantas medicinais, no tratamento de enfermidades comuns, como abscessos, feridas, mastite, problemas oftálmicos e gastrintestinais, ectoparasitismo e problemas reprodutivos como retenção de placenta e infecções uterinas são relatadas (OLIVEIRA, 2003).

De acordo com Anjaria (1996), existiam entre 60 a 80 pequenas indústrias na Índia produzindo remédios veterinários a base de plantas medicinais e, com o crescimento da indústria nacional existe a geração de empregos e estimulação da economia local. Um futuro promissor é visto para a exportação de medicamentos naturais para uso humano e veterinário, já que no ocidente o consumo destes tem grande tendência de crescimento.

É necessário o desenvolvimento da legislação para regularizar e padronizar o processamento e a qualidade das formulações tradicionais, assim como a pesquisa científica para identificar e validar esta terapêutica tradicional (ANJARIA, 1996).

No Brasil, fazem parte do arsenal terapêutico nacional pelo menos trezentas plantas reconhecidas com propriedades medicinais, embora, muitas vezes desacreditadas ou simplesmente, não aceitas como alternativa (LORENZI e MATOS, 2002). Algumas plantas como o Melão de São Caetano já possuem comprovação de ação anti-helmíntica, e mais precisamente com ação fasciolicida em caprinos, como descrito por Gomes et. al. (2010).

Muitos trabalhos vêm descrevendo o uso de plantas medicinais no controle e tratamento de *Fasciola hepatica* no Brasil e no mundo. Apesar de os extratos de plantas representarem uma potencial alternativa para o controle eficaz da fasciolose, essa área tem sido explorada limitadamente, havendo necessidade de realizar novas pesquisas para determinar seu potencial (MERCADO et. al., 2015).

Como são escassos os estudos sobre a eficácia de extratos com atividade fasciolicida, foi realizada uma revisão com algumas plantas medicinais encontradas no Brasil e que possivelmente poderiam ter potencial atividade no controle das

formas jovens e adultas e que poderiam direcionar a descoberta de novos compostos com eficácia comprovada.

Tabela 1: Extratos vegetais com suas respectivas famílias, espécies, nome popular e informação etnobotânica.

Família	Espécie	Nome popular	Partes usadas	Atividades estudadas
Leguminosae-Mimosoideae	<i>Stryphnodendron adstringens</i>	Barbatimão	Casca e Folhas	Controle de parasitoses e vetores. Sua ação resulta na capacidade de complexação com proteínas e do seu poder de sequestrar íons metálicos, principalmente ferro, essenciais ao desenvolvimento de microorganismos (SCALBERT, 1991).
Myrtaceae	<i>Eugenia uniflora</i> L.	Pitangueira	Folhas	Ação antimalárica em camundongos e diversos extratos da folha apresentaram em testes <i>in vitro</i> , atividade tripanosomicida (ADEWUMNI et al., 2001).
Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i> L.	Goiabeira	Folhas	Capacidade de atividade antimicrobiana, antimutagênica e atividade hipoglicêmica (AMARAL et al., 2006). Resultados promissores, para a atividade antibacteriana (ABDELRAHIM et al., 2002), antifúngica e contra <i>Entamoeba histolytica</i> (HOLTEZ et al., 2002).
Cucurbitaceae	<i>Momordica charantia</i> L.	Melão de São Caetano, erva-de-são-vicente.	Folhas	Araújo-Lima (2002) indicaram o melão de São Caetano como plantas medicinais com ação sobre parasitos.
Nyctaginaceae	<i>Guapira graciliflora</i>	Maria-mole e pau-piranha.	Folhas	Efeito cicatrizante (COELHO et al., 2005).
Nyctaginaceae	<i>Guapira opposita</i>	Maria-mole, pau-piranha branco.	Folhas	Atividade antimicrobiana contra <i>Cladosporium cladosporides</i> (MORENO et al., 2004).
Nyctaginaceae	<i>Guapira noxia</i>	Pão-judeo, João-mole, capa-rosa, João-mole-do-campo.	Folhas	Estudos revelaram as atividades antiúlceras, anti-inflamatória, antimicrobiana e moduladora do sistema imunológico com os extratos dessa espécie (SEVERI, 2007).
Rubiaceae	<i>Uncaria tomentosa</i>	Unha de gato	Casca	A atividade terapêutica do fitoterápico <i>U. tomentosa</i> é de antiinflamatória e modulador do sistema imunológico (SETTY; SIGAL, 2005).
Anacardiaceae	<i>Anacardium occidentale</i>	Cajueiro	Casca e folha	Atividade antiinflamatória, antidiabética, inibidor da enzima acetilcolinesterase e antimicrobiana (PEREIRA et al., 2015)
Pedaliaceae	<i>Harpagophytum procumbens</i>	Garra do Diabo	Raiz	Atividade antiinflamatória (CHANTRE et al., 2000).

Na tabela 1 encontram-se os extratos utilizados e suas principais funções dentro da medicina, sendo eles *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão), *Eugenia uniflora* L. (Pitangueira), *Psidium guajava* L. (goiabeira), *Momordica charantia* L. (Melão de São Caetano), *Guapira graciliflora* (João mole), *Guapira opposita* (Maria mole), *Guapira noxia* (Guapira do cerrado); *Uncaria tomentosa* (Unha de gato) e *Harpagophytum procumbens* (Raiz de Garra do diabo).

O barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) é conhecida, empiricamente, pelo seu uso externo e interno no corpo, sendo utilizadas cascas e folhas. As cascas são mais usadas, supostamente por serem mais adstringentes. É uma importante planta medicinal, uma vez que é indicado para várias doenças, como, corrimento vaginal, hemorragias uterinas e intestinais, feridas abertas, úlceras do estômago e duodeno diarreia, leucorréia, afecções escorbúticas, hérnia, para esses males são usados chás das cascas (GLASENAPP, 2011). Folhas e cascas são tônicas podendo ser usadas contra tosses, queimaduras, oftalmias crônicas e escorbuto. Esse potencial medicinal se dá pela presença de taninos que torna a planta adstringente (MELO, 2011).

As folhas da pitangueira (*Eugenia uniflora* L.), são empregadas popularmente como anti-hipertensivas, diuréticas, adstringentes, antimicrobianas e para tratamento de desordens digestivas (TIBULO et al., 2016). Testes realizados *in vitro* e *in vivo* demonstram que extratos das folhas de *E. uniflora* L. possuem várias atividades farmacológicas, como antidiarreica, diurética, anti-inflamatória e antifúngica (ALMEIDA et al., 2012). Tem sido bem estudada devido ao seu potencial como um antioxidante e hipotensivo (SANTOS et. al., 2013), fotossensibilizador e potencializador de antibiótico (COUTINHO et al., 2010a; COUTINHO et al., 2010b). Os resultados indicam que *E. uniflora* foi consideravelmente eficaz contra as cepas de parasitos testadas apresentando uma fonte alternativa de produtos naturais com atividade contra *Leishmania brasiliensis* (SANTOS et. al., 2013).

A goiaba (*Psidium guajava* L.), pertence a família Myrtaceae, e segundo a literatura etnofarmacológica, é uma planta unanimemente utilizada no tratamento caseiro de diarreias. Na infância, o chá é usado no tratamento de inflamações da boca, na forma de bochechos (LORENZI e MATOS, 2002). O chá das folhas também é comumente usado em lavagens locais de úlceras e na leucorréia. Investigações farmacológicas indicaram que suas raízes, a casca dos caules e suas folhas possuem atividade antidiarreica, antipirética, analgésica do estomago,

antitussígena, hipoglicêmica, anti-inflamatória, anestésica e atividade depressora do sistema nervoso central. Recentemente, a capacidade antioxidante de quercetina glicosídica, principal constituinte da folha do extrato metanólico, tem atraído a atenção de pesquisadores para a aplicação destes produtos na área da farmacologia (HAIDA et.al., 2011).

O melão de São Caetano (*Momordica charantia*) é uma planta que tem sido utilizada frequentemente como uso medicinal, conhecida popularmente como melão-de-São-Caetano. Cresce em áreas tropicais da Ásia, Amazônia, oeste Africano e no Caribe, sendo utilizada na medicina popular em países em desenvolvimento. Os frutos, folhas e raízes são utilizados comumente para diabetes como cicatrizante, no tratamento de cólicas e contra parasitos internos e ectoparasitos (PEREIRA et. al., 2016). Em um estudo realizado com *M. charantia*, foi possível observar a capacidade dos extratos obtidos desta planta de impedir o desenvolvimento do miracídio em ovos de *Fasciola hepatica* devido à presença de taninos (GOMES et. al., 2010).

A *Guapira graciliflora* é descrita com seu uso como cicatrizante. Já a *Guapira opposita* possui uma atividade antimicrobiana contra *Cladosporium cladosporides*. A avaliação do gênero *Guapira* revelou efeito gastroprotetor para *Guapira noxia* e que possivelmente deve interferir na elevação dos níveis de compostos sulfidrílicos (agente citoprotetor), associado à atividade antioxidante (SEVERI, 2010). Trata-se de um gênero que requer mais estudos para avaliar suas atividades farmacológicas.

A *Uncaria tomentosa* (unha de gato) é uma planta amplamente utilizada na medicina popular, originária da Amazônia. Possui atividades biológicas, como anti-inflamatória, antimutagênica e antioxidante (SÁ et. al., 2014). A *Uncaria tomentosa* é uma trepadeira, com folhas compostas, opostas e ovais podendo ser encontrada em toda a Amazônia (SIMÕES et al.,2004). É uma planta medicinal amplamente utilizada na medicina popular no tratamento de várias enfermidades como, câncer, gastrite, reumatismo, artrite e certas afecções epidérmicas, como a candidose oral (GATTUSO et al., 2004; JURGENSEN et al., 2005; KLOUCEK et al., 2005; MARTINO, 2006; PAIVA et al., 2009; DREIFUSS et al., 2010).

A planta *Anacardium occidentale* L. pertencente à família Anacardiaceae, é conhecida popularmente como cajueiro. É originária do Brasil, e utilizada na medicina tradicional, principalmente no nordeste brasileiro com efeitos terapêuticos. Na literatura, encontram-se atividades farmacológicas comprovadas, como sendo o

cajueiro uma planta anti-inflamatória, antidiabética, inibidor da enzima acetilcolinesterase e antimicrobiana (PEREIRA et al., 2015). São atribuídas diversas propriedades farmacológicas, tais como: antitussígeno, antissifilítico, diurética e cicatrizante, sendo uma das plantas mais citadas com atividade antimicrobiana relevante sobre o *Staphylococcus aureus* (SANTOS e ALVES, 2012). Estudos sobre o efeito anti-inflamatório do extrato da casca do cajueiro foram atribuídos à presença de taninos, que demonstraram atividade em ambos os modelos de inflamação aguda e crônica (MOTA et. al., 2012).

A garra do diabo ou unha do diabo (*Harpagophytum procumbens*), é usada na forma de infusão por nativos africanos para tratamento de doenças reumáticas, diabetes, arteriosclerose e malária. Suas raízes podem conter constituintes com atividade analgésica e antiinflamatória agonistas ou antagonistas, sinérgicas ou complementares (ANAUATE, 2007). Também é descrita com atividade antiinflamatória (oral) para dores lombares, osteoartrite (artrose), enquanto que a farmacopeia Britânica indica como diurético e sedativo (SANDERS, 2011).

