

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Veterinária**  
**Programa de Pós-Graduação em Veterinária**



Dissertação

**Ambiente como fonte de formas parasitárias e potencial de extratos vegetais  
da família Lamiaceae contra parasitos do gênero *Toxocara***

**Gabriela de Almeida Capella**

Pelotas, 2017

**Gabriela de Almeida Capella**

**Ambiente como fonte de formas parasitárias e potencial de extratos vegetais  
da família Lamiaceae contra parasitos do gênero *Toxocara***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientador: Marlete Brum Cleff

Coorientador: Maria Elisabeth Aires Berne

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

C238a Capella, Gabriela de Almeida

Ambiente como fonte de formas parasitárias e potencial de extratos vegetais da família Lamiaceae contra parasitos do gênero *Toxocara*. / Gabriela de Almeida Capella ; Marlete Brum Cleff, orientadora ; Maria Elisabeth Aires Berne, coorientadora. — Pelotas, 2017.

9lf. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Endoparasitoses. 2. *Toxocara* spp.. 3. Contaminação ambiental. 4. Plantas medicinais. 5. Lamiaceae. I. Cleff, Marlete Brum, orient. II. Berne, Maria Elisabeth Aires, coorient. III. Título.

CDD : 636.0898

Gabriela de Almeida Capella

Ambiente como fonte de formas parasitárias e potencial de extratos vegetais da família Lamiaceae contra parasitos do gênero *Toxocara*

Dissertação como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 24/02/2017

Banca examinadora:

Prof. Dr<sup>a</sup>. Marlete Brum Cleff (Orientador)  
Doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr<sup>a</sup>. Patricia da Silva Nascente  
Doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr<sup>a</sup>. Leandro Quintana Nizoli  
Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Rogério Antonio Freitag  
Doutor em Química pela Universidade Federal de Santa Maria

**Aos meus pais Alfredo e Rosario**  
**Meus exemplos e orgulho**

## **Agradecimentos**

Agradeço a minha família, em especial aos meus pais Alfredo e Rosario por acreditarem e apoiarem incondicionalmente. Assim como ao meu irmão, meu grande exemplo de dedicação e determinação. Agradeço também por sempre tentarem entender os momentos em que não pude estar presente. Um obrigado muito maior do que aquele que as palavras podem expressar. Ao Marcelo Muñoz pelo carinho, paciência, compreensão e incentivo. Obrigada por estar sempre ao meu lado, deixando tudo muito mais fácil.

A minha orientadora Marlete Brum Cleff por ser sempre tão disponível e pelos incansáveis auxílios e ensinamentos. Agradeço também pela confiança, apoio e incentivo nessa etapa tão importante da minha vida. A minha coorientadora Maria Elisabeth Aires Berne que sempre me apoiou e me acolheu no seu laboratório. Obrigada por todos os conselhos e ensinamentos que sempre foram muito além da dissertação.

As minhas colegas do grupo Fitopeet pela amizade, disponibilidade e apoio constantes. Em especial a Soliane por ser sempre tão disponível e parceira nas coletas, análises e experimentos. Aos colegas do laboratório XII pelo companheirismo, excelente ambiente de trabalho e apoio dispensados. Em especial a Natalia Berne por compartilhar, apoiar e ajudar tanto a enfrentar os maus momentos, como a compartilhar os bons. Minha parceira de laboratório e de vida.

Ao laboratório de Química Orgânica da UFPel pelas extrações e realização das análises químicas, em especial ao professor Rogerio Freitag e Ivandra Santi pela disponibilização do Laboratório e ajuda nesta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao PPGV em veterinária, assim as outras pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram com este trabalho, bolsistas, estagiárias e funcionários, muito obrigada.

Por último, mas não menos importantes, a todos os animais que passaram e passarão pela minha vida. O meu respeito e a minha gratidão.

***“O cientista não é o homem que fornece as verdadeiras respostas;  
é quem faz as verdadeiras perguntas”.***  
**(Claude Lévi-Straus)**

## Resumo

CAPELLA, Gabriela de Almeida. **Ambiente como fonte de formas parasitárias e potencial de extratos vegetais da família Lamiaceae contra parasitos do gênero *Toxocara***. 2017. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

Os parasitos são responsáveis por algumas das doenças mais importantes transmitidas dos animais de companhia ao homem. Dentre os parasitos, destaca-se o *Toxocara* spp., em virtude de sua importante patogenia e alta prevalência no homem e nos animais. Assim, o objetivo do estudo foi determinar a presença de formas infectantes de parasitos no ambiente, verificar a composição química e a atividade antihelmíntica *in vitro* de extratos de plantas da família Lamiaceae frente a ovos e larvas de *Toxocara* spp. Para avaliar a contaminação ambiental foram coletadas amostras de solo de uma comunidade de Pelotas – RS. Um total de 100 amostras foram processadas pela técnica de centrifugo-flutuação e analisadas em microscópio óptico (40X) para a identificação das formas parasitárias. Os testes foram realizados utilizando os óleos essenciais de *Origanum majorana*, *Origanum vulgare* e *Rosmarinus officinalis* nas concentrações de 6 a 0,18mg/mL, enquanto os larvicidas nas concentrações de 6 a 0,09mg/mL. Os extratos hidroalcoólicos de *Origanum vulgare*, *Origanum majorana* e *Rosmarinus officinalis* foram testados nas concentrações de (50 a 3,12mg/ml) frente aos ovos. Enquanto frente as larvas foram testados em concentrações de 100 a 6,25 mg/mL para *O. majorana* e *R. officinalis* e para *O. vulgare* de 50 a 3,12 mg/mL. Os testes foram realizados utilizando os óleos e extratos nas diferentes concentrações e ovos (+100) ou larvas (100 a 150) de *Toxocara* spp. Os testes ovicidas foram incubados em estufa B.O.D. a 28°C com 80% de umidade relativa por trinta dias e os testes larvicidas foram incubadas em estufa de CO<sub>2</sub> a 5% e temperatura de 37°C, durante 48 horas. Nos testes larvicidas foi adicionado Corante Azul de Tripane os ovos e larvas foram observados por microscopia. No ambiente analisado, todos os pontos foram positivos para duas ou mais formas parasitárias, sendo identificados oocistos (30,32%), ordem Strongylida (25,4%), ascarídeos (21,31%), *Trichuris* spp. (8,19%), *Toxocara* spp. (3,27%), Ameba (3,27%), Citoisospóra (3,27%), *Dioctophyma renale* (2,45%), Giardia (1,63%) e Entamoeba (0,81%). Na análise cromatográfica dos óleos essenciais compostos majoritários para *O. vulgare* foram 4-Terpineno, gama-Terpinene, cis-Sabinenehydrate, para *O. majorana* foram 4-Terpineol, gama-Terpinene, alpha-Terpineno e no *R. Officinalis* destacaram-se  $\alpha$ -Pinene, cineol e camfor. Nos testes ovicidas o óleo essencial de *O. vulgare* (6 a 0,18mg/mL) apresentou eficácia superior a 90%, enquanto o de *O. majorana* nas concentrações de 6 a 0,37mg/mL mostraram uma eficácia superior a 98% e o *R. Officinalis* em todas as concentrações testadas apresentou eficácia inferior a 71,47%. Na atividade larvicida o óleo essencial de *O. vulgare* (6 a 0,37mg/mL) apresentou 100% de eficácia e o de *O.*

*majorana* (6 a 1,5mg/mL) apresentou uma atividade superior a 90%, enquanto o *R. officinalis* somente apresentou eficácia superior a 90% nas concentrações de 6 a 3mg/mL. Os extratos hidroalcoolicos *O. vulgare* e *O. majorana* (50mg/mL) demonstraram inibição de embrionamento superior a 90%, enquanto *R. officinalis* (50mg/mL) apresentou 86,9 % de inibição. Com relação a atividade larvicida dos extratos de *O. vulgare* tiveram 88,64% de atividade na concentração de 100mg/mL, *O. majorana* de 86,95% na concentração de 50mg/mL e *R. officinalis* apresentaram 97% a 99% nas concentrações de 100 a 12,5mg/mL.. De acordo com o estudo pode-se concluir que o ambiente analisado encontra-se contaminado por formas infectantes de parasitos, constituindo um sério problema de saúde pública. Os resultados de atividade demonstraram que o óleo essencial e o extrato hidroalcoolico de *O. vulgare*, *O. majorana* e *R. officinalis*, ricos em compostos fenólicos, possuem atividade ovicida e larvicida no gênero *Toxocara*. No entanto, são necessários mais estudos visando esclarecer o mecanismo de ação e a toxicidade dessas plantas.

**Palavras-chave:** endoparasitoses; *Toxocara* spp.; contaminação ambiental; plantas medicinais; Lamiaceae

## Abstract

CAPELLA, Gabriela de Almeida. **Environment as a source of parasitic forms and potential of plant extracts of the family Lamiaceae against parasites of the gender *Toxocara***. 2017. 91f. Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

Parasites are responsible for some of the most important diseases transmitted from companion animals to humans. Among the parasites, *Toxocara* spp. stands out due to its important pathogenesis and high prevalence in man and animals. The objective of the study was to determine the presence of infective forms of parasites in the environment, to verify the chemical composition and in vitro antihelmintic activity of extracts of plants of the Lamiaceae family against eggs and larvae of *Toxocara* spp. To evaluate the environmental contamination, soil samples were collected from a community of Pelotas - RS. A total of 100 samples were processed by the centrifuge-flotation technique and analyzed under an optical microscope (40X) for the identification of parasite forms. The tests were carried out using the essential oils of *Origanum majorana*, *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* at concentrations of 6 to 0.18 mg / mL, while larvicides in the concentrations of 6 to 0.09 mg / mL. The hydroalcoholic extracts of *Origanum vulgare*, *Origanum majorana* and *Rosmarinus officinalis* were tested in the concentrations of (50 to 3,12mg / ml) against the eggs. The larvae were tested at concentrations of 100 to 6.25 mg / mL for *O. majorana* and *R. officinalis* and for *O. vulgare* at 50 to 3.12 mg / mL. The tests were performed using the oils and extracts at different concentrations and eggs (+ -100) or larvae (100 to 150) of *Toxocara* spp. The ovicidal tests were incubated in oven B.O.D. At 28 ° C with 80% relative humidity for thirty days and the larvicidal tests were incubated in a 5% CO<sub>2</sub> oven at 37 ° C for 48 hours. In the larvicidal tests Blue Dye of Tripan was added and the eggs and larvae were observed by microscopy. In the analyzed environment, all points were positive for two or more parasitic forms, with oocysts (30.32%), Strongylida (25.4%), ascarids (21.31%) and *Trichuris* spp. (8.19%), *Toxocara* spp. (3.27%), Ameba (3.27%), *Cytoisospora* (3.27%), *Diocotophyma renale* (2.45%), *Giardia* (1.63%) and *Entamoeba* (0.81%). In the chromatographic analysis of the essential oils the major compounds for *O. vulgare* were 4-Terpinene, gamma-Terpinene, cis-Sabinenehydrate, for *O. majorana* were 4-Terpineol, gamma-Terpinene, alpha-Terpinene and *R. Officinalis* stood out A-Pinene, cineol and camphor. *O. vulgare* essential oils (6 to 0.18 mg / mL) showed efficacy higher than 90%, while that of *O. majorana* at concentrations of 6 to 0.37 mg / mL showed efficacy higher than 98% and The *R. Officinalis* in all tested concentrations showed efficacy less than 71.47%. In the larvicidal activity, the essential oil of *O. vulgare* (6 to 0.37mg / mL) presented 100% efficacy and *O. majorana* (6 to 1,5mg / mL) presented an activity superior to 90%, while the *R. Officinalis* only showed efficacy greater than 90% in the concentrations of 6 to 3mg / mL. Hydroalcoholic extracts *O. vulgare* and

*O. majorana* (50mg / mL) showed inhibition of embryo growth of more than 90%, while *R. officinalis* (50mg / mL) presented 86.9% inhibition. In relation to the larvicidal activity of the extracts of *O. vulgare*, they had 88.64% of activity in the concentration of 100mg / mL, *O. majorana* of 86.95% in the concentration of 50mg / mL and *R. officinalis* presented 97% to 99% in the Concentrations of 100 to 12.5 mg / mL. According to the study it can be concluded that the analyzed environment is contaminated by infective forms of parasites, constituting a serious public health problem. The activity results showed that the essential oil and hydroalcoholic extract of *O. vulgare*, *O. majorana* and *R. officinalis*, rich in phenolic compounds, have ovicidal and larvicidal activity in the genus *Toxocara*. However, further studies are needed to clarify the mechanism of action and toxicity of these plants.