Por apresentarem muitas atividades farmacológicas é que se faz necessário o estudo das plantas medicinais para uso veterinário com eficácia em doenças parasitárias.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Reagentes e equipamentos

- ✓ Acetato de etila PA ACS Vetec ®
- ✓ Agebendazol 15% (Albendazol) Suspensão injetável Agener União ®
- ✓ Álcool etílico absoluto PA Alphatec ®
- ✓ Álcool etílico hidratado 92,8° INPM Coperalcool ®
- ✓ Bouin solução fixadora SP Labor ®
- ✓ Formol PA Vetec ®
- ✓ RPMI 1640 Advanced Gibco by Life Technologies ®
- ✓ Autoclave vertical CS Primatec ®
- ✓ Balança semi-analítica AY220 Marte ®
- ✓ Banho ultrassônico digital Sonielean 6 Sanders ®
- ✓ Deionizador de água Lucadema ®
- ✓ Liofilizador L101 Liotop ®
- ✓ Microscópio Eclipse Ci-S Nikon com câmera CCD Nikon Evolution™
- ✓ Rotaevaporador Laborata 4000 Heidolph ®

3.2 Material vegetal e preparo dos extratos

O material vegetal utilizado neste trabalho foi selecionado a partir de um banco de plantas medicinais e extratos vegetais disponíveis no Laboratório de Produção Farmacêutica do CCENS-UFES, o qual foi instituído Profa. Dra. Juliana Aparecida Severi. A escolha foi feita com base na disponibilidade de droga vegetal, de extrato bruto e/ou facilidade de acesso durante a coleta para obtenção de material em quantidade compatível com o requerido para execução de todas as etapas propostas neste projeto.

Selecionou-se o total de 10 espécies vegetais, sendo as espécies nativas provenientes de coletas em diferentes localidades dos estados de São Paulo (Itirapina, Botucatu e Itapetininga) e Espírito Santo (Alegre e Jerônimo Monteiro) e as espécies exóticas, que não dispõem de cultivo padronizado no Brasil, de procedência comercial junto à empresa especializada do setor Centroflora de São Paulo (Tabela 2).

Tabela 2 – Descrição e procedência das espécies vegetais utilizadas no ensaio fasciolicida.

Nome científico	Nome popular	Parte utilizada	Sigla	Local de coleta	Registro
<i>Anacardium occidentale</i>	Cajueiro	Casca	CAO	Jerônimo Monteiro-ES	VIES30551
		Folha	FAO	Jerônimo Monteiro-ES	VIES30551
<i>Eugenia uniflora</i>	Pitangueira	Folha	FEU	Jerônimo Monteiro-ES	VIES30550
<i>Guapira graciliflora</i>	João Mole	Folha	GG	Itirapina-SP	UEC1441
<i>Guapira noxia</i>	Guapira do Cerrado	Folha	GN	Botucatu-SP	UEC145.858
<i>Guapira opposita</i>	Maria Mole	Folha	GO	Itapetininga-SP	UEC1437
<i>Harpagophytum procumbens</i>	Garra do diabo	Raiz	RHP	Centroflora-SP	-
<i>Momordica charantia</i>	Melão de São Caetano	Folha	MSC	Alegre-ES	-
<i>Psidium guajava</i>	Goiabeira	Folha	FPG	Jerônimo Monteiro-ES	VIES30552
<i>Stryphnodendron adstringens</i>	Barbatimão	Casca	CSA	Centroflora-SP	-
		Folha	FSA	Centroflora-SP	-
<i>Uncaria tomentosa</i>	Unha de gato	Casca	CUT	Centroflora-SP	-

O procedimento de preparação do material vegetal ocorreu de forma semelhante para todas as espécies vegetais. Sucintamente, realizou-se a coleta em ambiente preferencialmente nativo, no período da manhã, a partir de exemplares adultos e sadios. Uma porção fértil foi selecionada para a confecção de exsiccatas e posterior depósito em Herbário para documentação. O restante do material foi separado manualmente de possíveis interferentes e inspecionado quanto à integridade das respectivas partes (cascas, raízes ou folhas), sendo desprezadas aquelas que apresentassem algum tipo de dano. Em seguida, foram higienizados em água corrente para a remoção de sujidades e submetidos à secagem em estufa com circulação forçada de ar a 45° C. Posteriormente, realizou-se a moagem em moinho de facas, com malha de 0,5 mm, a fim de obter um pó fino para extração.

Além disso, algumas plantas foram provenientes de uma parceria firmada entre a pesquisa e o grupo Centroflora-Anidro do Brasil, localizado no município de Botucatu-SP.

Os procedimentos de extração variaram conforme a natureza da droga vegetal, tendo sido empregadas as técnicas de percolação e maceração. Na percolação uma alíquota da droga vegetal foi previamente intumescida com o líquido

extrator e então transferida para o percolador. A extração ocorreu por meio da aplicação contínua de líquido extrator renovado no topo do percolador até a remoção completa dos compostos presentes. A maceração, por sua vez, consistiu na mistura do líquido extrator com a droga vegetal em proporções previamente definidas. A mistura foi mantida em recipiente fechado, durante um período de tempo definido (dois a três dias), sob a agitação ocasional e sem renovação do líquido extrator.

Após o período de extração, a mistura foi filtrada em papel filtro e o resíduo vegetal foi remacerado por mais 2 vezes. Após a extração, as soluções extrativas resultantes foram concentradas em rotaevaporador em temperatura inferior a 45°C). Para secagem completa dos extratos, as amostras foram transferidas para frascos de vidro previamente pesados e congeladas para que fosse feita a liofilização da água residual, sendo obtidos assim os extratos brutos secos.

3.3 Avaliação Fitoquímica

A caracterização qualitativa da composição química dos extratos foi realizada com base nos protocolos propostos por Matos (2009) e Wagner et al. (1984), com modificações. Os testes realizados tiveram o objetivo de confirmar a presença ou não de compostos fenólicos, flavonoides, taninos, cumarinas, terpenos, glicosídeos cardiotônicos, alcaloides e saponinas.

3.3.1 Pesquisa de compostos fenólicos

A pesquisa de compostos fenólicos foi realizada utilizando-se a adição de gotas da solução de cloreto férrico (FeCl_3) a 5% ao extrato em solução hidroalcoólica, avaliando a formação de precipitado característico que promove a alteração de cor do meio reacional para azul ou verde quando na presença de compostos fenólicos.

3.3.2 Pesquisa de flavonoides

Para a pesquisa de flavonóides nos extratos, utilizou-se uma combinação de reações. Inicialmente aplicou-se os extratos em solução sobre papel filtro com auxílio de capilar de vidro até formação de um halo de 2 cm. Em seguida, adicionou-se gotas da solução de cloreto de alumínio (AlCl_3) a 5% e comparou-se a ocorrência ou não de intensificação da fluorescência de cor amarela sob luz ultravioleta (360 nm),

o que indica a presença de flavonoides. Outro teste realizado foi o de Taubouk, por meio do qual adicionam-se gotas de acetona no extrato seco, cristais de ácido bórico e ácido oxálico (1:1) e a mistura é levada à evaporação por aquecimento brando. Ao resíduo seco é adicionado 3 mL de éter etílico e então os extratos são observados sob luz ultravioleta (360 nm) para verificar a formação de complexo de cor amarelo-esverdeado, indicativo da presença de flavonoides. Os testes de Shinoda e Pew consistem na observação da presença de flavonoides por meio da formação de cianidina, que promove a mudança do meio reacional para castanho-avermelhado. Para isso, utilizam-se os extratos em solução aquosa, sobre os quais são depositados fragmentos de magnésio metálico (Shinoda) ou de zinco metálico (Pew), seguido da adição de 1 mL de ácido clorídrico (HCl) concentrado. No teste de Pew, onde somente os dihidroflavonóides produzem mudança de coloração. No teste Pacheco a pesquisa de flavonóides é feita por adição de cristais de acetato de sódio aos extratos e 0,1 mL de anidrido acético, aquecendo a cápsula de porcelana com posterior adição de HCl concentrado. A mudança de coloração para vermelho a presença de dihidroflavonois, já as flavonas, chalconas, auronas, flavonóis e flavonas não apresentaram mudança de cor.

3.3.3 Pesquisa de taninos

Para a pesquisa de taninos nos extratos aplicou-se por gotejamento uma solução de gelatina a 2% às soluções aquosas dos extratos vegetais, observando se houve formação de precipitado floculoso característico da presença de taninos. De forma semelhante, adicionou-se gotas da solução de cloreto férrico a 1% às soluções dos extratos. Na presença de taninos hidrolisáveis ocorre formação de precipitado de cor azul, enquanto que para taninos condensados a cor do precipitado é verde. Sais de metais pesado também foram usados para a pesquisa de taninos. Gotas da solução de acetato de chumbo ($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) a 10% e de acetato de cobre ($\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) foram adicionadas aos extratos em solução hidroalcoólica, observado a formação de precipitado característico na presença de taninos.

3.3.4 Pesquisa de cumarinas

Foi realizado o teste utilizando hidróxido de potássio (KOH) a 10%, onde aplicou-se o extrato sobre um pedaço de papel filtro até formação de 2 halos,

colocou-se gotas de solução etanólica de hidróxido de potássio e levou para secagem, colocou-se em exposição a luz ultravioleta (360 nm) que indica presença de cumarinas quando apresenta uma fluorescência azul-esverdeada.

3.3.5 Pesquisa de terpenos e glicosídeos cardiotônicos

O teste de Liebermann-Buchard identifica através do aparecimento da coloração azul ou verde quando há núcleo esteroidal, enquanto a coloração rosa ou violeta indica núcleo triterpênico. É realizado adicionando-se ao extrato 1 mL de anidrido acético seguido de gotas de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado sem agitar.

Para a pesquisa de glicosídeos cardiotônicos utiliza-se o teste de Pesez. Adicionou-se gotas de ácido fosfórico concentrado sobre o extrato seco e a mistura foi observada sob luz ultravioleta (UV) verificando-se a formação de precipitado amarelo-esverdeado fluorescente quando na presença de glicosídeos cardiotônicos. Em seguida, no teste de Keller-Kiliani adicionou-se 1 mL de ácido acético glacial e duas gotas da solução de cloreto férrico a 5% aos extratos. Após adicionou-se lentamente 2 mL de ácido sulfúrico concentrado para observar se houve formação de cor castanho-avermelhada no anel e azul na fase acética o que indica presença de desoxioses livres nas extremidades dos glicosídeos cardiotônicos eventualmente presentes.

3.3.6 Pesquisa de saponinas

A pesquisa de saponinas foi feita por meio da agitação manual e vigorosa das soluções aquosas dos extratos por 15 segundos. A formação de espuma estável e resistente à adição de gotas de uma solução de HCl 0,5% é indicativo da presença de saponinas.

O teste de atividade hemolítica foi realizado com a preparação de ágar sangue e aplicação de uma quantidade de extrato e do padrão de saponina sobre a superfície do ágar. Observa-se a presença de saponinas por meio da obtenção de halos de hemólise no ágar-sangue, quando comparados ao padrão de saponina nos períodos de 24 e 48 horas.

3.3.7 Pesquisa de alcaloides

Para a pesquisa de alcaloides, os extratos foram dissolvidos em água acidificada (HCl 0,1 M) e dividida em tubos de ensaio. A cada tubo foram adicionadas gotas dos reagentes de precipitação de alcaloides: Dragendorff, Mayer, Bertrand, Wagner e Sonnenschein. A formação de precipitado característico em pelo menos um dos tubos é indicativo de alcaloides.

3.4 Avaliação da atividade fasciolicida

Os ensaios de avaliação da atividade fasciolicida foram realizados inicialmente com os extratos brutos em solução aquosa. Para isso, pesou-se convenientemente alíquotas dos extratos brutos em balança semi-analítica e realizou-se a solubilização em água deionizada, com auxílio de banho ultrassônico para obtenção de soluções a 0,1%, 0,25% e 0,5%, em quantidade compatível para a execução do ensaio biológico em triplicata.

Posteriormente, realizou-se a extração líquido-líquido (partição) dos mesmos extratos a fim de remover pigmentos lipofílicos eventualmente interferentes. Alíquotas de 1 g do extrato bruto seco foram solubilizadas com 250 mL de água deionizada. A mistura foi transferida para funil de separação e a este foi adicionado 250 mL de acetato de etila. A mistura foi agitada cuidadosamente por inversão e então mantida em repouso até observação de separação de fases. A fase orgânica foi coletada e levada à secagem em capela de exaustão, enquanto que a fase aquosa foi congelada e seca por liofilização. Após secagem, realizou-se o preparo das soluções das frações aquosas nas mesmas condições e concentrações descritas anteriormente.

A avaliação da atividade fasciolicida foi feita com parasitos adultos conforme a metodologia descrita por Fairweather (2005), com adaptações para as necessidades do experimento, uma vez que o padrão é a utilização de dez (10) parasitos por placa em triplicata. Para adaptação à quantidade coletada nos abatedouros foi definido que os grupos utilizariam cinco (5) parasitos por placa de petri em triplicata. Os parasitos adultos foram coletados a partir da secção manual de fígados bovinos provenientes de frigoríficos da região sul do estado do Espírito Santo no momento do abate. Após a coleta, as amostras foram conduzidas até o Laboratório de Produção Farmacêutica do CCENS/UFES em frascos de vidros contendo alíquotas

do próprio sangue animal a fim de preservar a integridade e qualidade dos parasitos. Foram testados transporte com água corrente e meio RPMI, mas o sangue junto com partes do fígado do animal abatido foi o meio com maior tempo de manutenção dos parasitos viáveis.

Imediatamente após o transporte, foram montados cinco grupos experimentais (controle positivo, controle negativo, concentração 0,1%, concentração 0,25% e concentração 0,5%), cada grupo experimental foi constituído por cinco parasitos adultos, devidamente acondicionados em placa de petri, contendo 10 mL de meio de cultura RPMI 1640, sendo este o meio padronizado na metodologia de Fairweather (2005). A cada grupo aplicou-se 10 mL do extrato vegetal nas concentrações de 0,1%, 0,25% e 0,5%, em triplicata. Em seguida, as amostras foram avaliadas nas horas 3h, 12h e 15h, observando-se a morte (ou não) dos parasitos. Os controles positivo e negativo foram feitos com albendazol 0,5% e meio RPMI, respectivamente (Figura 4).

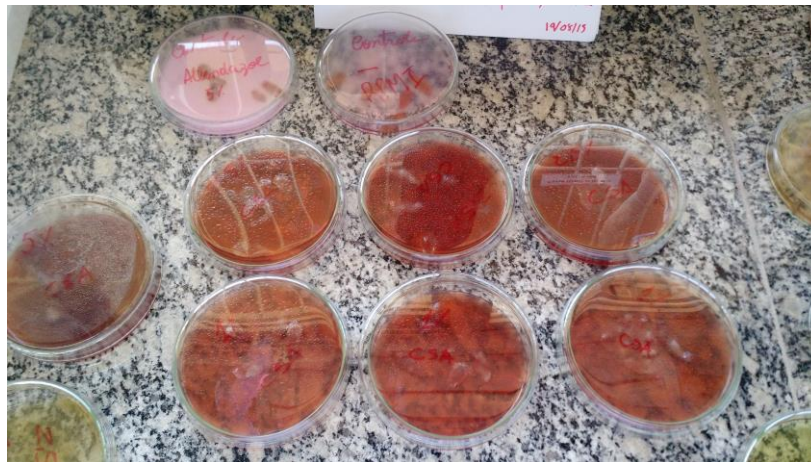


Figura 4 – Representação do ensaio avaliação da atividade fasciolicida com controle positivo, negativo e triplicata das concentrações de extratos utilizados

Fonte: Arquivo pessoal

A fim de realizar a avaliação histológica dos parasitos frente aos extratos eventualmente mais ativos, ao final de todos os períodos de inspeção, coletou-se um parasito de cada grupo experimental. Este foram mergulhados em fixador Bouin por 24h e em seguida em formol a 10% para manutenção até o momento de processamento das amostras.

3.5 Avaliação histológica

Com os parasitos fixados, as amostras foram encaminhadas até o laboratório de Patologia na área experimental da UFES, onde foram produzidos os blocos de parafina para preparo das lâminas.

As amostras foram colocadas em cassetes e devidamente identificadas, após foram colocados em um frasco com álcool 70% por 15 minutos e depois desse período foram realizados cortes sagitais na área dos órgãos reprodutivos do parasito.

Os fragmentos cortados foram recolocadas nos cassetes e colocados em álcool 70% para lavagem. Após foram transferidos para o álcool absoluto I por uma hora (1h) e depois em álcool absoluto II por 1 hora. Na sequência foram colocados na solução de xilol a 37°C por 15 minutos e depois embebidas na parafina a 60°C por mais 15 minutos para então começar o processo de inclusão dos cortes nos blocos.

Foram produzidos pequenos caixotes de papel onde foi colocada uma quantidade de parafina e posicionado o corte corretamente e após realizado o preenchimento do caixote com parafina. Depois de seco foi retirado o papel e o bloco identificado.

Os blocos foram cortados em um micrótomo no tamanho de 3µm. O corte produz lâminas de parafina que foram colocadas em água morna e então transferidas para as lâminas de vidro.

O processo de coloração das lâminas se iniciou colocando-as em solução de xilol I para desparafinização por 10 minutos e na sequência no xilol II por 5 minutos para finalizar esse processo. Após esse tempo foi colocado no álcool I e álcool II por 3 minutos cada para hidratação do corte. Depois deste procedimento as lâminas foram colocadas em água corrente em uma cuba de vidro e depois em outra cuba com água destilada somente para passagem. Na sequência as lâminas foram mergulhadas na hematoxilina de Harris por 7 minutos e depois em água corrente em uma cuba de vidro para lavagem por 10 minutos.

As amostras seguiram para uma solução de álcool de passagem e depois colocadas na solução de eosina por 1 minuto. Em sequência as lâminas foram mergulhadas no álcool I, álcool II, álcool III e xilol I para desidratação por 3 minutos em cada solução. No xilol II as amostras foram colocadas para serem montadas.

Para finalizar a montagem das lâminas foi utilizada uma gota de bálsamo sobre os cortes corados e então aplicadas as lamínulas e colocadas para secagem.

As laminas foram observadas e fotografadas microscópio óptico na objetiva de 100x e as alterações encontradas foram submetidas a uma descrição morfológica.

3.6 Tratamento e descarte de resíduos químicos e biológicos

Os resíduos foram coletados e tiveram descarte seletivo de acordo com os protocolos de segurança estabelecidos pelo CCENS-UFES

3.7 Avaliação estatística

A avaliação estatística foi realizada utilizando o programa Sisvar®, por meio de delineamento inteiramente casualizado (DIC), em um esquema fatorial, com os fatores extratos, tempo e concentração a 5% de probabilidade pelo teste de Newman-Keuls.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Material vegetal e preparo dos extratos

Solventes polares são aqueles cujas moléculas constituintes apresentam regiões eletronicamente densas (assim, com maiores momentos dipolares e maiores constantes dielétricas), e que por isso têm facilidade em solvatar (criar uma camada sobre o soluto) quaisquer substâncias de características também polares (VOGEL, 1983). Sendo assim, a melhor escolha, para o processo de extração utilizado neste trabalho, foi o uso de solventes polares como líquido extrator. Essa escolha potencializou o processo extrativo e garantiu a qualidade do extrato bruto final. Para as três espécies de *Guapira* utilizou-se como líquido extrator álcool metílico, enquanto que o restante dos extratos vegetais foi preparado com álcool etílico comercial (92° GL)

4.2 Avaliação Fitoquímica

Nos testes realizados na avaliação fitoquímica foi possível caracterizar as principais classes de metabólitos presentes nos extratos estudados. Os resultados são apresentados na tabela 3.

Na avaliação fitoquímica das cascas e folhas de *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão – CSA e FSA) foi observada a presença de compostos fenólicos, flavonoides, taninos condensados e, terpenos de núcleo esteroidal, De acordo com Ferreira et. al. (2013) o barbatimão é uma planta rica em taninos e ainda outros constituintes químicos, como flavonoides, terpenos esteroides, inibidores de proteases (como a tripsina) o que pode responder por sua atividade anti-inflamatória e antimicrobiana. Os taninos presentes nessa planta são os principais componentes vegetais que possuem a propriedade de precipitar as proteínas da pele e das mucosas, transformando-as em substâncias insolúveis (MONTEIRO; DE ALBUQUERQUE e ARAÚJO, 2005). Apresentam atividade tóxica devido à habilidade de ligar-se às proteínas e outras macromoléculas por sua adstringência. Outro mecanismo de toxicidade é o fato de complexarem com facilidade a íons metálicos. Sistemas biológicos, incluindo micro-organismos, necessitam de íons

metálicos como cofatores enzimáticos, um exemplo dessa toxicidade são ratos quando tratados com bebidas ricas em compostos fenólicos tiveram redução da absorção de ferro (FERREIRA et. al., 2013).

Tabela 3 - Prospecção fitoquímica qualitativa dos extratos com as reações de identificação positiva para cada classe dos compostos testados com todos os extratos brutos.

Classe de composto	Ensaio realizado	Resultado positivo observado
Alcalóides	Dragendorff Bertrand Sonnenschein	CUT
Compostos fenólicos	FeCl ₃ 5%	RHP, CUT, FPG, CSA, FSA, GG, GN, GO, MSC, FEU, CAO, FAO
Flavonoides	AlCl ₃ 5% Pacheco Shinoda Pew Taubouk	CUT, RHP, FPG, CSA, FSA GO, GN, GG, FEU, CAO, FAO
Heterosídeos cardioativos	Pesez Keller-killiani	Nenhum
Saponinas	Formação de espuma estável Atividade hemolítica	GG, GN, GO, MSC
Taninos	Gelatina 2% Pb(AcO) ₂ FeCl ₃ 1% Cu(AcO) ₂	FPG ¹ , CSA ² , FSA ² , FEU ¹ , CAO ² , FAO ²
Terpenóides	Liebermann-B.	RHP, CUT, FPG, CSA, FSA, GG, GN, GO, MSC, FEU, FAO, CAO

CAO – Casca do cajueiro (*Anacardium occidentale*); CSA- casca do barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*); CUT- Casca de Unha de gato (*Uncaria tomentosa*); FAO – Folha do cajueiro (*Anacardium occidentale*); FEU – Folha da pitangueira (*Eugenia uniflora*); FPG- Folhas da goiabeira (*Psidium guajava* L.); FSA- folha do barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*); GG- *Guapira graciliflora*; GN- *Guapira noxia*; GO- *Guapira opposita*; MSC- Melão de São Caetano (*Momordica charantia* L.); RHP - Raiz de Garra do diabo (*Harpagophytum procumbens*); ¹Taninos hidrolisáveis, ²Taninos condensados

Nas cascas de *Uncaria tomentosa* (Unha de gato - CUT) foram encontrados compostos fenólicos, flavonóides, alcaloides, terpenos de núcleo terpênico. Segundo pesquisas de Pereira et. al. (2006) na espécie *U. tomentosa* são encontrados alcaloides oxindólicos, N-oxi-oxindólicos e indólicos, triterpenos glicosilados, taninos e flavonóides. Vários estudos relatam que estes alcaloides têm o poder de estimular o sistema imunológico em até 50% induzindo o uso no tratamento de doenças que afetam o sistema imunológico. Os alcaloides dessas espécies são encontrados nas diferentes partes da planta, tais como raízes, cascas, ramos, folhas, flores e sementes, e exercem uma grande ação fitoterápica, sendo os principais pertencentes ao grupo oxindólico. Também, foram isolados alcaloides indólicos

pentacíclicos e tetracíclicos, bem como outros alcaloides oxindólicos tetracíclicos. Outros constituintes como os compostos glicosídeos do ácido quinóico, extraídos da casca, foram identificados. Sete desses compostos, que demonstram ser os responsáveis pelos efeitos anti-inflamatórios, podendo inibir inflamações em até 69%.