Keywords: endoparasitoses; *Toxocara* spp.; environmental contamination; medicinal plants; Lamiaceae

## Lista de Figuras

### Artigo 1

- Figura 1 Vista parcial da cidade de Pelotas e aérea da comunidade (Pontos em branco) onde foram coletadas as amostras de solo para análise parasitológica..... 36
- Figura 2 Porcentagem de ovos, cistos e oocistos de nematódeos observados nas amostras provenientes do ambiente de uma comunidade em vulnerabilidade social na cidade de Pelotas..... 36

### Artigo 2

- Figura 1 Porcentagem de inibição de embrionamento dos ovos de *Toxocara spp.* submetidos a diferentes concentrações dos óleos essenciais após 30 dias de incubação com *Origanum vulgare* (OV), *Origanum majorana* (OM) e *Rosmarinus officinalis* (RO)..... 50
- Figura 2 Porcentagem média de atividade larvicida em *Toxocara spp.* dos óleos essenciais de *Origanum vulgare* (OV), *Origanum majorana* (OM) e *Rosmarinus officinalis* (RO) em diferentes concentrações.... 51

### Artigo 3

- Figura 1 Porcentagem de inibição de embrionamento de ovos de *Toxocara spp.* após 30 dias de contato com diferentes concentrações (mg/mL) do extrato hidroalcoólico de *Origanum vulgare* (OV), *Origanum majorana* (OM) e *Rosmarinus officinalis* (RO)..... 64
- Figura 2 Diferença de coloração entre larvas impregnadas pelo corante Azul de Tripán (seta menor) e larvas não impregnadas pelo corante (seta maior)..... 65

Figura 3 Atividade de diferentes concentrações (mg/mL) do extrato hidroalcoólico de *Origanum vulgare* (OV), *Origanum majorana* (OM) e *Rosmarinus officinalis* (RO) frente a larvas de *Toxocara* spp..... 65

## Sumário

<b>1 Introdução.....</b>	<b>13</b>
<b>2 Objetivos.....</b>	<b>15</b>
<b>2.1 Objetivo Geral.....</b>	<b>15</b>
<b>2.2 Objetivos Específicos.....</b>	<b>15</b>
<b>3 Revisão da Literatura.....</b>	<b>16</b>
<b>3.1 Gênero Toxocara e Toxocaríase.....</b>	<b>16</b>
<b>3.2 Tratamento e controle da toxocaríase.....</b>	<b>20</b>
<b>3.3 Plantas Medicinais.....</b>	<b>22</b>
<b>3.4 Plantas utilizadas no controle de parasitoses.....</b>	<b>23</b>
<b>3.5 Família Lamiaceae.....</b>	<b>26</b>
<b>4 Artigos.....</b>	<b>28</b>
<b>4.1 Artigo 1 .....</b>	<b>28</b>
<b>4.2Artigo 2.....</b>	<b>44</b>
<b>4.3 Artigo 3.....</b>	<b>59</b>
<b>5 Considerações Finais.....</b>	<b>73</b>
<b>Referências.....</b>	<b>74</b>

## 1 Introdução

Na medicina veterinária, é conhecida a problemática do controle e tratamento das parasitoses. Os endoparasitos e ectoparasitos acometem rebanhos e levam a grandes perdas econômicas na cadeia produtiva brasileira (ROCHA et al., 2008). Esta também é a realidade observada nos animais de companhia, onde se tem uma alta casuística de parasitoses (CAMPOS et al., 2013; DANTAS-TORRES & OTRANTO, 2014). Especialmente nos “pets”, devido ao estreito convívio com o homem, torna-se de fundamental importância o controle adequado dos endoparasitos (MOSKVINA e ERMOLENKO, 2016).

Atualmente, existe uma tendência no mercado veterinário de apresentar associações de anti-helmínticos para tratamento e o uso de forma periódica. Esse fato pode estar contribuindo para o estabelecimento de resistência dos parasitos aos fármacos disponíveis (THOMPSON, 2001).

De acordo com SANTOS et al. (2015), a administração indiscriminada de anti-helmínticos tem contribuído para a seleção de parasitos resistentes aos princípios ativos de muitos medicamentos e, conseqüentemente, reduzido as opções de tratamento das enfermidades parasitárias. A resistência de parasitos gastrintestinais de animais de produção é um grande problema na pecuária, mas, comparativamente, pouco tem se relatado em relação aos animais de companhia (OLIVEIRA & LESTINGI, 2011; DANTAS-TORRES & OTRANTO, 2015).

Há várias pesquisas que relatam o uso de plantas medicinais para o controle de parasitoses (ANTHONY et al., 2005). Dentre as plantas, as pertencentes a família Lamiaceae, vem sendo estudadas visando suas propriedades anti-helmínticas (PENSEL et al., 2014; DIAS DE CASTRO et al., 2013; FORCE et al., 2000; GIANNENAS et al., 2003; SANTORO et al., 2007). Em relação aos endoparasitos, destaca-se o gênero *Toxocara*, que apresenta uma alta ocorrência na população canina (NEVES et al., 2014; OTERO, 2015) e humana (MACPHERSON, 2013). No entanto, não existe nenhum trabalho na literatura com uso de extratos de plantas da família Lamiaceae com o gênero *Toxocara*.

Além da busca por novas opções terapêuticas para as parasitoses, torna-se essencial a busca por métodos que interrompam o ciclo dos parasitas no ambiente e dessa forma diminuam a contaminação ambiental. Principalmente, em virtude da expressiva resistência dos ovos de *Toxocara* spp. a condições ambientais adversas e aos agentes químicos comerciais (BOUCHET et al., 1986; AYÇIÇEK et al., 2001; MORRONDO, 2006).

O papel dos animais de estimação como disseminadores de parasitos com potencial zoonótico deve ser considerado (MOSKVINA e ERMOLENKO, 2016). Principalmente, em virtude ao contato cada vez mais próximo dos animais com os humanos e a possibilidade de animais assintomáticos eliminarem formas contaminantes de parasitos (DUIJVESTIJN et al., 2016).

Nesse contexto, torna-se necessário a descoberta de novas opções de tratamento da Toxocaríse no homem e nos animais, assim como alternativas para a desinfecção do ambiente. Dessa forma, as plantas medicinais têm sido apontadas como uma alternativa para o desenvolvimento de novos agentes anti-helmínticos (HAMMOND et al., 1997; BAHMANI et al., 2014).

## **2 Objetivos**

### **2.1 Objetivo Geral**

Verificar a presença de formas infectantes de parasitos no ambiente e a atividade antihelmíntica *in vitro* dos extratos de plantas da família Lamiaceae frente a *Toxocara* spp.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Determinar a presença de ovos de parasitas no ambiente de comunidade de Pelotas-RS;
- Avaliar o potencial anti-helmíntico *in vitro* dos óleos essenciais de *Origanum vulgare*, *Origanum majorana* e *Rosmarinus officinalis* frente à ovos e larvas de *Toxocara* spp.;
- Avaliar o potencial anti-helmíntico *in vitro* dos extratos hidroalcóolicos de *R. officinalis*, *O. vulgare* e *O. majorana* frente à ovos e larvas de *Toxocara* spp.;
- Identificar os compostos majoritários dos óleos essenciais de *R. officinalis*, *O. vulgare* e *O. majorana*.

### 3 Revisão de Literatura

#### 3.1 Gênero *Toxocara* e Toxocaríase

Os parasitos do gênero *Toxocara* spp. apresentam distribuição mundial (LESCANO et al, 2005; REIS et al., 2014, MACPHERSON, 2013). Esse parasito causa a Toxocaríase humana, umas das mais importantes doenças parasitárias zoonóticas (MACPHERSON, 2013, FAN 2013). Os parasitos das espécies *Toxocara canis* (WERNER, 1782) e *Toxocara cati* (SCHRANK, 1788) são nematódeos, pertencentes a ordem Ascaridida e família Anisakidae (DESPOMMIER, 2003).

As fêmeas de *Toxocara* spp. apresentam como características morfológicas um tamanho de 6-18 cm de comprimento e o macho 4-10 cm de comprimento com a extremidade posterior curvada no sentido ventral. Uma fêmea madura de *Toxocara* spp. possui o potencial de ovipor até 20000 ovos por dia. Esses ovos são liberados junto com as fezes no ambiente, contaminando-o e aumentando a possibilidade de infecção para o homem e para os animais (GLICKMAN e SCHANTZ, 1981). Os nematoides do gênero *Toxocara* spp. possuem como hospedeiros definitivos cães e gatos e parasitam lúmen do intestino delgado desses animais (LESCANO et al., 2005;DESPOMMIER, 2003).

Os ovos de *Toxocara* spp. possuem três camadas: uma externa(mamilonada), uma central (composta de proteína e quitina) e uma mais interna (composta predominantemente de lipídios). A última camada do ovo é a principal barreira de permeabilidade (DESPOMMIER, 2003). A conformação morfológica fornece aos ovos de *Toxocara* spp. extrema resistência a condições ambientais e aos agentes químicos (BOUCHET et al., 1986; AYÇIÇEK et al., 2001; MORRONDO, 2006). Dessa forma, os ovos podem permanecer viáveis por até seis anos no ambiente (BARRIGA, 1988).

O embrionamento dos ovos ocorre no solo no período de duas a cinco semanas, dependendo da temperatura e umidade. Em condições inadequadas os ovos podem permanecer em latência até que em condições ótimas de temperatura e umidade ocorra o embrionamento (DESPOMMIER, 2003; AZAM et al., 2011;

OVERGAAUW e VAN KNAPEN, 2013). Dessa forma, em uma temperatura de 12-18 °C os ovos levam 54 dias para se tornarem infectantes, enquanto que na temperatura 25-30°C levam somente 14 dias. Após o embrionamento os ovos podem resistir no ambiente, mantendo o seu potencial infectante, por pelo menos um ano (LLOYD, 1993). A forma infectante de *Toxocara* spp. é a larva de terceiro estágio que pode estar presente em ovos embrionados (ARAUJO, 1972) ou nos tecidos de hospedeiros paratênicos (STRUBE et al., 2003; MACPHERSON, 2013).

Os hospedeiros definitivos do *T. canis* e do *T. cati* são cães e gatos respectivamente, sendo que os filhotes são mais suscetíveis a infecção (DUIJVESTIJN et al., 2016). Diferente dos cães adultos, os filhotes desenvolvem a forma adulta no intestino delgado (BARRIGA, 1988). Além disso, costumam apresentar uma carga parasitária maior do que os animais adultos e, conseqüentemente, representam uma importante fonte de contaminação ambiental (FAN et al., 2013).

Estudos mundiais evidenciaram uma prevalência de *Toxocara* spp. em neonatos de 99,4%. Sendo assim, pode-se considerar que 100% dos filhotes são infectados ao nascimento (BARRIGA, 1988), e estes podem ou não apresentar sinais clínicos da doença. No entanto, independente da presença de sintomas, os filhotes podem eliminar formas infectantes do parasito no ambiente e contribuir com a contaminação ambiental (DUIJVESTIJN et al., 2016). Desse modo, o tratamento periódico é importante, mesmo em animais que não apresentam sinais clínicos (ESCCAP, 2010).

Nos cães adultos a prevalência *Toxocara* spp. pode variar de 1 a 45% (FAN et al., 2013). Diferente dos filhotes, os cães adultos não desenvolvem a forma adulta do parasito no intestino. Após a infecção, as larvas migram pelos tecidos, onde podem permanecer incistadas por longos períodos (BARRIGA, 1988). Os gatos adultos possuem uma prevalência de infecção maior que a dos cães adultos, variando de 2 a 79% (NIJSSE et al., 2016). Os principais fatores que contribuem para uma infecção em felinos são idade jovem, viver em áreas rurais e tempo de passeio ao ar livre. Quanto maior o tempo de acesso à rua, maior o risco dos animais liberarem ovos de *Toxocara*, indicando que os gatos semidomiciliados e não domiciliados são mais propensos a contaminar o ambiente (NIJSSE et al., 2016), fato que chama a atenção para os felinos como fonte de toxocaríase humana (FISHER, 2003).

Os cães e gatos podem se infectar por meio da ingestão de ovos embrionados presentes no ambiente ou por meio da ingestão de hospedeiros paratênicos que contenham em seus tecidos larvas de terceiro estágio de *Toxocara* spp. Os parasitos também podem ser transmitidos verticalmente aos filhotes por meio da migração larval transplacentária e transcolostral (BARRIGA, 1988; DESPOMIER, 2003).

A infecção nos hospedeiros paratênicos ocorre de forma semelhante a infecção nos hospedeiros definitivos, sendo hepato-pulmonar. Após a ingestão dos ovos embrionados, as larvas eclodem e penetram na parede intestinal, migram através do sistema circulatório para o fígado e para os pulmões e após podem atingir diferentes tecidos. A distribuição das larvas nos tecidos ocorre de acordo com os locais de predileção dependentes da espécie. Nesses animais, as larvas de terceiro estágio podem permanecer viáveis por até dez anos, sendo potencialmente infectantes no caso de serem ingeridas por outros animais ou pelo homem (STRUBE et al., 2013).