Na avaliação das folhas de *Psidium guajava* (Goiaba - FPG) foram identificados compostos fenólicos, flavonoides, taninos condensados, terpenos esteroidais. Os estudos de Zeni et. al. (2006) confirmam a presença de flavonóides e taninos, ausência de antraquinonas, mostram que saponinas foram detectadas somente no extrato hidroalcolico aquecido, alcaloides apareceram em extrações a frio, já esteroides e triterpenóides se apresentaram em extratos hidroalcolicos. A interferência da temperatura ou do solvente na extração dos metabólitos pode explicar a ausência de certos compostos em uma amostra e sua presença em outra.

Na pesquisa das folhas da *Guapira graciliflora* (GG), da *Guapira noxia* (GN) e da *Guapira opposita* (GO) foram observadas a presença de compostos fenólicos, flavonoides, terpenos de núcleo esteroidal, e saponinas. De acordo com estudos de Severi (2010), foram identificados em *G. opposita* flavonóides, monoacilgliceróis, ureídeo e ciclitol; em *G. graciliflora* saponinas, sendo duas inéditas, flavonóides e monoacilgliceróis; e de *G. noxia* compostos nitrogenados, hemiterpeno e saponina inédita, confirmando a identificação deste trabalho.

Quando analisadas as folhas de *Momordica charantia* (Melão de São Caetano - MSC) foram encontrados principalmente terpenos de núcleo esteroidal e saponinas, juntamente com traços de fenólicos. Estudo realizado por Gomes et. al. (2010) sugerem que os glicosídeos triterpenos, bem como mormodinas I e II sejam os principais agentes nematicidas desta planta. A atividade anti-helmíntica das folhas de Melão de São Caetano talvez seja o motivo indutor de seu uso contra problemas gastrintestinais. A aderência do extrato etanólico de *Momordica charantia* às larvas dos parasitos, impedem a motilidade e a alimentação, resultando em estresse energético e consequente morte do parasito, acredita-se que esta ação de aderência ocorra principalmente pela grande quantidade de taninos presentes no extrato (GOMES et. al., 2010)

Nas raízes de *Harpagophytum procumbens* (Garra do diabo – RHP) identificou-se compostos fenólicos e terpenos de núcleo terpênico. Esses dados estão de acordo com Brasil (2015) que descreve que a garra do diabo apresenta em

sua constituição os glicosídeos iridóides (compostos majoritários), harpagoquinonas, flavonoides, fitosteróis e terpenoides.

Nas folhas da *Eugenia uniflora* L. (Pitangueira – FEU) foram encontrados compostos fenólicos, flavonoides, taninos hidrolisáveis e terpenóides, o que pode ser confirmado por Wazlawik et al. (1997) que descreve que vários constituintes de *E. uniflora* foram isolados, como os flavonóides miricitrina, quercetina e quercetina-3-O-ramnosídeo, além de esteróides, monoterpenos, triterpenos, antraquinonas, fenóis, cineol, óleos essenciais. Taninos (eugeniflorina D1 e eugeniflorina D2) também foram encontrados principalmente nas folhas (TIBULO et al., 2016).

Nas folhas e cascas do *Anacardium occidentale* (Cajueiro – CAO e FAO) se encontram compostos fenólicos, flavonoides, taninos condensados e terpenos o que é comprovado por Agostini-Costa et al., (2002) que demonstra a presença de taninos, sendo encontrado na casca do caju apenas os taninos condensados.

Nenhuma das plantas analisadas apresentaram cumarinas ou heterosídeos cardíacos.

Saponinas, taninos, flavonoides, terpenos (mono, di e sesquiterpenos) têm se mostrado serem ativos contra uma ampla variedade de parasitos. Estudos recentes relataram que o efeito anti-helmíntico de plantas como *Artemisia mexicana*, *Mentha piperita*, *Achillea millefolium*, *Allium sativum*, *Piper nigrum*, *Carica papaya* possuem efeitos contra parasitos adultos de *Fasciola hepática* (MERCADO et. al., 2015).

4.3 Avaliação da atividade fasciolicida

A avaliação da atividade fasciolicida dos extratos foi realizada por inspeção dos grupos experimentais ao longo de 0h, 3h, 12h e 15h de exposição, observando-se a morte (ou não) dos parasitos (FAIRWEATHER, 2005). Além disso, foram registradas eventuais alterações macroscópicas visíveis a olho nú, tais como alteração de bordas ou turgência dos parasitos. A motilidade dos parasitos foi considerada como evidência da viabilidade dos mesmos durante o período de avaliação.

Nos testes de aplicação de extratos bruto nos parasitos adultos de *Fasciola hepática* foi observado que a relação de horas de avaliação pela concentração do extrato teve interação significativa o que mostra que houve diferenças nas atividades

dos extratos em diferentes aplicações de concentração e no decorrer do tempo. O F calculado foi maior que o tabelado, ou seja, existe diferença estatística entre as médias. Como houve interação significativa entre os três fatores, deve-se analisar o determinado fator atuando dentro dos outros fatores.

Tabela 4 - Teste de Newman-Keuls (1974) para o desdobramento de extratos dentro do tempo e a concentração

Extratos	3h			12h			15h		
	0,10 %	0,25%	0,50%	0,10 %	0,25%	0,50%	0,10 %	0,25%	0,50%
Alb	0 b	0 d	0 b	0 f	0 e	5 a	5 a	0 c	0 c
CAO	3,7 a	4 bc	0 b	0,3 f	1 cde	0 d	1 c	0 c	0 c
CSA	0 b	5 a	0 b	3,7 cd	0 e	5 a	1,3 de	0 c	0 c
CUT	0 b	0 d	0 b	0 f	0 e	0 d	0 e	0 c	0 c
FAO	0 b	3,6 c	5 a	2,7 d	1 cde	0 d	2,3 c	0,3 c	0 c
FEU	4 a	4,7 ab	0 b	0 f	0,3 de	0 d	1 de	0 c	0 c
FPG	0 b	0 d	0 b	4,7 ab	5 a	5 a	0,3 de	0 c	0 c
GG	0 b	0 d	0 b	1,3 e	3,3 b	5 a	3,7 b	1,7 b	0 c
GN	0 b	0 d	0 b	0,7 ef	1,7 c	3,7 b	4,3 ab	3,3 a	1,3 b
GO	0 b	0 d	0 b	1,3 e	1,3 cd	2,3 c	3,7 b	3,7 a	2,7 a
MSC	0 b	0 d	0 b	5 a	5 a	5 a	0 e	0 c	0 c
RHP	0 b	0 d	0 b	4 bc	4,7 a	5 a	1 de	0,3 c	0 c
RPMI	0 b	0 d	0 b	0 f	0 d	0 d	0 e	0 c	0 c

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Newman-Keuls ($p \leq 0,05$). Alb – Albendazol a 0,5%; CAO – Casca do cajueiro (*Anacardium occidentale*); CSA- casca do barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*); CUT- Casca de Unha de gato (*Uncaria tomentosa*); FAO – Folha do cajueiro (*Anacardium occidentale*); FEU – Folha da pitangueira (*Eugenia uniflora*); FPG- Folhas da goiabeira (*Psidium guajava* L.); GG- *Guapira graciliflora*; GN- *Guapira noxia*; GO- *Guapira opposita*; MSC- Melão de São Caetano (*Momordica charantia* L.); RHP - Raiz de Garra do diabo (*Harpagophytum procumbens*).

Quando comparado os extratos em relação ao tempo e a concentração observou-se que na avaliação de 3 horas os extratos CAO e FEU obtiveram melhor atividade com 0,1% de concentração, os extratos CSA e FEU com 0,25% e o FAO com 0,5% de concentração. Na avaliação de 12 horas foi possível observar que os extratos FPG e MSC tiveram os melhores resultados para a concentração 0,1%, FPG, MSC e RHP foram melhores na concentração 0,25% e CSA, FPG, GG, MSC e RHP para a concentração 0,5%, sendo também o resultado estatisticamente compatível com o albendazol que foi utilizado com controle positivo. Na avaliação de 15 horas somente o extrato GN obteve resultado comparável com o do albendazol com concentração 0,1%. Para a concentração 0,25% os extratos com melhores

resultados foram GN e GO. Já na concentração 0,5% somente o extrato GO obteve o melhor resultado.

Tabela 5 - Teste de Newman-Keuls para o desdobramento de concentração dentro do extratos e tempo

Extratos	Concentração	3h	12h	15h
Alb	0,10%	0 ^{ns}	0 b	5 a
	0,25%	0 ^{ns}	0 b	0 b
	0,50%	0 ^{ns}	5 a	0 b
CAO	0,10%	3,7 a	0,3 ^{ns}	1 ^{ns}
	0,25%	4 a	1 ^{ns}	0 ^{ns}
	0,50%	0 b	0 ^{ns}	0 ^{ns}
CSA	0,10%	0 b	3,7 b	1,3 a
	0,25%	5 a	0 c	0 b
	0,50%	0 b	5 a	0 b
CUT	0,10%	0 ^{ns}	0 ^{ns}	0 ^{ns}
	0,25%	0 ^{ns}	0 ^{ns}	0 ^{ns}
	0,50%	0 ^{ns}	0 ^{ns}	0 ^{ns}
FAO	0,10%	0 c	2,7 a	2,3 a
	0,25%	3,7 b	1 b	0,3 b
	0,50%	5 a	0 c	0 b
FEU	0,10%	4 a	0 ^{ns}	1 ^{ns}
	0,25%	4,7 a	0,3 ^{ns}	0 ^{ns}
	0,50%	0 b	0 ^{ns}	0 ^{ns}
FPG	0,10%	0 ^{ns}	4,7 ^{ns}	0,3 ^{ns}
	0,25%	0 ^{ns}	5 ^{ns}	0 ^{ns}
	0,50%	0 ^{ns}	5 ^{ns}	0 ^{ns}
GG	0,10%	0 ^{ns}	1,3 c	3,6 a
	0,25%	0 ^{ns}	3,3 b	1,6 b
	0,50%	0 ^{ns}	5 a	0 c
GN	0,10%	0 ^{ns}	0,7 c	4,3 a
	0,25%	0 ^{ns}	1,7 b	3,3 b
	0,50%	0 ^{ns}	3,7 a	1,3 c
GO	0,10%	0 ^{ns}	1,3 ^{ns}	3,7 ^{ns}
	0,25%	0 ^{ns}	1,3 ^{ns}	3,7 ^{ns}
	0,50%	0 ^{ns}	2,3 ^{ns}	2,7 ^{ns}
MSC	0,10%	0 ^{ns}	5 ^{ns}	0 ^{ns}
	0,25%	0 ^{ns}	5 ^{ns}	0 ^{ns}
	0,50%	0 ^{ns}	5 ^{ns}	0 ^{ns}
RHP	0,10%	0 ^{ns}	4 b	1 ^{ns}
	0,25%	0 ^{ns}	4,7 ab	0,3 ^{ns}
	0,50%	0 ^{ns}	5 a	0 ^{ns}
RPMI	0,10%	0 ^{ns}	0 ^{ns}	0 ^{ns}
	0,25%	0 ^{ns}	0 ^{ns}	0 ^{ns}
	0,50%	0 ^{ns}	0 ^{ns}	0 ^{ns}

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Newman-Keuls ($p \leq 0,05$) e por^{ns} não houve significância. Alb – Albendazol a 0,5%; CAO – Casca do cajueiro (*Anacardium occidentale*); CSA- casca do barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*); CUT- Casca de Unha de gato (*Uncaria tomentosa*); FAO – Folha do cajueiro (*Anacardium occidentale*); FEU – Folha da pitangueira (*Eugenia uniflora*); FPG- Folhas da goiabeira (*Psidium guajava* L.); GG- *Guapira graciliflora*; GN- *Guapira noxia*; GO- *Guapira opposita*; MSC- Melão de São Caetano (*Momordica charantia* L.); RHP - Raiz de Garra do diabo (*Harpagophytum procumbens*).

Analisando o extrato como fator os melhores resultados foram obtidos para CSA, FPG, GG, MSC e RHP, todos com atividade semelhante à do albendazol com 12 horas de avaliação e na concentração 0,5% (Tabela 4).

Analisando a concentração em relação ao extrato e tempo de avaliação foi possível observar que os extratos CAO e FEU apresentaram melhor resultado com 3 horas à 0,1 %. Para a concentração 0,25% ainda com 3 horas de análise foi observado valor significativo para os extratos CAO, CSA E FEU. Nenhum extrato obteve resultado significativo a 0,5% em 3 horas de avaliação. Com 12 horas de análise na concentração 0,1% somente o extrato FAO obteve resultado significativo. Na concentração 0,25% somente RHP obteve bom resultado e a 0,5% os extratos CSA, GG, GN e RHP obtiveram melhores resultados, sendo comparáveis aos resultados do albendazol, o que pode explicar uma possível atividade fasciolicida. Nas avaliações de 15 horas os melhores resultados de atividade foram com a concentração 0,1% nos extratos CSA, FAO, GG e GN onde foram confirmados por um resultado significativo com a atividade do albendazol (Tabela 5). Em relação a concentração quando fator avaliado o melhor resultado foi a 0,1% com 15 horas de avaliação nos extratos CSA, FAO, GG e GN.

Analisando o tempo em relação aos extratos e concentração foi verificado que a 0,1% os melhores resultados foram os extratos CAO e FEU com 3 horas de avaliação. Com 12 horas foram os extratos com resultados significativos o FAO, FPG e MSC. Nas avaliações com 15 horas os extratos com melhores resultados foram CSA, FAO, GG, GN, GO e RHP, sendo o resultado compatível com o do albendazol. Na concentração a 0,25% os melhores resultados foram com 3 horas (extratos CAO, CSA, FAO e FEU) e 12 horas de avaliação (extratos FPG, GG, MSC e RHP). Somente os extratos GN e GO apresentaram bons resultados com 15 horas. Na concentração a 0,5% somente o extrato FAO obteve resultado significativo com 3 horas. Os resultados com melhor avaliação foram com 12 horas para os extratos CSA, FPG, GG, GN, GO, MSC e RHP, que foram compatíveis com o resultado do albendazol. Na avaliação de 15 horas somente o extrato GO obteve bons resultados (Tabela 6). No geral os melhores resultados da atividade foram com 12 horas de análise na concentração a 0,5% com os extratos CSA, FPG, GG, GN, GO, MSC e RHP quando o fator principal é o tempo.

Tabela 6 - Teste de Newman-Keuls para o desdobramento de tempo dentro do extratos e concentração

Extratos	Concentração	0,10%	0,25%	0,50%
Alb	3h	0 b	0 ^{ns}	0 b
	12h	0 b	0 ^{ns}	5 a
	15h	5 a	0 ^{ns}	0 b
CAO	3h	3,7 a	4 a	0 ^{ns}
	12h	0,3 b	1 b	0 ^{ns}
	15h	1 b	0 c	0 ^{ns}
CSA	3h	0 c	5 a	0 b
	12h	1,3 b	0 b	5 a
	15h	3,7 a	0 b	0 b
CUT	3h	0 ^{ns}	0 ^{ns}	0 ^{ns}
	12h	0 ^{ns}	0 ^{ns}	0 ^{ns}
	15h	0 ^{ns}	0 ^{ns}	0 ^{ns}
FAO	3h	0 b	3,7 a	5 a
	12h	2,7 a	1 b	0 b
	15h	2,3 a	0,3 b	0 b
FEU	3h	4 a	4,7 a	0 ^{ns}
	12h	0 c	0,3 b	0 ^{ns}
	15h	1 b	0 b	0 ^{ns}
FPG	3h	0 b	0 b	0 b
	12h	4,7 a	5 a	5 a
	15h	0,3 b	0 b	0 b
GG	3h	0 c	0 c	0 b
	12h	1,3 b	3,3 a	5 a
	15h	3,7 a	1,7 b	0 b
GN	3h	0 b	0,0 c	0 c
	12h	0,7 b	1,7 b	3,7 a
	15h	4,3 a	3,3 a	1,3 b
GO	3h	0 c	0 c	0 b
	12h	1,3 b	1,3 b	2,3 a
	15h	3,7 a	3,7 a	2,7 a
MSC	3h	0 b	0 b	0 b
	12h	5 a	5 a	5 a
	15h	0 b	0 b	0 b
RHP	3h	0 c	0 b	0 b
	12h	1 b	4,7 a	5 a
	15h	4 a	0,3 b	0 b
RPMI	3h	0 ^{ns}	0 ^{ns}	0 ^{ns}
	12h	0 ^{ns}	0 ^{ns}	0 ^{ns}
	15h	0 ^{ns}	0 ^{ns}	0 ^{ns}

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Newman-Keuls ($p \leq 0,05$) e por^{ns} não houve significância. Alb – Albendazol a 0,5%; CAO – Casca do cajueiro (*Anacardium occidentale*); CSA- casca do barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*); CUT- Casca de Unha de gato (*Uncaria tomentosa*); FAO – Folha do cajueiro (*Anacardium occidentale*); FEU – Folha da pitangueira (*Eugenia uniflora*); FPG- Folhas da goiabeira (*Psidium guajava* L.); GG- *Guapira graciliflora*; GN- *Guapira noxia*; GO- *Guapira opposita*; MSC- Melão de São Caetano (*Momordica charantia* L.); RHP - Raiz de Garra do diabo (*Harpagophytum procumbens*).

Como resultado final das análises, observou-se que o melhor horário de atividade dos extratos foi com 12 horas de avaliação dos extratos CSA, FPG, GG, GN, MSC E RHP na concentração 0,5% que matou todos os exemplares da triplicata. Na maioria dos extratos foram utilizados partes das folhas o que sugere que a atividade possa estar relacionada a metabólitos produzidos nessa parte da planta. Baseado na avaliação fitoquímica é provável que a atividade fasciolicida desses extratos possa ser oriundo de atividade de terpenos esteroidais, taninos ou compostos fenólicos.

4.4 Avaliação histológica

Foram avaliadas lâminas com os extratos CSA, FAO, FEU, FSA, MSC E RHP nas concentrações 0,1%, 0,25% e 0,5% e como controle negativo foram analisadas lâminas com amostras tratadas com RPMI. Somente as lâminas dos extratos MSC, RHP e CSA, todos na concentração 0,5%, apresentaram alterações histológicas no tegumento do parasito como ausência dos espinhos da membrana externa e com deposição de um material sólido e insolúvel em grande extensão desta área quando comparadas as lâminas do RPMI que manteve a estrutura do tegumento intacta (Figura 5). O extrato FAO a 0,5% apresentou o mesmo tipo de deposição, mas em alguns poucos pontos da membrana ainda foi possível identificar os espinhos. Nas lâminas do FEU e FSA não foram encontradas alterações (sem registro de fotos).

O medicamento de escolha para o tratamento da fasciolose é o triclabendazol e os principais metabólitos são o triclabendazol-sulfóxido e a otriclabendazol-sulfona. O efeito anti-parasitário do triclabendazol parece ser devido ao seu metabólito sulfóxido, que inibe a síntese da ultraestrutura dos tegumentos da *Fasciola hepatica* (LOPEZ-VELEZ et.al., 1999). Essa ação pode explicar os achados histológicos das amostras tratadas com MSC, RHP, FAO e CSA na concentração 0,5% onde a ausência dos espinhos foi observada levando a acreditar que esses extratos possuam atividade semelhante à do triclabendazol. Como os espinhos são responsáveis pela fixação do parasito ao tecido do hospedeiro (BOWMAN, 2003), a perda deste poderia evitar a formação da fibrose tão comumente encontrada nas necropsias de animais parasitados por *Fasciola hepatica*.

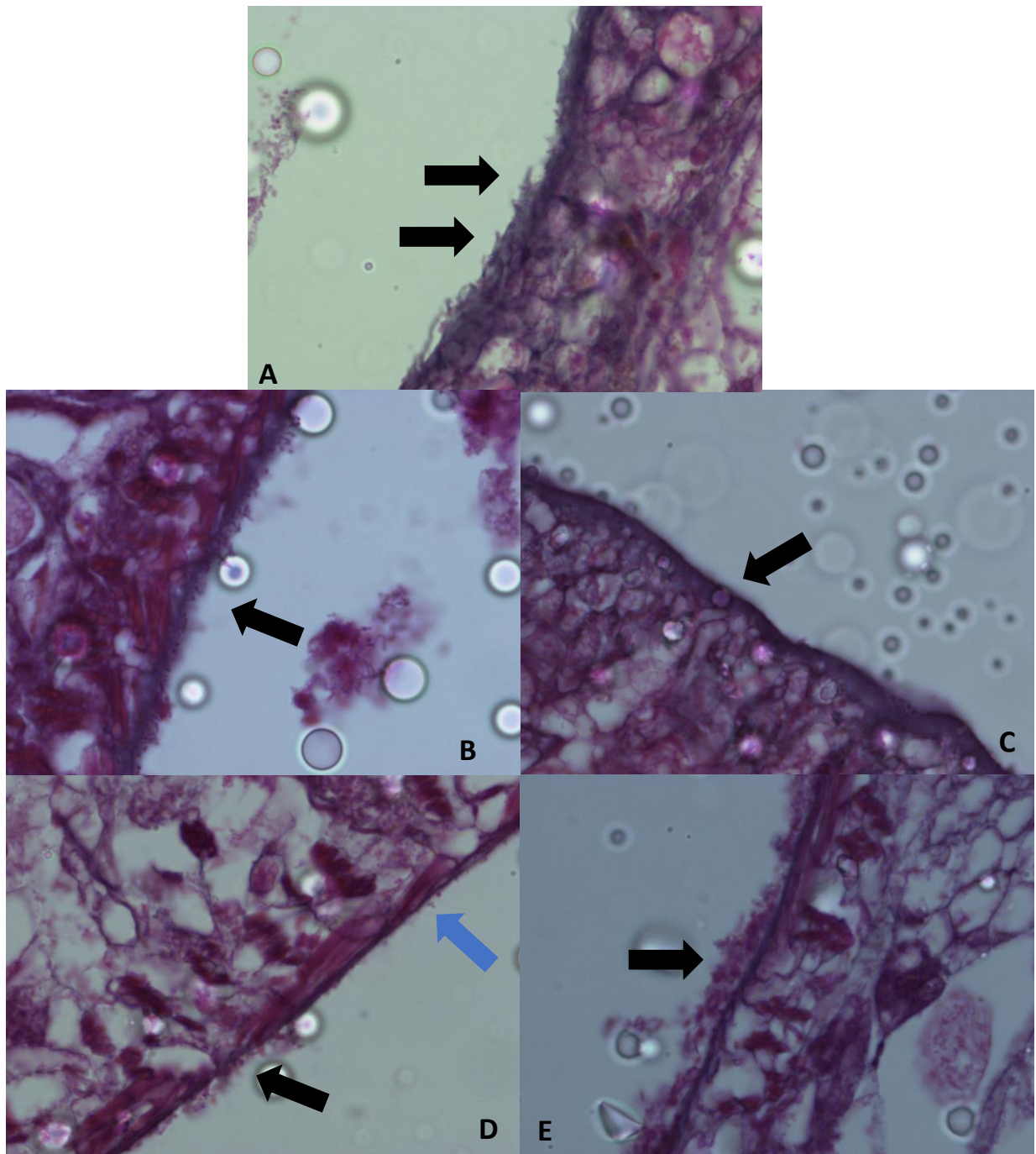


Figura 5 – Alterações histológicas na membrana externa do tegumento dos parasitos tratados com os extratos e com o meio RPMI (A – RPMI – em destaque os espinhos da membrana externa do tegumento, estrutura intacta; B – RHP 0,5% - deposição de material sólido e ausência de espinhos; C – MSC 0,5% - ausência de espinhos; D – FAO 0,5% - destaque para a deposição pouco material sólido e na seta azul a presença de espinho; E – CSA 0,5% - deposição de material sólido).