A doença causada por *Toxocara* spp. no homem é conhecida como Toxocaríase (MACPHERSON, 2013), também denominada síndrome da larva migrans visceral. A enfermidade foi descrita pela primeira vez por Wilder em 1950 que identificou uma larva de espécie desconhecida em um granuloma retiniano em uma criança (WILDER, 1950; DESPOMIER, 2003). Após em 1952, foram diagnosticadas e identificadas como larvas de *Toxocara* spp. em biopsias hepáticas de crianças que apresentavam sintomas pulmonares, hepatomegalia e hipereosinofilia (BEAVER et al., 1952). O termo síndrome da larva migrans visceral foi utilizado em analogia com a síndrome da larva migrans cutânea.

O homem se infecta de forma acidental, por meio da ingestão de ovos de *Toxocara* spp. embrionados que podem estar presentes em solo ou alimentos contaminados com fezes dos animais (DESPOMIER, 2003; FAN 2013).

As crianças são mais propensas a infecção porque são expostas aos ovos em caixas de areia e playgrounds contaminados com fezes de cães e gatos. Além disso, o hábito das crianças de utilizarem a boca para explorar e praticarem geofagia, possibilita a ingestão de excremento, brinquedos e solo e predispõem a uma maior infecção (DESPOMIER, 2003). Existem diversos estudos evidenciando a presença de formas infectantes de *Toxocara* spp. em ambientes recreacionais no Brasil e no mundo (HABLUETZEL et al., 2003; MACPHERSON, 2013; COLLI et al., 2010).

Além disso, o homem também pode se infectar por meio da ingestão de larvas presentes em carne crua ou mal cozida de hospedeiros paratênicos como, por exemplo, aves, bovinos, suínos e ovelhas (STRUBE et al., 2013; FAN, 2013; MACPHERSON, 2013).

Os parasitos responsáveis por infectar o hospedeiro humano são o *T. canise* em menor grau o *T. cati*. Dessa forma, o *Toxocara canis* é considerado como o principal responsável pela toxocaríase humana (MACPHERSON, 2013). No entanto, a contribuição do *T. cati* pode estar sendo subestimada, pois na maioria dos estudos, os métodos utilizados para o diagnóstico não distinguem entre os dois parasitos (FAN et al., 2013).

Nesses casos, ao ingerirem o ovo infectante, a larva de terceiro estágio é liberada no intestino e realiza migração através da circulação. Essa larva pode ser encontrada no cérebro, fígado, pulmão, olhos, coração e musculatura. No entanto, no homem, essas larvas não evoluem para o parasito adulto e podem ser destruídas pelo sistema imune ou permanecer incistadas nos tecidos durante anos (DESPOMIER, 2003, STRUBE et al., 2013).

Na maioria dos casos a Toxocaríase humana é assintomática (FILLAUX & MAGNAVAL, 2013). No entanto, essas larvas incistadas podem levar a reações inflamatórias graves (STRUBE et al., 2013). A gravidade e a sintomatologia da Toxocaríase é relacionada a imunidade, coinfeção, genética, idade, sexo e nutrição do hospedeiros (VINEY e GRAHAM, 2013). Dessa forma, as principais síndromes observadas são da Larva Migrans Visceral, ocular, neurológica e oculta (DESPOMIER, 2003; FISHER 2003; CHEN et al., 2012; FAN et al., 2013; STRUBE et al., 2013).

A Toxocaríase permanece subdiagnosticada rotineiramente devido a dificuldades para o estabelecimento do diagnóstico (RASSIER et al., 2013). Apesar disso, estudos soropidemiológicos demonstram uma alta prevalência em várias regiões do mundo, inclusive, em países desenvolvidos (MACPHERSON, 2013). No Brasil, na cidade de Pelotas, Schoenardie et al. (2013) observou uma prevalência de 50% em crianças de um a doze anos de idade. Dessa forma, a Toxocaríase pode ser considerada uma doença negligenciada, cuja importância mundial está sendo subestimada (HOTEZ e WILKINS, 2009; CHEN et al, 2012; MACPHERSON, 2013).

### 3.2 Tratamento e controle da toxocaríase

O tratamento da toxocaríase com anti-helmínticos com atividades larvicidas e larvostáticas tem sido recomendado sempre que se evidencia a presença da infecção, mesmo que não existam sintomas (LESCANO et al., 2005). No entanto, alguns autores recomendam que seja realizado o tratamento em pessoas somente quando apresentem sintomatologia (APT, 1987, CAUMES, 2003;), principalmente devido a possibilidade de reações alérgicas após o uso de anti-helmínticos (PAWLOWSKI, 2001).

Em relação a eficácia do tratamento, não existem muitos estudos sobre a susceptibilidade a fármacos de larvas de *Toxocara* em hospedeiros paratênicos. A maioria dos estudos de eficácia de anti-helmínticos foi realizada em ratos experimentalmente infectados (MAGNAVAL E GLICKMAN, 2006). Os resultados dos estudos de eficácia dos anti-helmínticos nesses modelos experimentais são variáveis conforme a droga e o esquema terapêutico empregado (LESCANO et al., 2005).

Entretanto, tem-se observado que os estudos de eficácia de fármaco com animais, utilizam a dose do inóculo muito elevada. Nos estudos utilizando roedores com peso em torno de 35g, são administrados de 500 a 2000 ovos, o que corresponderia a uma dose de 1 a 4 milhões de ovos para um humano adulto. Uma situação semelhante só ocorreria em infecções repetidas em crianças com história de geofagia, pois na maioria das infecções clínicas o inóculo seria muito menor (MAGNAVAL e GLICKMAN, 2006). Contudo, a maior parte desses estudos foi realizada entre os anos de 1970 e 1990 (DAFALLA, 1972; NICHOLAS e STWART, 1979; HOLT et al., 1981; ABO-SHEBADA e HERBERT, 1984; DELGADO, 1989; FOK e KASSAI, 1998; BARDON et al., 1995; VIEIRA et al, 1993; SAMANTA e ANSARF, 1990) e desde então poucos estudos foram realizados (LESCANO et al., 2005).

Atualmente, não existe consenso entre os autores sobre a eficácia da terapia anti-helmíntica para o tratamento da Toxocaríase humana. Dessa forma, alguns autores atribuem a ineficácia da terapia ao tamanho de inóculo larval, a inexistência de profilaxia eficaz para crianças com alto risco de geofagia que possibilita infecções repetidas, bem como resultados equivocados de testes com fármacos em modelos de roedores (MAGNAVAL e GLICKMAN, 2006).

Entre os fármacos potencialmente eficazes na toxocaríase, estão o albendazol, mebendazol, tiabendazol, dietilcarbamazina e ivermectina (OTHMAN, 2012), sendo os mesmos empregados no tratamento das helmintoses intestinais (KOROLKOVAS e FRANÇA, 2009). Na Toxocaríase, além do uso de anti-helmínticos, também podem ser empregados anti-histaminicos, corticosteroides e broncodilatadores para atenuar os sintomas decorrentes da resposta inflamatória (MAGNAVAL e GLICKMAN, 2006).

Em relação ao tratamento anti-helmíntico de pequenos animais não há na literatura muitas informações sobre a eficácia dos fármacos disponíveis no mercado. Entretanto, os principais fármacos utilizados no controle das endoparasitoses são o praziquantel, pamoato de pirantel, fenbendazol, febantel e ivermectina (DANTAS-TORRESe OTRANTO, 2014), sendo frequentemente utilizados os princípios ativos de modo associado (THOMPSON, 2001). O adequado controle da Toxocaríase consiste na administração de anti-helmíntico aos filhotes com 14 dias de idade, repetindo a cada 15 dias até duas semanas após o desmame, após administra-se mensalmente até os seis meses de idade. O adequado tratamento dos filhotes é muito importante, pois se evita que as larvas cheguem a forma adulta e eliminem ovos (SANTARÉM et al., 2009). Os animais adultos devem seguir sendo desparasitados de forma regular, pelo menos quatro vezes ao ano. Nos casos em que não é administrado periodicamente, recomenda-se a realização de exames parasitológicos de fezes (EPF) a cada um a três meses, efetuando o tratamento apenas nos casos positivos (ESCCAP, 2010).

Entretanto, essa crescente tendência no mercado veterinário de apresentar associações de anti-helmínticos para tratamento e o uso de forma periódica, pode estar contribuindo para o estabelecimento de resistência dos parasitos aos farmacos disponíveis no mercado. Sendo já citado que a utilização indiscriminada de anti-helmínticos nos animais de companhia possibilita o desenvolvimento de resistência aos princípios ativos, assim como em animais de produção (THOMPSON, 2001).

Em relação ao controle da Toxocaríase, o ambiente é o responsável pela manutenção e dispersão dos ovos. Principalmente, em virtude da conhecida resistência dos ovos a condições ambientais e desinfetantes comerciais (BOUCHET et al., 1986; AYÇIÇEK et al., 2001; MORRONDO, 2006). Apesar disso, a importância da contaminação ambiental costuma ser subestimada. As novas alternativas de controle da Toxocaríase visando a diminuição dos ovos infectantes no solo devem

buscar formas de romper a membrana da casca do ovo que o progete no ambiente (DESPOMIER, 2003).

### **3.3 Plantas medicinais**

As plantas armazenam substâncias orgânicas que podem ser extraídas e utilizadas em diversas atividades científicas, tecnológicas e comerciais. Os produtos extraídos das plantas são usualmente classificados em metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são essenciais para o desenvolvimento fisiológico e possuem um importante papel no metabolismo celular básico. Os metabólitos secundários estão relacionados com os mecanismos de defesa das plantas no ambiente, protegendo-as de doenças e parasitas, além de contribuir com a formação dos diferentes aromas e cores (DIXON, 2001; BRAZ FILHO, 2010).

Em virtude disso, a produção ou concentração dos metabólitos pode ser afetada pelas condições ambientais. Dessa forma, fatores como sazonalidade, ritmo circadiano, estágio de desenvolvimento, temperatura, disponibilidade de água, radiação UV, nutrientes do solo, altitude, composição atmosférica e danos nos tecidos alteram a síntese dos metabólitos secundários (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

A utilização de plantas vem sendo descrita para tratamento de animais e pessoas há milhares de anos (AL-SEREITI et al., 1999; VIEIRA, 2005, AL-KALALDEH et al., 2010). Entretanto, devido ao crescimento da indústria farmacêutica, na segunda metade do século passado, ocorreu uma grande evolução no tratamento com medicamentos alopáticos. Apesar disso, muitas pessoas em situação de vulnerabilidade não possuem adequada assistência médica e farmacêutica, não tendo acesso de forma integral aos medicamentos. Este fato, associado a tradição milenar da utilização de extratos vegetais, acarretam em uma expressiva aplicação das plantas medicinais nos países em desenvolvimento (VIEIRA, 2005). De acordo com a OMS cerca de 80% da população desses países dependem, exclusivamente, dos fitoterápicos para a prevenção e tratamento das enfermidades (PEREIRA e ALBEIRO, 2015; MATOS, 2014).

No Brasil, em 2006 a fitoterapia foi incluída nas práticas da rede pública de saúde (BRASIL, 2006). Em 2011, objetivando uma utilização adequada dos fitoterápicos, principalmente pelo SUS, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária

organizou um manual para divulgação das plantas com potencial terapêutico descritos e aceitos cientificamente (BRASIL, 2011). Dessa forma, o uso expressivo das plantas pela população e a crescente ineficácia dos medicamentos alopáticos, motivaram a manutenção e ampliação dos estudos com plantas medicinais. Nesses estudos, vem sendo evidenciados potenciais como antimicrobiano, antioxidante, anticancerígeno e antiparasitário das plantas (BAKKALI et al., 2008).

As plantas medicinais são frequentemente utilizadas na forma de extratos vegetais e óleos essenciais. Para a obtenção dos extratos, o material vegetal passa por estabilização, secagem e moagem, posteriormente, por um solvente extrator (SIMÕES et al., 2003). A extração dos metabólitos terapêuticos das plantas pode ser realizada por meio de processos relativamente simples como destilação a vapor ou extração com solventes aquosos ou orgânicos. Esse fato torna a extração viável economicamente (BALANDRIN et al., 1985).

Além dos extratos, os óleos essenciais extraídos de plantas medicinais são amplamente utilizados. A principal forma de obtenção dos óleos essenciais é a destilação por arraste de vapor. Os principais compostos dos óleos extraídos de plantas aromáticas são moléculas voláteis, tais como terpenos e terpenóides, componentes aromáticos derivados de fenol e componentes alifáticos (BAKKALI, 2008).

No entanto, muitas vezes as plantas são utilizadas de forma indiscriminada, pois são escassas as informações sobre a posologia e os efeitos adversos do uso. Sendo assim, apesar da usual descrença sobre a toxicidade das plantas medicinais, a sua utilização pode acarretar em efeitos tóxicos ou adversos e interações com outros medicamentos, tanto em pessoas como nos animais (PEREIRA e ALBEIRO, 2015). Além disso, a falta de controle na produção e comercialização dos fitoterápicos pode culminar em alterações e adulterações no produto final consumido (VIEIRA, 2005).

### **3.4 Plantas utilizadas no controle de parasitoses**

Diferente da medicina humana que há muito tempo vem utilizando as plantas medicinais para controle e tratamento das enfermidades, na medicina veterinária ainda não existe uma ampla utilização (HAMMOND et al., 1997;GIORDANI, 2013).

Apesar disso, acredita-se que a utilização é crescente e principalmente associada a busca por menores custos e efeitos indesejáveis que os fármacos alopáticos provocam (MARINHO et al., 2007). Assim, em virtude da conhecida problemática no controle e tratamento das parasitoses em animais, os estudos com plantas medicinais como novos agentes antiparasitários tem-se destacado (ANTHONY et al., 2005; GUAUQUE et al., 2010).

A maioria dos estudos utilizando plantas medicinais no tratamento de parasitoses tem sido realizados utilizando extratos aquosos ou alcoólicos. No entanto, os óleos essenciais de plantas também podem ser eficazes no tratamento ou prevenção de doenças parasitárias (ANTHONY et al., 2005). Os óleos essenciais apresentam características como baixa densidade e alta solubilidade lipídica. Essas propriedades permitem aos óleos apresentarem uma rápida difusão através das membranas celulares e um maior direcionamento dos componentes ativos para os parasitos (BOYOM et al., 2003).

Diferente dos fármacos alopáticos, as plantas anti-helmínticas apresentam como vantagens serem sustentáveis e ambientalmente aceitáveis. Sendo assim, as plantas medicinais podem ter um importante papel no controle das infecções por helmintos, sendo desenvolvidas diversas pesquisas objetivando determinar a o potencial das plantas no controle de infecções parasitárias (ANTHONY et al., 2005, HAMOND et al., 1997). Dentre as plantas medicinais, espécies da família Lamiaceae vem sendo estudadas visando o controle de parasitos (PENSEL et al., 2014; DIAS DE CASTRO et al., 2013; FORCE et al., 2000; GIANNENAS et al., 2003; SANTORO et al., 2007). No entanto, há poucos estudos com a utilização de plantas antihelmínticas no tratamento de parasitoses de animais de companhia (REZENDE et al., 2010), não sendo encontrado na literatura pesquisas com plantas da família Lamiaceae e *Toxocara* spp.

Em relação ao gênero *Toxocara*, estudos com outras plantas medicinais vem sendo desenvolvidos, visando obter novas formas de controle da parasitose em humanos e animais (RAMOS et al., 2015; SA-NUNES et al., 2006; GUAQUE et al., 2010; REIS et al., 2010; CAROCCIA et al., 2013; SHALABY et al., 2012; MOUDGIL et al., 2015).

Ramos et al. (2015), investigou o efeito *in vitro* de extratos de plantas medicinais cubanas frente a larvas de *Toxocara canis*. Os extratos hidroalcoólicos de *Argemone mexicana* e *Carica papaya* enriquecidos em alcalóides provocaram

mobilidades relativas menores que 80% após 72 horas. Os extratos de *Aloe vera*, *Artemisia vulgaris*, *Centrosema virginianum* e *Chenopodium ambrosioides* não mostraram atividade contra o parasita.

Guauque et al., (2010), avaliou a atividade antihelmíntica do extrato seco de *Ambrosia Peruviana* em parasitos adultos e ovos de *Toxocara canis*. Nesse estudo, observou atotal imobilidade nos parasitos adultos e diminuição na taxa de embrionamento dos ovos com osextratos aquosos e etanólico de *A. Peruviana*.

Reis et al. (2010), investigou a atividade dos extratos de *Chenopodium ambrosioides*, *Pycnanthus angolensis* e nutridesintox *in vitro* e *in vivo* frente a larvas de *Toxocara canis*. O extrato de hexano de *C. ambrosioides* apresentou uma atividade anthelmíntica *in vitro* e uma redução na reação inflamatória produzida pela infecção de larvas de *T. canis* *in vivo*.

Shalaby et al., (2012), avaliou-se o efeito do extrato metanólico de frutos de *Balanites aegyptiaca* (BAE) em *Toxocara vitulorum* adulto e o efeito ovicida, nas concentrações de 10, 30, 60, 120 e 240 g / ml do extrato metanólico. O extrato metanólico de frutos de *Balanites aegyptiaca* (BAE) *in vitro* apresentou uma eficacia dependente da concentração sobre o parasito adulto e teve um bom efeito inibitório sobre o desenvolvimento do ovo de *T. vitulorum* na concentração de 240 g/ml após 12 horas de contato do extrato com o ovo de *Toxocara*.

Caroccia et al. (2013), determinou a viabilidade e motilidade das larvas de *Toxocara canis* após o tratamento com curcumina e albendazol *in vitro*, sugerindoque a curcumina pode apresentar efeitos larvicidas contra o *Toxocara canis*. Nesse estudo, o tratamento com curcumina foi o mais eficaz na redução na mobilidade relativa das larvas de *T. canis*.

Além dos extratos citados com propriedades antihelmínticas, outras plantas medicinais como *Hippophae rhamnoides*, *Hippophae salicifolia*, *Piper longum* e *Mangifera indica*, também foram pesquisadas *in vivo* em modelos experimentais. Nesses estudos foi observado que algumas dessas plantas, apesar de não apresentarem atividade antihelmíntica, apresentam um efeito imunomodulador. Dessa forma, também apresentam potencial para se tornarem alternativas no tratamento da Toxocaríase Visceral (MOUDGIL et al., 2015; SA-NUNES et al., 2006).

### 3.5 Família Lamiaceae

A família Lamiaceae é composta por cerca de 250 gêneros e 6.970 espécies. No Brasil, são encontradas aproximadamente 26 gêneros e 350 espécies (SILVA et al., 2011; PEREIRA e ODECIA, 2013).

Dentro dessa família, as plantas *Origanum vulgare* (orégano), *Origanum majorana* (manjerona) e *Rosmarinus officinalis* (alecrim) se destacam por apresentarem um amplo espectro de atividades biológicas, atuando como bactericidas, antioxidantes, fungicidas, antihelmínticas, tanto na forma de óleos essenciais, como em outras formas de extratos (CLEFF, 2008).

Muitas das espécies da família Lamiaceae, que são originárias de regiões mediterrâneas, Oriente Médio e as montanhas subtropicais, encontram-se bem adaptadas e tem ampla distribuição no Brasil. *R. officinalis* cresce naturalmente nos campos do RS, assim como *O. vulgare* e *O. majorana* que são cultivadas para uso como tempero na culinária de diversas regiões do país (PEREIRA e ODECIA, 2013).

*O. vulgare* é uma planta conhecida popularmente como orégano, sendo amplamente utilizada na culinária e na medicina popular (CLEFF 2008; ARCILA-LOZANO et al., 2004). Diversas propriedades terapêuticas dos extratos e óleos essenciais extraídos de *O. vulgare* já foram comprovadas cientificamente, como antioxidante, anticancerígena, antimicrobiana, antifúngica e antiparasitária (ARCILA-LOZANO et al., 2004; CLEFF, 2008; DIAS DE CASTRO et al., 2013, VASKO et al., 2014; SANTIN et al., 2014; WALLER, 2016). O óleo essencial apresenta alta estabilidade, ausência de contaminação microbiológica e diversos compostos químicos que vem sendo estudados quanto as suas propriedades terapêuticas (SOUZA, 2005), destacando-se o 4-terpineol, timol, gamaterpineno, alfa-terpineol e carvacrol que normalmente estão entre os constituintes majoritários no óleo essencial de orégano (CLEFF et al., 2010; RODRIGUES et al., 2004; SANTIN et al., 2014).

*Origanum majorana* L., conhecido popularmente como manjerona, apresenta-se como planta aromática, perene, cuja porção subterrânea é formada por um sistema de raízes fibrosas (PEREIRA e ODECIA, 2013). Apesar do uso popular contra asma, indigestão, cólicas, dores de cabeça, tonturas, enxaqueca, depressão e reumatismo, atividade diurética (JUN et al., 2001), estudos atuais vem

demonstrando propriedades antibacterianas, antifúngicas, antivirais e inseticidas (GUTERRES, 2013; HAJLAOUI et al., 2016).

*R. officinalis*, conhecido popularmente como alecrim, é uma planta de porte subarbustivo de até 1,5m de altura, e que segundo a medicina popular apresenta como principais propriedades terapêuticas ação digestiva e antihipertensiva (AGRA et al., 2007), cicatrizantes e antiinflamatórias (SIMÕES et al., 2003). Também pode ser utilizado como antiespasmódico na cólica renal e dismenorréia, no alívio das perturbações respiratórias e para estimular o crescimento capilar (AL-SEREITI et al., 1999).

As diversas propriedades do alecrim têm gerado interesse, especialmente no seu óleo essencial e alguns de seus constituintes isolados (AL-SEREITI et al., 1999). O óleo essencial é constituído, principalmente, de cineol, alfa-pineno e cânfora, como componentes voláteis, e ácido caféico, diterpenos, flavonóides e triterpenóides, como componentes não voláteis (SIMÕES et al., 2003). Sendo que já foram comprovadas atividade anticancerígena (MOORE et al., 2016) antimicrobiana (BOZIN et al., 2007; SILVA et al., 2010; GUTERRES, 2015), antifúngica (BRAGA et al., 2007; LUQMAN et al., 2007; SANTIN et al., 2014) e antiparasitária (ABE et al., 2002; ALBANI et al., 2014).

## **4 Artigos**

### **4.1 Artigo 1**

#### **Ambiente como fonte de infecções parasitárias, um grave problema de saúde pública**

Gabriela de Almeida Capella, Soliane Carra Perera, Natalia Berne Pinto, Tairan Ourique, Claudia Giordani, Cristine Cioato da Silva, Maria Elisabeth Aires Berne, Marlete Brum Cleff

Submetido à Revista Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science

## AMBIENTE COMO FONTE DE INFECÇÕES PARASITÁRIAS, UM GRAVE PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA

### Resumo

No Brasil, uma parcela significativa da população não possui saneamento básico e vive em situação de vulnerabilidade social, compartilhando o ambiente com animais, possibilitando o estabelecimento de infecções parasitárias zoonóticas, e a manutenção do ciclo dos parasitas. Assim, para que medidas de controle sejam preconizadas, torna-se necessário identificar os parasitos presentes no ambiente. Neste contexto, objetivou-se avaliar a contaminação ambiental por formas parasitárias em comunidade de vulnerabilidade social no sul do RS. Para isso, foram coletadas amostras de solo da comunidade, totalizando 100 amostras que foram processadas pela técnica de centrifugo-flutuação e analisadas em microscópio óptico (40X) para a identificação dos ovos de parasitos. Todos os pontos foram positivos para dois ou mais parasitos, sendo identificados oocistos 30,32%, ovos de parasitos da ordem Strongylida (25,4%), ascarídeos (21,31%), *Trichuris*spp. (8,19%), *Toxocara* spp. (3,27%), Amebas (4,08%), *Cystoisospora* (3,27%), *Dioctophymarena*le (2,45%), *Giardia* (1,63%). A presença de formas parasitárias em todos os pontos analisados, supera outros estudos de contaminação ambiental realizados na região sul do Brasil. Além disso, a identificação de diversas formas parasitárias com potencial zoonótico é preocupante, pois evidencia a possibilidade de transmissão de parasitoses ao homem e a outros animais. Diante dos resultados, conclui-se que, o ambiente analisado encontra-se contaminado por formas parasitárias, constituindo um sério problema de saúde pública. Ressalta-se a importância da implantação de medidas educativas e preventivas junto a comunidade para controle dos parasitos.

**Palavras-Chave:** contaminação; solo; parasitos; zoonoses

### Introdução

Grande parcela da população mundial ainda não dispõe de saneamento básico e vive em situação de vulnerabilidade social (GOMES et al., 2012). Junto a estas, diversos animais coabitam em ambientes com precárias condições sanitárias (ROSA JUNIOR et al., 2012), proporcionando um aumento nas infecções parasitárias (ARAÚJO et al., 2008), com destaque

para os animais de companhia que são importantes transmissores de parasitoses zoonóticas (BANETH, 2016).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 44,3% dos domicílios no país possuem pelo menos um cão, estimando a população canina domiciliada em 52,2 milhões e a felina em 22 milhões, sendo que a região Sul do Brasil apresenta o maior percentual de cães (IBGE, 2013). A cidade de Pelotas, sul do RS, apresenta um animal domiciliado para cada dois habitantes (DOMINGUES, 2015). Apesar dos inúmeros benefícios gerados pela convivência com os animais (MACHADO et al., 2008; VIEIRA et al., 2016), a possibilidade de transmissão de enfermidades não pode ser ignorada, destacando-se as de origem parasitária (MOSKVINA e ERMOLENKO, 2016).