Fonte: Arquivo Pessoal

De acordo com a descrição de Gomes et. al. (2010), o extrato de *Momordica charantia* possui uma aderência às larvas dos parasitos, impedindo a motilidade e a alimentação, resultando na morte do parasito, o que pode ocorrer principalmente pela grande quantidade de taninos presentes no extrato. Como o extrato de CSA

(casca de barbatimão) possui tanino, poderia ser essa a explicação para a ausência dos espinhos na histologia analisada. Os extratos de RHP (raízes de Garra do diabo) e MSC (folha do melão de São Caetano) não possuem taninos, mas também apresentaram ausência dos espinhos, podendo ser essa atividade causada pela presença de terpenos existentes nos mesmos. O extrato FAO (folhas do Cajueiro) possui taninos, mas não apresentou atividade com alta eficácia já que alguns espinhos ainda podem ser identificados na membrana externa do tegumento.

5. CONCLUSÃO

Conclui-se que os extratos com melhor atividade para o controle da *Fasciola hepatica* são das cascas do Barbatimão, das folhas da Goiaba, das folhas do João mole, das folhas da Guapira do cerrado, das folhas do Melão de São Caetano e das raízes da Garra do diabo na concentração 0,5% a partir de 12h da aplicação dos mesmos. Destes, somente a casca do barbatimão, folhas do Melão de São Caetano e raízes da Garra do diabo apresentaram alterações importantes na avaliação histológica com a ausência dos espinhos da membrana externa do tegumento do parasito. A provável atividade pode ser de origem de metabólitos como terpenos e taninos presentes em todos esses extratos.

6. REFERÊNCIAS

ABDELRAHIM, S.I.; ALMAGBOUL, A.Z.; OMER, M.; ELEGAMI, A. Antimicrobial activity of *Psidium guajava* L. **Fitoterapia**, n.73, p. 713-715, 2002.

ADEWUMNI, C.O.; AGBEDAHUNSI, J.M.; ADEBAJO, A.C.; ALADESANMI, A.J.; MURPHY, N.; WANDO, J. Ethno-veterinary medicine: screening of Nigerian medicinal plants for trypanocidal properties. **Journal Ethnopharmacologic**, n.77, p. 19-24, 2001.

AGOSTINI-COSTA, T. S.; LIMA, M. V.; LIMA, A.; AGUIAR, M. J.; LIMA J. B.; PAIVA J. Tanino em pedúnculos de caju: efeito de algumas variações genéticas e climáticas. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos (B. CEPPA)**, v. 20, n. 2, p. 226- 278, 2002.

ALEIXO, M.A.; FREITAS, D. F.; DUTRA, L.; MALONE, J; MARTINS, I. V. F.; MOLENTO, MB. *Fasciola hepatica*: epidemiology, perspectives in the diagnostic and the use of geoprocessing systems for prevalence studies. **Seminário Ciências Agrárias (Online)**, v. 36, p. 1451, 2015.

ALI, H. et al. Genetic characterization of *Fasciola* samples from different host and geographical localities revealed the existence o *F. hepatica* and *F. gigantica* in Niger. **Parasitology Research**. v. 102, p. 1021-1024, 2008.

ALMEIDA, D. J.; FARIA, M. V.; SILVA, P. R. Biologia experimental em Pitangueira: uma revisão de cinco décadas de publicações científicas. **Ambiência**. v.8, n.1, p. 177 – 193, 2012

ALVES, D. P.; CARNEIRO, M. B.; MARTINS, I. V. F.; BERNARDO, C. C.; DONATELE D. M.; PEREIRA JÚNIOR, O. S.; ALMEIDA, B. R.; AVELAR, B. R.; LEÃO, A. G. C. Distribution and factors associated with *Fasciola hepatica* infection in cattle in the south of Espírito Santo State, Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 17, n. 3, p. 271-276, 2011.

AMARAL, F.M.M.; RIBEIRO, M.N.S.; BARBOSA-FILHO, J.M.; REIS, A.S.; NASCIMENTO, F.R.F.; MACEDO, R.O. Plants and chemical constituents with giardicidal activity. **Revista Brasileira Farmacognosia**. v. 16 (Supl.): p.696-720, 2006.

ANAUATE, M.C.C. Efeito dos extratos de *Harpagophytum procumbens* (garra do diabo) e suas frações na atividade da COX-1 e COX-2 e na produção de NO em sangue total. **Tese de pós-graduação**. Universidade de São Paulo, 2007. Orientadora: Suzana Beatriz Veríssimo de Mello.

ANJARIA, J. Ethnoveterinary Pharmacology in India: Past, Present and Future. In: McCORKLE, C. M.; MATHIAS, E.; VAN VEEN, T. W. **Ethnoveterinary Research & Development**. London: Intermediate Technology Publications, 1996. p. 137-147.

ARAÚJO, S.M. et al. Alterações histológicas em *Lymnae columela* provocadas pelo látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*. **Brasilian Journal Veterinary Research and Animal Science**. v.39, n.3, p.157-159, 2002.

ARAÚJO-LIMA, R.C.A. Difusão do uso de plantas medicinais com ação antiparasitária: uma alternativa para o controle da verminose de caprinos e ovinos na região semi-árida da Paraíba. In: 1 Encontro Nacional Institucional de Extensão Universitária, 2 Feira Universidade e Sociedade, 2002, João Pessoa. **Resumos... COPREX/UFPB**, v.I, p. 378, 2002.

BANHA, P.M.B. Contribuição para Conhecimento do Parasitismo por *Fasciola hepatica* no Baixo Alentejo. **Relatório de estágio do mestrado integrado em Medicina Veterinária**. Universidade de Évora, 2016. Orientador: Helder Cortes. Co-orientador: José Mira.

BERNARDO, C. C.; CARNEIRO, M. B.; AVELAR, B. R.; DONATELE, D. M.; MARTINS, I. V. F.; PEREIRA, M. J. S. Prevalence of liver condemnation due to bovine fasciolosis in Southern Espírito Santo: temporal distribution and economic losses. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 1, p. 49-53, 2011.

BERNARDO C.C., AVELAR B.R., IGNACCHITI M.D.C., MARTINS I.V.F.; PEREIRA M.J.S. Commercial ELISA® kit for detection of coproantigen and coproparasitological method in bovine livers with fascioliasis convicted. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.11. 2012.

BLOOD, D.C; HENDERSON, J.A; RADOSTITS, O.M. **Clínica Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., p. 743-748, 1983.

BOSTELMANN, S.C.W.; LUZ, E.; THOMAZ SOCCOL, V.; CIRIO, S.M. Histopatologia comparativa em fígados bovinos, bubalinos e ovinos infectados por *Fasciola hepatica*. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.5, p. 95-100, 2000.

BOWMAN, D. D. **Georgie's Parasitology for Veterinarians**. 8th edition. USA: Elsevier, 2003.

BOWMAN, D. D. **Georgi's – Parasitologia Veterinária**. 9ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 488p., 2010.

BRASIL. **Monografia da espécie *Harpagophytum procumbens* DC. ex Meissn. ("GARRA-DO-DIABO")**. Organização: Ministério da Saúde e Anvisa. Brasília, p. 142, 2015.

CARNEIRO, M. B.; BERNARDO, C. C.; CALAIS JÚNIOR, A.; ALVES, D. P.; PEREIRA JUNIOR, O. S.; MARTINS, I. V. F. *Fasciola hepatica* em Búfalos (*Bubalus bubalis*) no sul do Espírito Santo. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 32, n. 2, p. 89-91, 2010.

CARNEIRO, M. B.; ALVES, D. P.; DONATELE, D.D.; PEREIRA JUNIOR, O. S.; MARTINS, I. V. F. *Fasciola hepatica* em caprinos, ovinos e bubalinos em municípios do sul do Espírito Santo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.80, n.4, p. 442-446, 2013.

CASTRO, D. M.; MARTINS, E.R.; CASTELLANI, D.C. **Plantas medicinais**. 1º cd-rom. Viçosa, UFV, 1993.

CHANTRE, P.; CAPPELAERE, A.; LEBLAN, D.; GUEDON, D., VANDERMANDER, J., FOURNIE, B. Efficacy and tolerance of *Harpagophytum procumbens* versus diacerhein in treatment of osteoarthritis. **Phytomedicine**, v. 7(3): p.177-83, 2000.

COELHO, F. B. R.; DAL BELO, C. A.; LOLIS, S. F.; SANTOS, M. G. Levantamento etnofarmacológico realizado na comunidade Mumbuca localizada no Jalapão – TO. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n. 2, p. 52-55, 2005.

CONCEIÇÃO, M. Fasciolose Bovina: Aspectos de diagnóstico e modelos de avaliação de risco - novas abordagens. **Lisboa**: FMV-UTL, 2001.

COUTINHO, H.D.M.; COSTA, J.G.M.; FALCÃO-SILVA, V.S.; SIQUEIRA-JR, J.P.; LIMA, E.O. Potentiation of antibiotic activity by *Eugenia uniflora* and *Eugenia jambolanum*. **Journal of Medicinal Food**. v.13(4):1024-6, 2010a.

COUTINHO, H.D.M.; COSTA, J.G.M.; SIQUEIRA-JR, J.P.; LIMA, E.O. *In vitro* screening by phototoxic properties of *Eugenia uniflora* L., *Momordica charantia* L., *Mentha arvensis* L. and *Turnera ulmifolia* L. **Revista Brasileira de Biociência**. v. 8(3):299-301, 2010b.

DIAS, L.C.; DESSOY, M.A. Chemotherapy of Chagas' Disease: State of the art and perspectives for the development of new drugs. **Quimica Nova**. v. 32(9):2444-2457, 2009.

DREIFUSS, A.A.; BASTOS-PEREIRA, A.L.; AVILA, T.V.; SOLEY, B.S.; RIVERO, A.J.; AGUILAR, J.L.; ACCO, A. Antitumoral and antioxidant effects of a hydroalcoholic extract of cat's claw (*Uncaria tomentosa*) (Willd. Ex Roem. & Schult) in an in vivo carcinosarcoma model. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 130: 127–33, 2010.

ECHEVARRIA, F.A.M. Fasciolose. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, suplemento 1, 2004.

FAIRWEATHER, I.; BORAY, J.C. Fasciolicides: Efficacy, actions, resistance and its management. **The Veterinary Journal**, 158,81-112, 1999.

FAIRWEATHER, I.; THREADGOSLD, L. T.; HANNA, R. E. B. Development of *Fasciola hepatica* in the mammalian host. In: DALTON, J. P. **Fasciolosis**, Ontario: CABII Publishing. cap.3. p. 47-111, 1999.

FAIRWEATHER, I. Triclabendazole: new skills to unravel an old(ish) enigma. **Journal of Helminthology**, v. 79, p. 227-234, 2005.

FAIRWEATHER, I. Reducing the future threat from (liver) fluke: realistic prospect or quixotic fantasy. **Veterinary Parasitology**. v. 180, p. 133-143, 2011.

FARIA, R.N.; CURY M.C.; LIMA W.S. Concordância entre duas técnicas coproparasitológicas para diagnóstico de *Fasciola hepatica* em bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.**, v.60, n.4, p.1023-1025, 2008.

FERREIRA, E. C.; SILVA, J. L. L.; SOUZA, R. F. **As propriedades medicinais e bioquímicas da planta *stryphnodendron adstringens* “barbatimão”**. Perspectivas online: Biologia e saúde, Campos dos Goytacazes, v. 11 (3), 14-32, 2013

FLANAGAN, A.; EDGAR, H.W.; HANNA, R.E.; BRENNAN, G.P.; FAIRWEATHER, I. Comparison of two assays, a faecal egg count reduction test (FECRT) and coproantigen reduction test (CRT), for the diagnosis of resistance to triclabendazole in *Fasciola hepatica* in sheep. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.176, n.2-3, p.170-176, 2011.

FOREYT, W.J. **Parasitologia Veterinária: manual de referência**. 5.ed. São Paulo: Roca, 2005.

FRAGA, J.C.L. Incidência de fasciolose hepática em bovinos abatidos no sul do estado do Espírito Santo. Curso de pós-graduação – **Instituto Qualittas**, 2008.

FREITAS, D. F.; MARTINS, I. F. V.; TULER, V.; SANTOS, G. M. A.; SANTOS, A. R. Vulnerabilidade para a ocorrência de fasciolose na área experimental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, IFES, Alegre, ES. **Arquivos do Instituto Biológico (Online)**, v. 79, p. 533-540, 2012.

GATTUSO, M.; DI SAPIO, O.; GATTUSO, S.; PEREYRA, E.L. Morphoanatomical studies of *Uncaria tomentosa* and *Uncaria guianensis* bark and leaves. **Phytomedicine**. v. 11(2-3), p. 213-23, 2004.

GLASENAPP, J. S. Variação aloenzimática e estrutura genética populacional de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae). **Tese pós-graduação em genética e melhoramento**. Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2011. Orientador: Vicente Wagner Dias Casali. Coorientadores: Cosme Damião Crus e Ernane Ronie Martins.

GOMES, R. V. R. S.; ARAÚJO, M. M.; GOMES, E. N.; VILELA, V. L. R.; ATHAYDE, A. C. R. Ação antiparasitária *in vitro* dos extratos etanólicos de *Operculina hamiltonii* (batata de purga) e *Momordica charantia* (melão de são caetano) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos do semi-árido paraibano. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.4, n.2, p. 92-99, 2010.

HAIDA, K.S.; BARON, A.; HAIDA, K.S.; FACI, D.; HAAS, J.; SILVA, F.J. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de duas variedades de goiaba e arruda. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, ano 9, nº 28, 2011.

HANNA, R.E., MCMAHON, C., ELLISON, S., EDGAR, H.W., KAJUGU, P.E., GORDON, A., IRWIN, D., BARLEY, J.P., MALONE, F.E., BRENNAN, G.P., FAIRWEATHER, I. *Fasciola hepatica*: a comparative survey of adult fluke resistance to triclabendazole, nitroxynil and closantel on selected upland and lowland sheep farms in Northern Ireland using faecal egg counting, coproantigen ELISA testing and fluke histology. **Veterinary Parasitology**, p. 207, 2015.

HINO, P.; VILLA, T.C.; SASSAKI, C.M.; NOGUEIRA, J.A.; SANTOS, C.B. Geoprocessamento aplicado à área da saúde. **Revista Latino Americana de Enfermagem**, v.14, n.6, p.123-127, 2006.

HOLTEZ FB, PESSINI GL, SANCHES NR, CORTEZ DAG, NAKAMURA CV, DIAS FILHO BP. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memorial Oswaldo Cruz**, v. 97, p.1027-1031, 2002.

HONER, M. R. Aspectos da epidemiologia das fasciolose. In: SEMINÁRIO NACIONAL SOBRE PARASITOSSES DE BOVINOS, 1., 1979, Campo Grande. **Anais**. Brasilia: EMBRAPA/CNPGC, p. 151-165, 1979.

JURGENSEN, S.; DALBO, S.; ANGERS, P.; SANTOS, A.R.; RIBEIRO DO-VALLE, R.M. Involvement of 5-HT₂ receptors in the antinociceptive effect of *Uncaria tomentosa*. **Pharmacology Biochemical Behavior**. v. 81(3):466-77, 2005.

KLOUCEK, P.; POLESNY, Z.; SVOBODOVA, B.; VLKOVA, E.; KOKOSKA, L. Antivacterial screening of some Peruvian medicinal plants used in Callería District. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 99(2):309-12, 2005.

LECLIPTEUX, Th. et al. Use of excretory/secretory antigens in a competition test to follow the kinetics of infection by *Fasciola hepatica* in cattle. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.77, n. 2-3, p.103-114, 1998.

LEUCKART, R. Zur Entwick lungsgeschichte desleberegels (*Distomum hepaticum*). **Archive Natural**, v. 48, p. 80-119, 1882.

LOPEZ-VELEZ, R.; DOMINGUEZ-CASTELLANO, A.; GARRÓN, C. Successful treatment of human fascioliasis with triclabendazole. **European Journal of Clinical Microbiology Infection Diseases**. v. 18 (7), p. 525-526, 1999

LIMA, W. S.; SOARES, L. R. M.; BARÇANTE, T. A.; GUIMARÃES, M. P.; BARÇANTE, J. M.P. Occurrence of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) infection in Brazilian cattle of Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária (Online)**, Jaboticabal. v. 18, n. 2, p. 27-30, 2009.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas.** Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002. 527 p.

LUZ, E.; QUEIROZ, V. S.; LEITE, L. C. Perfil Epidemiológico da *Fasciola hepatica* numa propriedade na cidade de Bocaiúva do Sul. **Archives of Veterinary Science**, v.1, n. 1, p.54, 1996.

MALONE, J.B.; GOMMES, R.; HANSEN, J.; YILMA, J.M.; SLINGENBERG, J.; SNIJDERS, F.; NACHTERGAELE, F.; ATAMAN, E. A geographic information system on the potential distribution and abundance of *Fasciola hepatica* and *F. gigantica* in east Africa based on Food and Agriculture Organization databases. **Veterinary Parasitology**. v. 78, p. 87-101, 1998.

MARCOS, L.; MACO, V.; TERASHIMA, A.; SAMALVIDES, F.; ESPINOZA, J.R.; GOTUZZO, E. Fasciolosis in relatives of patients with *Fasciola hepatica* infection in Peru. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 4, p. 219-222, 2005.

MARQUES, S.M.T.; SCROFERNEKER, M.L. *Fasciola hepatica* infection in cattle and buffaloes in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Parasitologia Latinoamericana**. v. 58, p. 169-172, 2003.

MARTIN, R. J.; ROBERTSON, A. P.; BJORN, H. Target sites of anthelmintics. **Parasitology**, v. 114, n.5, p. 111-124. 1997.

MARTINO, L.; MARTINO, J.L.; FRANCESCHELLI, S.; LEONE, A.; PIZZA, C.; DE FEO, V. Proapoptotic effect of *Uncaria tomentosa* extracts. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 107(1), p. 91-4, 2006.

MARTINS, I. V. F. **Novas tecnologias em Ciências Agrárias.** Editores Waldir Cintra de Jesus et al. Alegre, ES, p. 245-251, 2007.

MARTINS, I. V., BERNARDO, C. C., DE AVELAR, B. R., DE ARAÚJO, I. B., DONATELE, D. M., NUNES, L. C. Sensibilidade e reprodutibilidade da técnica de

sedimentação. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 17 (Supl 1), p. 110-112, 2008

MARTINS, I. V. F.; AVELAR, B. R.; PEREIRA, M. J. S.; FONSECA, A. H. Application of a geographical information system approach for risk analysis of fascioliasis in southern Espírito Santo state, Brazil. **Geospatial Health**, v. 6, n. 3, p. 87-93, 2012.

MARTINS, I. V. F.; AVELAR, B. R.; BERNARDO, C. C.; LEÃO, A. C.; PEREIRA, M. J. S. Distribution of bovine fasciolosis and associated factors in south Espírito Santo, Brazil: an update **Brazilian Journal Veterinary Parasitology**. Jaboticabal, v. 23, n. 1, p. 23-29, 2014.

MAS-COMA S.; FUNATSU, I. R.; BARGUES, M. D. *Fasciola hepatica* and lymnaeid snails occurring at very high altitude in South America. **Parasitology**. v.123, p.115–127, 2001.

MAS-COMA S. Epidemiology of fascioliasis in human endemic areas. **Journal Helminthology**. v.79, p.207–216. 2005.

MATTOS, M.J.T.; UENO, H.; GONÇALVES, P.C.; ALMEIDA, J.E.M. Ocorrência estacional e bioecologia de *Lymnaea columella* Say, 1817 em habitat natural no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. v.19, p. 248-252, 1997.

MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**. 3. Ed. Fortaleza: Edições UFC, p. 148, 2009.

MAURE, E. A. P; BUSTAMANTE, M; SERRA-FREIRE, N. M; GOMES, D. C. Dinâmica de *Lymnaea columella* (Say, 1817), hospedeiro intermediário de *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) em municípios do Estado de São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v. 35, n. 4, p. 151-155, 1998.

MCKELLAR, Q.; SCOTT, E. The benzimidazole anthelmintic agents—a review. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.13, n.3, p.223–247, 1990.

MEDEIROS, C.; SCHOLTE, R. G. C.; D'ÁVILA, S.; CALDEIRA, R. L.; CARVALHO, O. S. Spatial distribution of Lymnaeidae (mollusca, basommatophora), intermediate host of *Fasciola hepatica* linnaeus, 1758 (trematoda, digenea) in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. São Paulo, v. 56, n. 3, p. 235-252, 2014.

MELO, J.A. Valorização da flora do cerrado com importância medicinal. Universidade de Brasília. **Trabalho de Conclusão de Curso**, Luziânia: p.11-19, 11 dez. 2011.

MERCADO, J. M. A.; VELARDE, F. I.; DÍAZ, M. A. A.; MONETENEGRO, Y. V.; ACEVEDO, J. G. A.; BORES, A. M. G. In vitro antihelmintic effect of fifteen tropical plant extracts on excysted flukes of *Fasciola hepatica*. **BMC veterinary research**. v. 11, 2015.