Os animais de estimação, como cães e gatos, quando parasitados, podem contaminar o ambiente, eliminando até 20.000 ovos/dia (OLIVEIRA et al., 2007). O solo arenoso é um importante foco de contaminação parasitária pelo fato de ser capaz de reter água devido a estrutura porosa, mantendo temperatura e umidade favoráveis para o desenvolvimento dos parasitos (ROCHA et al., 2011). Além disso, os ovos dos parasitos podem permanecer viáveis por longo período no ambiente e, conseqüentemente, expor os humanos e animais ao risco de infecção (OLIVEIRA et al., 2007).

Estudos referem existir milhões de pessoas acometidas por parasitoses (ARAUJO et al., 2008, ALMEIDA et al., 2010), sendo as crianças as mais suscetíveis devido a estarem em maior contato com o solo e pela prática de geofagia, o que aumenta o potencial de infecção devido à ingestão acidental de ovos (DESPOMIER, 2003). A infecção parasitária nas crianças pode resultar em deficiências nutricionais, prejudicando desenvolvimento físico e mental (VINHA, 1975; GURGEL et al., 2005).

No Brasil, pesquisas têm demonstrado a contaminação dos solos de praças e creches por ovos de nematódeos gastrintestinais em diversas cidades (OLIVEIRA et al., 2007; ARAUJO et al., 2008), sendo esta também a realidade a nível mundial (TRAVERSA et al., 2014), em particular em regiões menos favorecidas financeiramente e onde a assistência em saúde é precária (SILVA et al., 2007). Os estudos, destacam a presença de *Toxocara* spp. e *Ancylostomaspp.*, gêneros já descritos em amostras de solo provenientes de áreas públicas da Europa, Américas, África e Ásia (TRAVERSA et al., 2014). Os parasitos dos gêneros *Ancylostoma* e *Toxocara* são responsáveis por causar, respectivamente, a larva migrans cutânea e a larva migrans visceral em humanos. Essas zoonoses acarretam em sequelas e também em perdas econômicas com o diagnóstico e o tratamento de pacientes parasitados (PERUCA et al., 2009).

Devido a relevância das infecções parasitárias, é necessário identificar quantitativamente e qualitativamente a ocorrência de parasitos, pois dessa forma podem ser estabelecidas medidas profiláticas e educativas com o intuito de reduzir a contaminação ambiental e, conseqüentemente, melhorar a saúde de humanos e animais (ADDUM et al., 2011). Neste contexto, o trabalho avaliou a contaminação ambiental por formas parasitárias em comunidade central de Pelotas, região sul do RS.

## **Material e Métodos**

O experimento foi realizado em uma comunidade em vulnerabilidade social de Pelotas, município localizado na região sul do Rio Grande do Sul (31° 46' 19" S, 52° 20' 33" W). As amostras de solo foram processadas no Departamento de Parasitologia e Microbiologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), durante os meses de julho a agosto de 2016. A escolha do local de estudo foi em virtude de serem diagnosticados muitos animais positivos para parasitoses provenientes desta região, onde os cães e gatos recebem atendimento veterinário através de projeto de extensão da Faculdade de Veterinária (FaVet) da UFPel.

Para a avaliação parasitológica, foram coletadas amostras de solo de quatro pontos da comunidade, em cada local foram coletados 250 g de solo de quatro ângulos e do centro. As colheitas foram realizadas pela manhã, com auxílio de uma espátula e armazenadas em sacos plásticos individuais, previamente identificados, armazenados sob refrigeração e encaminhados para análise parasitológica. No laboratório, as 25 amostras foram divididas de acordo com o ponto de coleta, e cada amostra foi fracionada em cinco partes de 6 g, totalizando 100 amostras. O material foi processado pela Técnica de Caldwell & Caldwell adaptada por Gallina et al. (2011), que consiste na centrifugo-flutuação das amostras em solução de dicromato de sódio. Posteriormente, todas as amostras foram analisadas em microscópio óptico nas objetivas de 40X para a identificação dos ovos de parasitos.

## **Resultados e Discussão**

As amostras analisadas (n=100) revelaram contaminação por ovos de mais de um parasito em todos os pontos coletados (Figura 1), sendo que a contaminação múltipla já foi relatada em outros estudos (SCAINI et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2007; ROCHA et al., 2011). É relevante a contaminação do solo por diversas espécies de parasitos com potencial zoonótico, pois evidencia a possibilidade de transmissão de parasitoses ao homem e aos

animais. Outro fato importante é que os ovos de parasitos resistem no ambiente a situações adversas, como alguns produtos químicos e variações de temperatura e umidade, mantendo-se viáveis por longos períodos no solo. Essa resistência não só aumenta as chances de infecção dos hospedeiros suscetíveis, como também dificulta o controle das parasitoses (TRAVERSA, 2011).

Na avaliação das amostras, observou-se 100% de positividade em todos os pontos da comunidade analisados, havendo sempre a identificação de ao menos um ovo, cisto ou oocisto de parasito em cada ponto coletado. Entre as amostras positivas, foram identificadas formas infectantes de oocistos (30,32%), parasitos da ordem Strongylida (25,4%), ascarídeos (21,31%), *Trichuris* spp. (8,19%), *Toxocara* spp. (3,27%), Amebas (4,08%), *Cystoisospora* (3,27%), *Dioctophyma renale* (2,45%), *Giardia* (1,63%), conforme Figura 2.

As formas infectantes de parasitos mais observadas foram os oocistos (30,32%). No entanto, não foi possível determinar a espécie de todos, sendo que existe a possibilidade de alguns oocistos não serem patogênicos. Outros protozoários como Amebas, *Cystoisospora* e *Giardia* também foram observados. Dentre estes, destaca-se a importância do gênero *Giardia*, pois pode causar nos pacientes acometidos grave morbidade, principalmente em indivíduos imunocomprometidos, sendo considerado um parasito de relevante importância em saúde pública (FREGONESI et al., 2012). Além disso, os cistos de *Giardia* são resistentes a tensões ambientais e aos tratamentos convencionais da água, sendo possíveis de dispersão através da água (KARANIS et al., 2007).

Os ovos de parasitos pertencentes a ordem Strongylida compreendem diversos gêneros de nematódeos gastrintestinais de animais e humanos. A ocorrência de ovos da ordem Strongylida em 25,4% das amostras demonstra uma significativa contaminação ambiental por esses parasitos, visto que as larvas deixam os ovos após 24 a 48 horas no ambiente (NEVES, 2002), passando a não ser detectada pela técnica utilizada neste estudo. Nos cães e gatos a infecção por ancilostomídeos é frequente, sendo o *Ancylostoma* spp. o parasito mais frequente em cães nos estudos no Brasil (SCAINI et al., 2003; LABRUNA et al., 2006; MARTINS et al., 2012). Esses parasitos se destacam pelo seu potencial zoonótico e possibilidade de ocasionar a Síndrome da Larva Migrans Cutânea (BOWMAN et al., 2010). O homem se infecta através da penetração das larvas no tecido cutâneo, onde as larvas não completam o ciclo, mas permanecem migrando na pele causando dor e prurido intenso (QUASHIE E TSEGAH, 2015). Enquanto que para os animais estes parasitos apresentam grande importância, por determinarem quadros de intensa anemia quando em infecção maciça, assim como morte em filhotes devido a infecção aguda e grave anemia (ESCCAP, 2010).

A presença de ovos de ascarídeos (21,34%) pode ser atribuída à presença de diferentes hospedeiros visto que muitas espécies de animais, como cães, gatos, suínos, equinos e alguns animais silvestres, circulam na região. Além disso, em virtude da comunidade estudada apresentar precárias condições sanitárias, não se descarta a possibilidade destes ovos serem da espécie *Ascaris lumbricóides*. Este nematódeo destaca-se por ser de grande incidência no Brasil (SILVA, 2011), sendo que, no mundo, estima-se que existam mais de 980 milhões de pessoas infectadas por esse parasito (OMS, 2008).

*Toxocara* spp. é um parasito que se destaca devido a sua alta prevalência na população canina (NEVES et al. 2014) e humana (MACPHERSON, 2013). A presença de ovos de *Toxocara* spp. em 3,27% das amostras pode ser associado ao fato de os filhotes apresentarem uma maior carga parasitaria, sendo considerados fontes importantes de contaminação ambiental (FAN et al., 2013). Os animais adultos, quando infectados, apresentam a forma larval do parasito encistada nos tecidos, não eliminando ovos (BARRIGA, 1988). No entanto, a frequência de ovos de *Toxocara* spp. observada foi inferior a outros realizados na cidade de Pelotas, onde Villela et al. (2009) observou na orla da Laguna dos Patos 24,1% de amostras positivas. Gallina et al. (2011) evidenciou ser o ovo de parasito mais freqüente (62%) nas amostras de solo de um Campus Universitário, enquanto Moura et al. (2013) constatou que em áreas públicas foi o segundo parasito mais observado, sendo evidenciada a presença em 8,8% das amostras analisadas. Os ovos larvados de *Toxocara* spp. presentes no ambiente podem infectar humanos, principalmente crianças (FISHER, 2003; DESPOMIER, 2003). No homem, as larvas de *Toxocara* spp. migram pelos tecidos causando a toxocaríase, enfermidade que pode se apresentar na forma de larva migrans visceral, larva migrans ocular e larva migrans ocuta (INAN, 2006).

A ocorrência de ovos de *Trichuris* spp. em 8,19% das amostras analisadas é semelhante a outros trabalhos de solo desenvolvidos em Pelotas que também observaram a presença desse parasito em 14,7 a 3% das amostras analisadas (TAVARES et al., 2008; VILLELA et al., 2009; MOURA et al., 2013), tornando importante a presença desse helminto no município. O *Trichuris vulpis* é um parasito onipresente, com altas taxas de infecção em animais domiciliados e não domiciliados (TRAVERSA, 2011). Apesar de infreqüente, os humanos podem se infectar de forma acidental por meio da ingestão de ovos embrionados presentes no solo, alimentos ou fômites (DUNN et al., 2002).

A presença de ovos de *D. renale* em 2,45% pode ser correlacionada à presença de animais com diotofimatose no local de estudo, uma vez que essa parasitose tem sido diagnosticada em cães e gatos da região, sendo mais freqüente em animais com acesso à rua e

com hábitos alimentares pouco seletivos (KOMMERS et al., 1999; CAYE et al., 2015). Além disso, as características geográficas da comunidade, destacando-se o alto potencial hídrico, já que está localizada às margens do Canal São Gonçalo, possibilita o aparecimento dos hospedeiros paratênicos (sapos, rãs e peixes de água doce) e intermediário (anelídeo oligoqueta aquático) do *D. renale*. Assim como, possibilita o desenvolvimento dos ovos do parasito que necessita do meio aquático e temperaturas entre 14° e 30°C para que ocorra a formação da larva de primeiro estágio (MEASURES e ANDERSON, 1985; PEREIRA et al., 2006; PEDRASSANI, 2009).

A prevalência de 100% de amostras positivas nos pontos analisados nesse trabalho supera outros estudos de contaminação ambiental realizados na região sul do Brasil. Tavares et al. (2008), verificaram 33,33% de positividade para as análises de solo de 39 praças públicas e de conjuntos habitacionais da cidade de Pelotas, sendo observados ovos de *Toxocara* spp., *Trichuris* spp., família Strongyloidea e oocistos de protozoários. Villela et al. (2009), avaliaram 920 amostras de areiada praia do Laranjal (Pelotas, RS), sendo que 87% foram positivas para ovos de *Ascaris* spp., *Toxocara* spp., *Trichuris* spp. e da superfamília Strongyloidea. Moura et al. (2012), verificaram a frequência de contaminação parasitária de áreas públicas de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. Das 400 amostras, 176 (44%) apresentaram pelo menos uma forma parasitária, destacando-se os ovos de Ancilostomídeos e de *Toxocara* spp. Prestes et al. (2015), analisaram a contaminação de praças públicas de seis municípios da região sul do RS (São Lourenço, Turuçu, Cerrito, Capão do Leão, Pedro Osório e Jaguarão), sendo selecionadas 10 praças e coletadas 100 amostras no total. Após as análises, observou-se que 41% das amostras foram positivas, sendo encontrado *Toxocara* spp., principalmente, seguido da superfamília Strongyloidea e *Ascaris* spp.

No local onde foi conduzido o estudo, inúmeras pessoas sobrevivem da coleta de resíduos, sendo caracterizadas como em vulnerabilidade social. Na comunidade, é possível identificar a convivência direta de muitas crianças descalças com caninos, felinos equinos e suínos, assim como, muitos entulhos acondicionados de forma indevida. Além disso, a maior parte da população não usufrui de água canalizada, coleta de lixo e sistema de esgoto. Com isso, o local apresenta condições favoráveis para a manutenção no ambiente e disseminação de parasitoses para a população. De acordo com Vieira e Amarante (2011), o nível socioeconômico e cultural de uma população está diretamente relacionado com a prevalência das parasitoses. Índices elevados de infecção nas populações estão relacionados a fatores como o clima local, alto número de habitantes por residência, os inadequados hábitos de

higiene pessoal e com os alimentos, e ausência de saneamento básico (POSSAS, 2001; SILVA et al., 2007; VISSER et al., 2011).

Em estudos anteriores em outras comunidades em situação de vulnerabilidade social, também foi observado contaminação ambiental por formas parasitárias, evidenciando o potencial de infecção que podem estar expostos os moradores dessas comunidades. Em uma comunidade pesqueira localizada no município de Bonito, Mato Grosso do Sul, Brasil foi evidenciado a presença de ovos de *Toxocara* spp., ancilostomídeos e larvas de nematóides (BRILHANTE et al., 2013). Enquanto em uma comunidade rural localizada no Pantanal Mato-Grossense observou-se a presença de ovos de *Toxocara* spp., *Ascaris* spp., tricostrongilídeos e oocistos de protozoários (ONUMA et al., 2014).

A presença de formas parasitárias no solo também pode ser vista como um importante indicador biológico de contaminação fecal e das vias urinárias, servindo de alerta para a transmissão de outros agentes causadores de injúrias à população (SILVA et al., 1991). A prevalência de ovos de parasitos observada pode também ser associada à época do ano em que foi realizado o estudo, visto que outros autores correlacionam a temperatura ambiental e a pluviosidade com a quantidade de estruturas encontradas nas análises das areias (ROCHA et al., 2011). A partir disso, destaca-se a importância de um estudo com acompanhamento da contaminação do solo no local de estudo nas demais estações do ano.

A contaminação ambiental observada ressalta a importância de medidas de profilaxia, controle e tratamento dos animais desta comunidade a fim de conter a disseminação dos parasitos, sendo de vital importância a orientação da população.

## **Conclusão**

Conclui-se que o ambiente de comunidade em vulnerabilidade social do centro de Pelotas, RS encontra-se contaminado por ovos de nematódeos, sendo que muitos gêneros apresentam potencial zoonótico, o que representa um sério problema de saúde pública.



Figura 1 Vista parcial da cidade de Pelotas (1) e aérea da comunidade em vulnerabilidade social (2), demonstrando a localização do Ambulatório Ceval e os locais onde foram coletadas as amostras de solo para análise parasitológica.

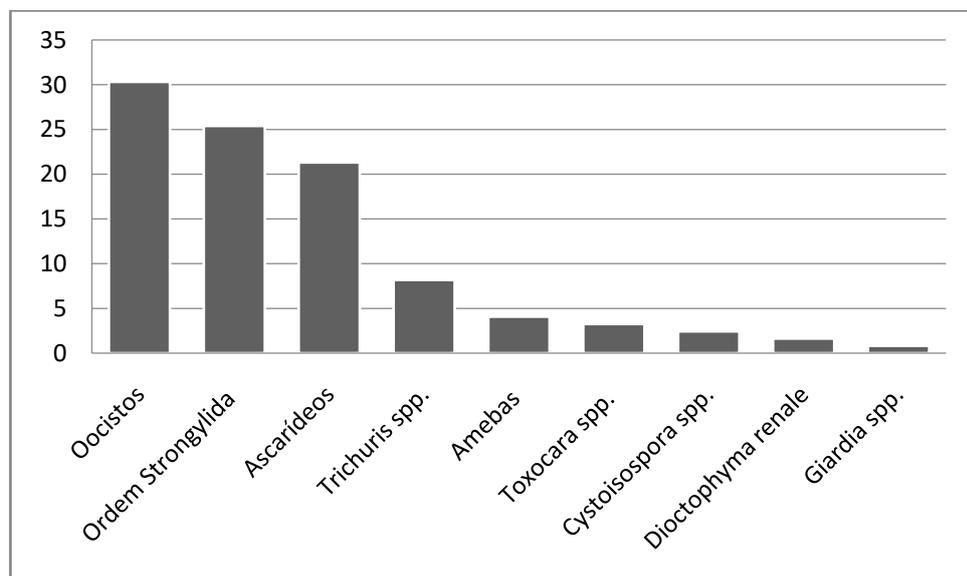


Figura 2 Porcentagem de ovos, cistos e oocistos observados nas amostras provenientes do ambiente de uma comunidade em vulnerabilidade social do centro de Pelotas, RS.

## Referências

ADDUM, F. M.; SERRA, C. G.; SESSA K. S.; IZOTON L. M.; SANTOS T. B. Planejamento local, Saúde Ambiental e Estratégia Saúde da Família: uma análise do uso de ferramentas de

gestão para a redução do risco de contaminação por enteroparasitoses no município de Venda Nova do Imigrante. **Physis**, v.21, n.3, p.955-978, 2011.doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-73312011000300011>.

ALMEIDA, A. B. P. F.; CÂNDIDO, A. C.; SOUSA, V. R. F. Larvas de helmintos em áreas de recreação de creches de Cuiabá, Mato Grosso. **Semina: Ciências Agrárias**, v.31, n.2, p. 469-472, 2010.

ARAUJO, N.S.; RODRIGUES, C.T.; CURY, M.C. Helmintos em caixas de areia em creches da cidade de Uberlândia, Minas Gerais. **Revista de Saúde Pública**, v.42, n.1, p.150-153, 2008.doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102008000100021>.

BANETH G.; THAMSBORG, S.M.; OTRANTO, D.; GUILLOT, J.; BLAGA, R.; DEPLAZES P.; SOLANO-GALLEGO, L. Major Parasitic Zoonoses Associated with Dogs and Cats in Europe. **Journal of Comparative Pathology**, v.155, n.1, p.54-74, 2016.doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2015.10.179>.

BARRIGA, O. O. A critical look at the importance, prevalence and control of toxocariasis and the possibilities of immunological control. **Veterinary Parasitology**, v. 29, n.2, p. 195-234, 1988. doi: 10.1016/0304-4017(88)90126-4

BOWMAN, D. D.; MONTGOMERY, S. P.; ZAJAC, A. M.; EBERHARD, M.L.; KAZACOS, K.R. Hookworms of dogs and cats as agents of cutaneous larva migrans. **Trends in Parasitology** v.26, n.4, p.162-167, 2010. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2010.01.005>.

BRILHANTE, A. F.; NUNES, V. L. B.; DORVAL, M. E. C. Presença de *Toxocara* spp. e ancilostomídeos em áreas de peridomicílios de uma comunidade pesqueira no Centro-Oeste do Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.50, n.1, p.71-73, 2013.doi:<http://dx.doi.org/10.11606/issn.2318-3659.v50i1p71-73>.

CAYE, P.; MILECH, V.; LIMA, C.S.; BRAGA, F. V. A.; DURANTE, L. H.; RAPPETI-PEDROZZO, J. C. S. Relato de caso sobre *Dioctophyma renale* na musculatura abdominal. In: XXIV Congresso de Iniciação Científica UFPel, 2015, Pelotas. **Anais do XXIV Congresso de Iniciação Científica UFPel**, Pelotas, 2015.

DESPOMIER D. Toxocariasis: Clinical Aspects, Epidemiology, Ecology, and Molecular Aspects. **Clinical Microbiology Reviews**, v.16, n.2, p.265–272, 2003.doi:10.1128/CMR.16.2.265-272.2003.

DOMINGUES, L.R.; CESAR, J.A.; FASSA, A.G.; DOMINGUES, M. R. Guarda responsável de animais de estimação na área urbana do município de Pelotas, RS, Brasil. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v.10, n.1, p.185-192, 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1413-81232014201.19632013>.

DUNN, J. J.; COLUMBUS, S. T.; ALDEEN, W. E.; DAVIS, M.; CARROLL, K. C.; Trichuris vulpis recovered from a patient with chronic diarrhea and five dogs. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, p. 2703–2704,2002. doi:10.1128/JCM.40.7.2703-2704.2002.

EPE, C. Intestinal nematodes: biology and control. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 39, n. 6,p. 1091-1107, 2009. doi: 10.1016/j.cvsm.2009.07.002.

FAN, C. K.; LIAO, C. W.; CHENG, Y. C. Factors affecting disease manifestation of toxocarosis in humans: genetics and environment. **Veterinary Parasitology**, v.193, p.342-52, 2013. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.12.030.

FISHER, M.*Toxocaracati*: an under estimated zoonotic agent.**Trends in Parasitology**, v. 19, n. 4, p. 167-170, 2003.doi: 10.1016/S1471-4922(03)00027-8.

FREGONESI, B.M.;SAMPAIO, C. D. F.; RAGAZZI, M. F.; TONANI, K. D. A.; SEGURAMUÑOZ, S. I. Cryptosporidium e Giardia: desafios em águas de abastecimento público. **O Mundo da Saúde**, v.36, n.4, p.602-609, 2012.

GALLINA, T.; PEREIRA, M.A.M.; CASTRO, L.L.D.; WENDT, E. W.; VILLELA, M. M.; BERNE, M. E. A Presence of eggs of *Toxocara* spp. and hookworms in a student environment in Rio Grande do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v.20, n.2, p. 41-42, 2011. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612011000200016>.

GURGEL, R.Q.; CARDOSO, G.S.; SILVA, A.M.; SANTOS, L. N. D.; OLIVEIRA, R. C. V. D. Creche: ambiente expositor ou protetor nas infestações parasitárias intestinais em Aracajú, SE. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.38, n.3, p.267–269, 2005. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822005000300014>.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Pesquisa Nacional de Saúde: 2013: acesso e utilização dos serviços de saúde, acidentes e violências: Brasil, grandes regiões e unidades da federação**. Rio de Janeiro, RJ: IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento, 2015. p. 100.

INAN, M.; SAKRU, N.; VATANSEVER, U.; BILGI, S. Visceral larva migrans presenting as acute abdomen in a child. Case Reports, **Journal of Pediatric Surgery**, v.41, n.3, p.7-9, 2006. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2005.11.081>.

KARANIS, P.; KOURENTI, C.; SMITH, H. Waterborne transmission of protozoan parasites: a worldwide review of outbreaks and lessons learned. **Journal Water and Health**, v.5, n.1, p.38, 2007. doi: [10.2166/wh.2006.002](https://doi.org/10.2166/wh.2006.002).

KOMMERS, G.D.; ILHA, M.R.S.; BARROS, C.S.L. Dióctofimose em cães: 16 casos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.3, p.517-522, 1999. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84781999000300023>.

LABRUNA, M. B.; PENA, H. F. J.; SOUZA, S. L. P. S. L. P.; PINTER, A.; SILVA, J. C. R.; RAGOZO, A. M. A.; CAMARGO L. M. A.; GENNARI, S. M. Prevalência de endoparasitas em cães da área urbana do município de Monte Negro, Rondônia. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.73, p.183-193, 2006.

LLOYD, S.; AMERSINGHE, P. H.; SOULSBY, E. J. L. Periparturient immunosuppression in the bitch and its influence on infection with *Toxocaracanis*. **Journal of Small Animal Practice**, v.24, p.237–247, 1983. doi: [10.1111/j.1748-5827.1983.tb00437.x](https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1983.tb00437.x).

MACHADO, J.D.A. C.; ROCHA, J. R.; SANTOS, L. M.; PICCININ, A. Terapia assistida por animais (TAA). **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v.10, p.1-7, 2008. doi: <http://dx.doi.org/10.7476/9788576002949>.

MACPHERSON, C. N. L. The epidemiology and public health importance of toxocariasis: A zoonosis of global importance. **International Journal for Parasitology**, v.43, n.12, p.999-1008, 2013.

MARTINS C. M.; BARROS C.; BIER D.; MARINHO A. P.; FIGUEIREDO J. M.; HOFFMANN J. L.; MOLENTO M. B.; BIONDO A. W. Dog parasite incidence and risk factors, from sampling after one-year interval, in Pinhais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.21, n.2, p.101-106, 2012. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612012000200006>.

MEASURES, L.N.; ANDERSON, R.C. Centrarchid fish as paratenic hosts of the giant kidney worm, *Diocotophyma renale* (Goeze, 1782), in Ontario, Canada. **Journal of Wild life Diseases**, v.21, n.1, p. 11-19, 1985. doi:<http://dx.doi.org/10.7589/0090-3558-21.1.11>.

MOSKVINA, T. V.; ERMOLENKO A. V. Helminth Infections in Domestic Dogs from Russia. **Veterinary Word**, p.1248–1258, 2016. doi: 10.14202/vetworld.2016.1248-1258.