MESQUITA, J. M.; MULFORD, S.; BERNIS, W. O. O uso de fitoterápicos na medicina veterinária. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 15., 1998. Águas de Lindóia. **Resumos...** Águas de Lindóia, 1998. p.128

MOLLOY, J.B.; ANDERSON, G.R.; FLETCHER, T.I.; LANDMANN, J.; KNIGHT, B.C. Evaluation of a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay for detecting antibodies to *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* in cattle, sheep and buffaloes in Australia. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.130, p. 207-212, 2005.

MONTEIRO J.M.; DE ALBUQUERQUE, U.P.; ARAÚJO, E.L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

MONTENEGRO, Y. V.; VELARDE, F. I.; AVILA, G. R.; XOCHIHUA, J. M. In Vitro Fasciolicide Activity of Some Plant Extracts against Newly Excysted Flukes. **Annals of the New York Academy of Sciences**. v. 1149. p. 180-182, 2008.

MORENO, P. R. H.; AGRIPINO, B. D. G.; LIMA, M. E. L.; SILVA, M. R.; MEDA, C. I.; BOLZANI, V. S.; CORDEIRO, I.; YOUNG, M. C. M. Screening of Brazilian plants for antimicrobial and DNA- damaging activities. I. Atlantic rain forest - ecological station Juréia-Itatins. **Biota Neotrópica**, v. 4, p. 1-15, 2004.

MOTA, R.A.; MEDEIROS, E.S.; SANTOS, M.V.; PINHEIRO-JUNIOR, J.W.; MOURA, A.P.B.L.; COUTINHO, L.C.A. Participação dos *Staphylococcus* spp na etiologia das mastites e bovinos leiteiros no estado de Pernambuco (Brasil). **Revista Ciência Animal Brasileira**, v.13, n.1, p. 124-130, 2012

MÜLLER, G.; BERNE, M.E.A.; RAFFI, L.L. Influência da temperatura na longevidade de metacercárias de *Fasciola hepatica*. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 5, n. 2, p. 164-165, 1999.

MUNGUÍA-XÓCHIHUA, J.A.; IBARRA-VELARDE, F.; DUCOING-WATTY, A.; MONTENEGRO-CRISTIANO, N.; QUIROZ-ROMERO, H. Prevalence of *Fasciola hepatica* (ELISA and fecal analysis) in ruminantes from semi-desert area in the northwest of Mexico. **Parasitology Research**. v. 101, p. 127-130, 2007.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. **Fundamentos de Farmacobotânica**. 2. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2000.

OLIVEIRA, R. G. Avaliação “in vivo” da ação anti-helmíntica de plantas consideradas medicinais como recurso potencial no controle de endoparasitos gastrintestinais de ovinos. 153f. Dissertação de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

OLIVEIRA, S. M., FILHA, E. S. Divulgação Técnica: Fasciolose hepatica. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v, 71, n. 1, p. 5-7, 2009.

OLIVEIRA, A.; NASCIMENTO, A.; SANTOS, T. A. M.; CARMO, G. M. I; DIMECH, C. P.; ALVES, R. S.; MALASPINA, F.; GARCIA, M.; SANTOS, D. A.; AGUIAR, G. P.; ALBUQUERQUE, B. C.; CARMO E. Estudo da prevalência e fatores associados à

fasciolose no município de Canutama, Estado do Amazonas, Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**. v. 16, n. 4, p. 251-259, 2007.

Organización Mundial de la Salud (OMS) (2002) **Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional**. Genebra: OMS. 2002-2005.

PAIVA, L.C.A.; RIBEIRO, R.A.; PEREIRA, J.V.; OLIVEIRA, N.M.C. Avaliação clínica e laboratorial do gel da *Uncaria tomentosa* (Unha de Gato) sobre candidose oral. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 19(2A), p. 423-8, 2009.

PEREIRA, R. C. A.; LOPES, J. V. M. **Aspectos botânicos, etnobotânicos, agrônômicos e fitoquímicos de unha-de-gato**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, p. 34, 2006.

PEREIRA, A.V; AZEVÊDO, T.K.B; HIGINO, S.S.S; SANTANA, G.M; TREVISAN, L.F.A; AZEVEDO, S.S; PEREIRA, M.V; PAULA, A.F.R. Taninos da casca do Cajueiro: atividade antimicrobiana. **Revista AGROTEC**. v. 36, n. 1, p. 121-127, 2015.

PEREIRA, C.A.J.; OLIVEIRA, L.L.S.; COAGLIOA, A.L.; SANTOS, F.S.O.; CEZARA, R.S.M.; MENDESA, T.; et al. Anti-helminthic activity of *Momordica charantia* L. against *Fasciola hepatica* eggs after twelve days of incubation *in vitro*. **Veterinary Parasitology**. V. 11(228), p. 160-166, 2016.

PILE, E.A.; BUSTAMANTE, M.; SERRA-FREIRE, N.M.; GOMES, D.C. Dinâmica de *Lymnaea columella* (Say, 1817), hospedeiro intermediário de *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) em municípios do Estado de São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 35, n. 4, p. 151-155, 1998.

PILE, E.; SANTOS, J. A. A.; PASTORELLO, T.; VASCONCELLOS, M. *Fasciola hepatica* em búfalos (*Bubalus bubalis*) no município de Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.38, n.1, p.42- 43, 2001a.

PILE, E.; SANTOS, J. A. A.; SÃO LUIZ, J. B.; VASCONCELLOS, M. C. Fasciolose bovina: controle com látex da “coroa-de-Cristo” (*Euphorbia splendens* var. *hislopii*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 38, n. 6, p. 288-289, 2001b.

QUEIROZ, V. S; LUZ, E; LEITE, L. C; LÍRIO, S. M. *Fasciola hepatica* (Trematoda, Fasciolidae): estudo epidemiológico nos municípios de Bocaiúva do Sul e Tunas no Paraná (Brasil). **Acta Biológica. Paranaense**, Curitiba, v. 31, n. 1, p. 99-111, 2002.

RADOSTISTS O.M., GAY C.C., BLOOD D.C.; HINCHCLIFF K.W. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9.ed., Editora Guanabara Koogan, 2002, 1737p.

REICHEL, M.P.; VANHOFF, K. & BAXTER, B. Performance characteristics of an enzyme-linked immunosorbent assay performed in milk for the detection of liver fluke (*Fasciola hepatica*) infection in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 129: p. 61-66, 2005.

REIS, M.C.P.; LEDA, P.H.O; PEREIRA, M.T.C.L.; TUNALA, E.A.M. Experiencia na implantação do programa de fitoterapia do município do Rio de Janeiro. **Revista Divulgação em Saúde para Debate**. p. 42-49, 2004.

SÁ, D.S.; RIBEIRO, G.E.; RUFINO, L.R.A.; OLIVEIRA, N.M.S.; FIORINI, J.E. Atividade Antimicrobiana da *Uncaria Tomentosa* (Willd) D. C. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada**. v. 35(1), p. 53-57, 2014

SÁNCHEZ-ANDRADE R., PAZ-SILVA A., SUÁREZ J., PANADERO R., DÍEZ-BAÑOS P. & MORRONGO P. Use of a sandwich- enzyme-linked immunosorbent assay (SEA) for the diagnosis of natural *Fasciola hepatica* infection in cattle from Galicia (NW Spain). **Veterinary Parasitology**. v. 93, p. 39-46, 2000.

SANDERS, M; O, Grundmann. The use of glucosamine, devil's law (*Harpagophytum procumbens*), and acupuncture as complementary and alternative treatments for osteoarthritis. **Alternative Medicine Review**, v. 16, n. 3, p. 228-238, 2011.

SANTOS S.J.D.; ALVES F. Análise comparativa da ação de extratos de plantas com atividade antimicrobiana (in vitro) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. **Periódico científico do núcleo de Biociências**, v.02, n.04, p. 12-19, 2012.

SANTOS, K.K.A; ROLÓN, M.; VEJA, C.; ARIAS, A.R.; COSTA, J.G.M.; COUTINHO, H.D.M. Atividade leishmanicida *in vitro* de *Eugenia uniflora* e *Momordica charantia*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada**. v. 34(1), p. 47-50, 2013.

SARGISON, N. SHEEP FLOCK HEALTH: A PLANNED APPROACH. **Oxford: blackwell publishing Ltd**, 2008.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry, Great Britain**, v.30(12), p. 3875-3883, 1991.

SCHENCKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. rev. Porto Alegre; Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS; Ed. da UFSC, 2001. p. 301-332.

SCHILLHORN VAN VEEN, T. W. Sense or nonsense? Traditional methods of animal parasitic disease control. **Veterinary Parasitology**, v. 71, p. 177-194, 1997.

SETTY, A.R.; SIGAL, L.H. Herbal medications commonly used in the practice of rheumatology: mechanisms of actions, efficacy and side effects. **Seminary in Arth and Rheum**: p.773-84, 2005.

SEVERI, J. A. Uso Sustentável da Biodiversidade Brasileira: Prospecção Químico Farmacológica Em Plantas Superiores: *Guapira noxia*. 117 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2007.

SEVERI, J. A. Uso sustentável da biodiversidade brasileira: prospecção químico-farmacológica em plantas superiores: *Guapira* spp. 144f. Tese (Doutorado) Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual

Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, 2010.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ª ed. Florianópolis: Ed UFSC; p. 615-56, 2004.

THOMAS, A.P. The life history of the liver-fluke (*Fasciola hepatica*). **Quart. J. Mic. Sci**, v. 23, p. 99-133, 1883.

TIBULO, E.P.S; OLIVEIRA, L.A; SANTOS, L.M.O; SANTOS, V.L.P; CAMPOS, R; LIMA, C.P. Avaliação da qualidade de folhas de pitangueira *Eugenia uniflora* L (Myrtaceae). Anais do XI EVINCI - UniBrasil, 2016.

TORRES, R. P.; SOUZA, M.A.F. A Dinâmica do Mercado Farmacêutico Brasileiro Segundo o Modelo das Estratégias Genéricas de Porter. **Sociedade, Contabilidade e Gestão**. Rio de Janeiro. v. 5, n. Especial. 2010.

URQUHART, G.M., ARMOUR J., DUNCAN, J.L., DUNN, A.M.; JENNINGS, F.W. **Parasitologia Veterinária**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

VIEIRA, N.P.; FARIA, P.B.; MATTOS, M.R.; PEREIRA, A.A. Condenação de fígados bovinos na região sul do estado do Espírito Santo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.6, p.1605-1608, 2011.

VOGEL, A. I. **Química Orgânica: análise orgânica qualitativa**. 1ª ed., Ao Livro Técnico: Rio de Janeiro, 1983

WAGNER, H.; BLADT, S.; ZGAINSKY, E. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**. Berlim: Springer Verlag, p. 320, 1984.

WAZLAWIK, E.; SILVA, M.A.; PETERS, R.R.; CORREIA, J.F.; FARIAS, M.R.; CALIXTO, J.B.; RIBEIRO-DO-VALLE, R.M. Analysis of the role of nitric oxide in the

relaxant effect of the crude extract and fractions from *Eugenia uniflora* in the rat thoracic aorta. **Journal of Pharmaceutics Pharmacology**. v. 49(4), p. 433-7, 1997.

ZAIDEN, M.F., SANTOS, B. M. O., CANO, M. A. T., NASCIF JR, L. A. N. Epidemiologia das parasitoses intestinais em crianças de creches de Rio Verde - GO. **Medicina**. Ribeirão Preto, v. 41, n.2, p. 182-187, 2008.

ZENI, A. L. B.; KRETZSCHMAR, M.; CLEMES, S. M. **Avaliação fitoquímica de extratos das folhas da goiabeira (*Psidium guajava* L.)**. 57º Congresso Nacional de Botânica: Gramado, 2006.