MOURA, M. Q. D.; JESKE, S.; VIEIRA, J. N.; CORRÊA, T. G.; BERNE, M. E. A.; VILLELA, M. M. Frequency of geohelminths in public squares in Pelotas, RS, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.22 n.1, p.175-178, 2013.

NEVES, D.; LOBO, L., SIMÕES, P. B.; CARDOSO, L. Frequency of intestinal parasites in pet dogs from the urban area (Greater Oporto, northern Portugal). **Veterinary Parasitology**, v.200, n.3, p.295-298, 2014. doi:10.1016/j.vetpar.2013.11.005.

OLIVEIRA, C.B.; SILVA, A.S.; MONTEIRO, S.G. Ocorrência de parasitas em solos de praças infantis nas creches municipais de Santa Maria – RS, Brasil. **Revista da FZVA**, v.14, p.174-179, 2007.

ONUMA, S. S.; MELO, A. L. T.; STOCCO, M. B.; SANTARÉM, V. A.; AGUIAR, D. M. Contaminação de solo por ovos de *Toxocara* spp. e outros geohelminthos em comunidade rural do Pantanal Matogrossense, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal**

**Science**, v.51, n.1, p.78-81, 2014.doi: <http://dx.doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v51i1p78-81>.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). **Salud em las Américas**. Brasil, 2012. Available from: [http://www.paho.org/salud-en-las-americas2012/index.php?option=com\\_content&view=article&id=25&Itemid=26&lang=es%3E](http://www.paho.org/salud-en-las-americas2012/index.php?option=com_content&view=article&id=25&Itemid=26&lang=es%3E). Viewed: 3 may 2017.

PEDRASSANI, D. **Aspectos morfológicos, imunológicos e epidemiológicos do *Diocotophyma renale* em cães no distrito de São Cristóvão, Três Barras, Santa Catarina**. 2009. 118 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2009.

PEREIRA, B.J.; GIRARDELLI, G. L.; TRIVILIN, L. O.; LIMA, V. R.; NUNES, L. D. C.; MARTINS, I. V. Ocorrência de dioctofimose em cães do município de Cachoeiro do Itapemirim, Espírito Santo, Brasil, no período de maio a dezembro de 2014. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.15, n.3, p.123-125, 2006.

PERUCA, C. B. L.; LANGONI, H.; LUCHEIS, S. B. Larva migrans visceral e cutânea como zoonoses: revisão de literatura. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.4, p.601-616, 2009.

POSSAS, C.A. Social ecosystem health: confronting the complexity and emergence of infectious diseases. **Cadernos de Saúde Pública**, v.17, n.1, p.31-41, 2001. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2001000100003>.

PRESTES, L.F.; JESKE, S.; SANTOS, C. V.; GALLO M. C.; VILLELA M. M. Contaminação do solo por geohelmintos em áreas públicas de recreação em municípios do sul do Rio Grande do Sul (RS), Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v.4, n.2, p.155-162, 2015.doi: <http://dx.doi.org/10.5216/rpt.v44i2.36645>.

QUASHIE, B.N.; TSEGAH, E. An Unusual Recurrence of Pruritic Creeping Eruption after Treatment of Cutaneous Larva Migrans in an Adult Ghanaian Male: A Case Report with a Brief Review of Literature.**ThePan African Medical Journal**, v.21, p.285, 2015.doi: 10.11604/pamj.2015.21.285.5612.

ROCHA, S.; PINTO, R.M.F.; FLORIANO, A.P.; TEIXEIRA, L. H.; BASSILI, B.; MARTINEZ, A.; COSTA S. O. P.; CASEIRO, M. M. Environmental analyses of the parasitic profile found in the Sandy soil from the Santos municipality beaches, SP, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical São Paulo**, v.53, n.5, p.277-281, 2011. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652011000500007>.

ROSA JUNIOR, A.S.; ANANA, D. C.; BATISTA, M.; ACOSTA, G. S.; ATHAIDE, C.; GUTERRES, K.; STELMAKE, L. L.; CLEFF, M. B. Medicina veterinária na promoção da saúde humana e animal: ações em comunidades carentes como estratégias de enfrentamento da desigualdade social. **Revista Ciência em Extensão** v.8, p.3, 2012.

SCAINI, C.J.; TOLEDO, R.N.; LOVATEL, R.; DIONELLO, M.A.; GATTI, F.A.; SUSIN, L.; SIGNORINI, V.R.M. Environment contamination by helminth eggs and larvae in dog feces from central area of Cassino Beach, Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 5, p. 617-619, 2003. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822003000500013>.

SILVA, J.C.; FURTADO, L. F. V.; FERRO, T. C.; BEZERRA, K. C.; BORGES, E. P.; MELO, A. C. F. L. Parasitismo por *Ascaris lumbricoides* e seus aspectos epidemiológicos em crianças do Estado do Maranhão. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** [online]. v.44, n.1, p.100-102, 2011. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822011000100022>.

SILVA, J.P.; MARZOCHI, M.C.A.; SANTOS, E.C.L. Avaliação da contaminação experimental de areias de praias por enteroparasitas: pesquisa de ovos de Helminths. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.7, n.1, p. 90-99, 1991. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X1991000100008>.

SILVA, J.; PIVA, C.; FALAVIGNA-GUILHERME, A.; ROSSONI, D. F.; TOLEDO, M. J. O. Spatial distribution and enteroparasite contamination in peridomestic soil and water in the Apucarantina Indigenous Land, southern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, n.2, p.337-345, 2007. doi: [10.1007/s10661-016-5216-4](http://dx.doi.org/10.1007/s10661-016-5216-4).

TAVARES, A.L. C.; SCAINI, C. J.; MÜLLER, G.; FARIAS, N. A. R.; BERNE, M. E. A. Contaminação do solo de praças de conjuntos habitacionais por helmintos e protozoários em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. **VITTALLE**, v.20, n.1, p.59-63, 2008.

TRAVERSA, D. Are we paying too much attention to cardio-pulmonary nematodes and neglecting old-fashioned worms like *Trichuris vulpis*? **Parasites & Vectors**, v.4, p.32, 2011. doi: 10.1186/1756-3305-4-32.

TRAVERSA, D.; REGALBONO, A.F.; DI CESARE, A.; LA TORRE, F.; DRAKE, J.; PIETROBELLI, M. Environmental contamination by canine geohelminths. **Parasites & Vectors**, v.7, p.67, 2014. doi: 10.1186/1756-3305-7-67.

VIEIRA, A.C.; AMARANTE, M.K. Prevalência de helmintos no município de Ibiporã, Paraná, no período de 2004 a 2006. **Biosaúde**, v.13, n.1/2, p.23-37, 2011.

VIEIRA, T. F.; SILVA, R. S.; LEMOS, V. R.; JÚNIOR, R. R. A.; NETO, I. V. L.; VIEIRA, T. M.; SANTOS, M. R. D.; JORGE, D. V. B. O. Terapia assistida por animais e sua influência nos níveis de pressão arterial de idosos institucionalizados. **Revista de Medicina**, v.95, n.3, p.122-127, 2016. doi: <http://dx.doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v95i3p122-127>.

VILLELA, M.M.; PEPE, M.S.; FERRAZ, M.L.; DE MORAIS, N. C. M.; ARAÚJO, A. B.; RUAS, J. L.; MÜLLER, G.; BERNE, M. E. A. Nota: contaminação ambiental da orla da Laguna dos Patos (Pelotas, RS, Brasil), por parasitos com potencial zoonótico. **VITTALLE**, v.21, n.2, p.69-74, 2009.

VINHA, C. Necessidade de uma política sanitária nacional para o combate às parasitoses intestinais. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.10, p.297-301, 1975. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86821976000500005>.

VISSER, S.; GIATTI, L.L.; CARVALHO, R.A.C.; GUERREIRO, J. C. H. Estudo da associação entre fatores socioambientais e prevalência de parasitose intestinal em área periférica da cidade de Manaus (AM, Brasil). **Revista Ciência e Saúde Coletiva**, v.16, n.8, 2011. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232011000900016>.

## 4.2 Artigo 2

### **Potencial anti-helmíntico do óleo essencial de plantas da família Lamiaceae frente a ovos e larvas de *Toxocara* spp.**

Gabriela de Almeida Capella, Micaele Quintana de Moura, Natalia Berne Pinto, Soliane Carra Perera, Leonardo Mortagua de Castro, Rogerio Antonio Freitag, Marlete Brum Cleff

Artigo formatado segundo as normas da UFPel

## Potencial do óleo essencial de plantas da família Lamiaceae frente a ovos e larvas de *Toxocara* spp.

### RESUMO

As parasitoses estão entre as doenças mais frequentes nos pequenos animais, entretanto são muitas vezes subestimadas. Em virtude da conhecida problemática no controle e tratamento dos parasitos, torna-se necessário a descoberta de novas alternativas. Assim, o objetivo do estudo foi verificar a composição química e a atividade antihelmíntica *in vitro* de óleo essencial de plantas da família Lamiaceae frente ovos e larvas de *Toxocara* spp. Na análise cromatográfica dos óleos essenciais os compostos majoritários do *O. vulgare* foram 4-Terpineno, gama-Terpinene, cis-Sabinenehydrate, para *O. majorana* foram 4-Terpineol, gama-Terpinene, alpha-Terpineno e no *R. officinalis* destacaram-se  $\alpha$ -Pinene, cineol e camfor. Nos testes ovicidas o óleo essencial de *O. vulgare* apresentou eficácia superior a 90% em todas as concentrações testadas (6 a 0,18mg/mL), enquanto o de *O. majorana* nas concentrações de 6 a 0,37mg/mL mostraram uma eficácia superior a 98% e na concentração de 0,18mg/mL eficácia superior a 88%. O *R. officinalis* nas concentrações testadas (6 a 0,18%) apresentou eficácia inferior a 71,47%. Na atividade larvicida o óleo essencial de *O. vulgare* (6 a 0,37mg/mL) apresentou 100% de eficácia e o de *O. majorana* (6 a 1,5mg/mL) apresentaram uma atividade superior a 100%, enquanto o *R. officinalis* somente apresentou eficácia superior a 90% nas concentrações de 6 a 3%. Os resultados de atividade demonstraram que o óleo essencial de *O. vulgare*, *O. majorana* e *R. officinalis*, possuem atividade ovicida e larvicida frente a *Toxocara* spp.. No entanto, são necessários mais estudos visando esclarecer o mecanismo de ação e a toxicidade dessas plantas.

**Palavras-chave:** endoparasitoses; toxocara spp.; plantas medicinais; Lamiaceae, óleo essencial

### Introdução

Os parasitos são os agentes infecciosos mais frequentes em humanos nos países em desenvolvimento (HOTEZ, 2008), sendo os responsáveis por algumas das doenças infecciosas mais importantes transmitidas dos animais de companhia ao homem (BANETH, 2016). Dentre as parasitoses, destaca-se o gênero *Toxocara* spp., devido a sua alta prevalência na população canina (NEVES et al. 2014) e humana (MACPHERSON, 2013), entretanto a ocorrência em felinos pode estar sendo subestimada (FAN et al., 2013).

Os parasitos do gênero *Toxocara* spp. apresentam distribuição mundial (LESCANO, 2005; REIS 2014, MACPHERSON, 2013). Os cães e gatos são os hospedeiros definitivos, sendo os filhotes os mais susceptíveis (DUIJVESTIJN, 2016) e mais importantes na disseminação de ovos no ambiente (FAN et al., 2013). O

homem se infecta de forma acidental, desenvolvendo a enfermidade por meio da ingestão de ovos de *Toxocara* embrionados que podem estar presentes em solo ou alimentos contaminados com fezes de animais (DESPOMIER, 2003; FAN 2013). Outra forma de infecção é por meio da ingestão de carne crua ou má cozida de hospedeiros paratênicos contendo larva de terceiro estágio (STRUB, 2013; FAN, 2013; MACPHERSON, 2013).

O tratamento da Toxocaríase em humanos e animais é baseado no uso de anti-helmínticos (KOROLKOVAS, 2009). No entanto, não existe um consenso quanto a eficácia dos fármacos no tratamento da Toxocaríase (MAGNAVAL E GLICKMAN, 2006). Atualmente, existe uma tendência no tratamento das parasitoses de cães e gatos com anti-helmínticos de amplo espectro e de forma regular. Esta prática pode estar contribuindo para o estabelecimento de resistência dos parasitos aos fármacos disponíveis (THOMPSON, 2001), assim como já descrito com os parasitos gastrintestinais de animais de produção (OLIVEIRA; LESTINGI, 2011). Nesse contexto, estudos vêm sendo desenvolvidos com *Toxocara* spp., objetivando obter novas formas de controle da parasitose em humanos e animais utilizando plantas medicinais (RAMOS, 2015; SA-NUNES et al., 2006; GUAQUE, 2010; REIS 2010; CAROCCIA 2013; MOUDGIL et al., 2015).

A utilização de plantas para tratar e curar enfermidades é uma prática antiga (AL-SEREIT et al., 1999), entretanto, nos países em desenvolvimento estima-se que 80% da população dependa de plantas e fitoterápicos para a prevenção e tratamento das enfermidades (PEREIRA e ALBEIRO, 2015; MATOS, 2014). Contudo, frequentemente as plantas medicinais são utilizadas de forma indiscriminada, devido as escassas informações sobre a posologia e os efeitos adversos (VIERA CEZAR et al., 2008).

Dentre as plantas da família Lamiaceae, as espécies *Origanum vulgare* e *Origanum majorana* e *Rosmarinus officinalis* se destacam por apresentarem um amplo espectro de atividades biológicas tanto na forma de óleos essenciais, como na forma de extratos (GAYATHIRI, 2016). Estudos com plantas dessa família já foram realizados visando demonstrar o potencial anti-helmíntico (PENSEL, 2014; DIAS DE CASTRO, 2013; FORCE, 2000; GIANNENAS, 2003; ABE et al., 2002; ALBANI et al., 2014). Entretanto, não existem trabalhos descrevendo a utilização dessas plantas frente a *Toxocara* spp. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi

determinar a composição química e avaliar a atividade ovicida e larvicida dos óleos essenciais de *O. vulgare*, *O. majorana* e *R. officinalis* frente ao gênero *Toxocara*.

## Metodologia

As plantas *Origanum vulgare* (orégano), *Origanum majorana* (manjerona) e *Rosmarinus officinalis* (alecrim) utilizadas no estudo foram obtidas de distribuidor comercial (Luar Sul®) com certificação de qualidade e origem. Os óleos essenciais foram extraídos no Laboratório de Química Orgânica da UFPel. Para a obtenção dos óleos essenciais foram utilizados 100 g das folhas secas de cada planta e submeteu-se à extração com arraste de vapor em aparelho do tipo Clevenger durante 4 horas, sendo realizadas em triplicata. Após a extração, os óleos obtidos foram secos com sulfato de sódio anidro e armazenados em frascos âmbar.

Os óleos essenciais obtidos foram submetidos à análise cromatográfica em um equipamento GC/MF (Schimadzu, QP 2010) contendo uma coluna capilar Rtx-5MS Restek (30 mx 0,25 mm x 0 25 microns) A composição fitoquímica e os compostos majoritários de *O. vulgare*, *O. majorana* e *R. officinalis* foram identificados através da comparação entre o tempo de retenção dos padrões e das amostras, usando o NIST08 biblioteca de GC / MS.

Para a obtenção dos ovos do parasito, administrou-se Febantel (0,014g/ml) e Pamoato de Pirantel (0,015mg/ml) na dose de 1ml/Kg a filhotes dos Hospital de Clínicas Veterinária –HCV/FaVet, com idade entre 30 e 45 dias. Após foram coletados os parasitos expulsos, juntamente com as fezes dos animais. As amostras obtidas foram mantidas refrigeradas e encaminhadas para o Laboratório de Helminologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia - IB (UFPel). No laboratório, foram retirados os *Toxocara* spp. adultos e realizada separação por sexo. Nos parasitos fêmeas foram realizadas histerectomias para a recuperação dos ovos. Os ovos foram lavados em tampão PBS e incubados em solução de formalina a 2%, com temperatura de 28°C e 80% de umidade, sob aerações diárias, durante 30 dias.

As larvas de terceiro estágio de *Toxocara* spp. foram obtidas de ovos embrionados utilizando uma solução de hipoclorito de sódio a 5% P.A. para dissolução das membranas dos ovos. Após as larvas de *Toxocara* spp. foram recolhidas por meio em tubos estéreis e meio RPMI-1640 suplementado com

HEPES 25mM, glicose a 1%, penicilina 100 UI/mL, estreptomicina 100 µg/mL e fungizona 50 µg/mL. As amostras foram mantidas em estufa a 37 °C com 5% de tensão de CO<sub>2</sub>.

Nos testes de eficácia dos três óleos essenciais, foram utilizadas placas de microcultivo de 24 poços. Os óleos essenciais foram, separadamente, solubilizados em Tween 0,5% e dissolvidos em água destilada estéril. Nos orifícios testes foi adicionado, separadamente, o óleo das plantas testadas em seis concentrações de *O. vulgare*, *O. majorana* e *R. officinalis* (6mg/ml a 0,18mg/ml), juntamente com a suspensão contendo aproximadamente 100 ovos de *Toxocara spp.* Os ensaios foram acompanhados de um controle negativo contendo cloridrato de Tiabendazole (0,025 mg/mL) e dois controles positivos contendo água destilada e Tween 0,5%.

Todos os tratamentos nos testes ovicidas, foram realizados em quadruplicata e as placas lacradas com filme plástico e incubadas em estufa B.O.D. a 28°C com 80% de umidade relativa por trinta dias. Após esse período, foram realizadas as leituras das placas com o auxílio de um microscópio de luz invertida.

Os testes de atividade larvicida foram realizados em placas de microcultivo de 96 poços, onde foram distribuídas a suspensão contendo de 100 a 150 larvas de *Toxocara spp.* juntamente com as sete concentrações dos três óleos essenciais (6mg/ml a 0,09mg/ml). Ambas as soluções foram dissolvidas em meio de cultivo RPMI-1640. Para a dissolução do óleo essencial no meio RMPI foi utilizado Tween 0,5%. Os testes foram acompanhados de três controles positivos contendo RPMI, Tween 0,5% e óleo mineral. Além de dois controles negativos com Cloridrato de Tiabendazole (0,025mg/ml) e com larvas congeladas. Para a obtenção das larvas do controle de larvas congeladas, 100 larvas foram mantidas overnight na temperatura de -4°C e após foram incubadas nas mesmas condições do restante dos tratamentos. O controle de larvas congeladas objetivou verificar o efeito do indicador de viabilidade larval (Corante Azul de Tripán 0,4%). Os testes foram realizados em triplicata e as placas lacradas com filme plástico e incubadas por 48 horas em estufa a 37°C, em tensão de CO<sub>2</sub> de 5%. Após esse período, foi adicionado um indicador de viabilidade larval (Corante Azul de Tripán 0,4%). A avaliação da viabilidade larval foi realizada por microscopia de luz (100x e 400x), sendo consideradas não viáveis as larvas que foram impregnadas pelo corante e viáveis as larvas que não foram impregnadas.

Os resultados dos testes ovicidas foram expressos pela média percentual da inibição de embrionamento, sendo a eficácia de cada tratamento determinada conforme a equação: % de inibição do embrionamento =  $n^{\circ}$  de ovos não embrionados x no total de ovos<sup>-1</sup> x 100. Os testes larvicidas foram expressos pelo percentual de atividade larvicida, sendo a eficácia determinado conforme a equação % de eficácia larvicida =  $n^{\circ}$  de larvas coradas x  $n^{\circ}$  total de larvas<sup>-1</sup> x 100.

## Resultados e discussão

Nos testes de atividade ovicida (Figura 1) o óleos essenciais de *O. vulgare* apresentou eficácia superior a 90% em todas as concentrações testadas. Nas concentrações superiores ou igual a 0,37mg/mL apresentou 100% de inibição de embrionamento e na menor testada (0,37mg/mL) foi observado 92,63% de inibição de embrionamento. O óleo essencial de *O. majorana* (Figura 1) nas concentrações de 6 a 0,37mg/mL mostraram inibição de embrionamento superior a 98%. A concentração de 0,09mg/mL de *O. majorana* foi menos eficaz. No entanto, mesmo na menor concentração testada, manteve-se superior a 88,15%. A proporção de inibição de embrionamento dessas plantas foi proporcional a diminuição da concentração do óleo essencial utilizado.

O óleo essencial de *R. officinalis* apresentou menor proporção de inibição de embrionamento nas diferentes concentrações analisadas quando comparado aos óleos de *O. vulgare* e *O. majorana*. Em todos os tratamentos, a porcentagem de embrionamento dos ovos não apresentou muita variação após os 30 dias de incubação. O controle de água destilada apresentou 63,47% de embrionamento e o de Tween 0,05% 68%, enquanto tiabendazol demonstrou 100% de inibição de embrionamento após 30 dias de incubação.

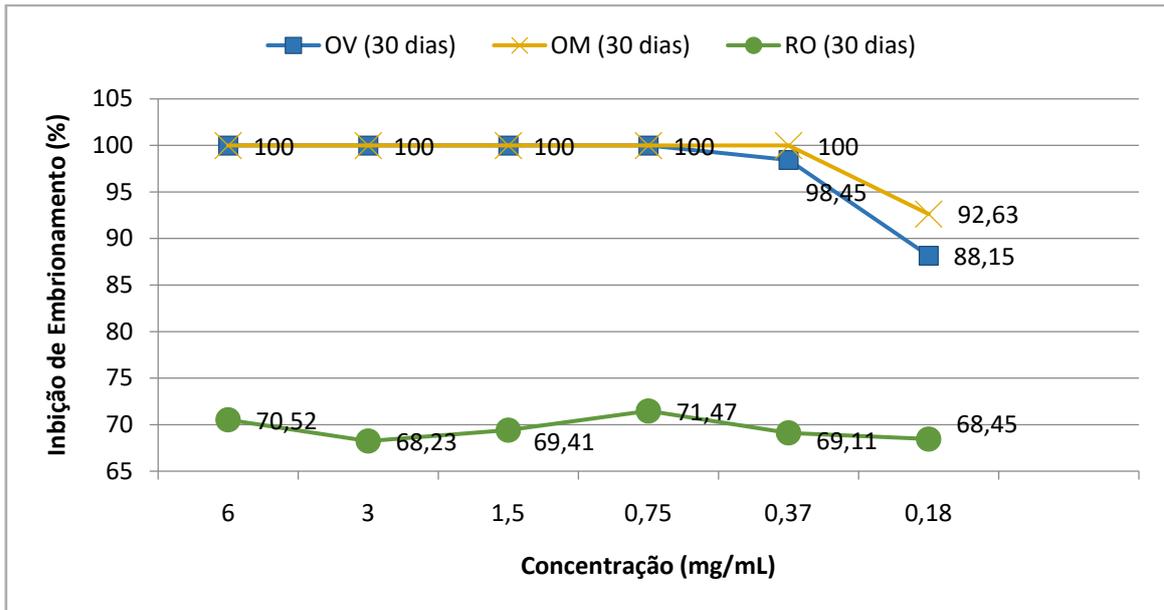


Figura 1 Porcentagem de inibição de embrionamento dos ovos de *Toxocara spp.* submetidos a diferentes concentrações dos óleos essenciais após 30 dias de incubação com *Origanum vulgare* (OV), *Origanum majorana* (OM) e *Rosmarinus officinalis* (RO).

Com relação aos testes de atividade larvicida (Figura 2) o óleo essencial de *O. vulgare* destacou-se com 100% de atividade (6mg/mL a 0,37mg/mL) seguido de *O. Majorana* (6mg/mL a 1,5mg/mL) que apresentaram 100% de atividade, não diferindo do controle com larvas congeladas. O óleo essencial de *R. officinalis*, nas concentrações de 6 e 3mg/mL apresentou atividade larvicida entre 95,13 e 97,97%, sendo menor que *O. vulgare* e *O. majorana*, entretanto a partir da concentração de 1,5 mg/mL foi ineficaz.

O controle positivo, contendo larvas em meio RPMI, apresentou uma atividade larvicida de 2,66%. Também foram realizados controles com óleo mineral e diferentes concentrações de anti-helmíntico tiabendazol (0,1 a 0,025%). O teste com óleo mineral não apresentou diferença estatística significativa do tratamento com o meio RPMI. Nos testes com anti-helmíntico somente foi observado atividade larvicida na maior concentração (0,1%), sendo que as concentrações 0,05% e 0,025% não diferiram do controle com RPMI.

Estudos prévios do grupo de pesquisa vêm demonstrando excelentes perspectivas na utilização destes óleos essenciais como antiparasitários (AZAMBUJA, 2015; PERERA, 2016). A inibição da eclobilidade dos ovos de *Ancylostoma spp.* foi demonstrada ao testar óleos essenciais das três plantas, sendo que todos óleos levaram a 100% de inibição em diferentes concentrações,

destacando-se *O. vulgare* (10mg/ml a 2,48mg/ml) e *O. majorana* (15mg/ml a 3,72mg/ml), seguido de *R. officinalis* (12,5mg/ml)(AZAMBUJA, 2015).A eficácia de 100% dos óleos essenciais das três plantas também foi observada em *Dioctophyma renale*, quando utilizou-se concentrações superiores a 0,37%, sendo que os óleos de *O. vulgare* e *O. majorana* demonstraram maior atividade anti-helmíntica (PERERA, 2016).

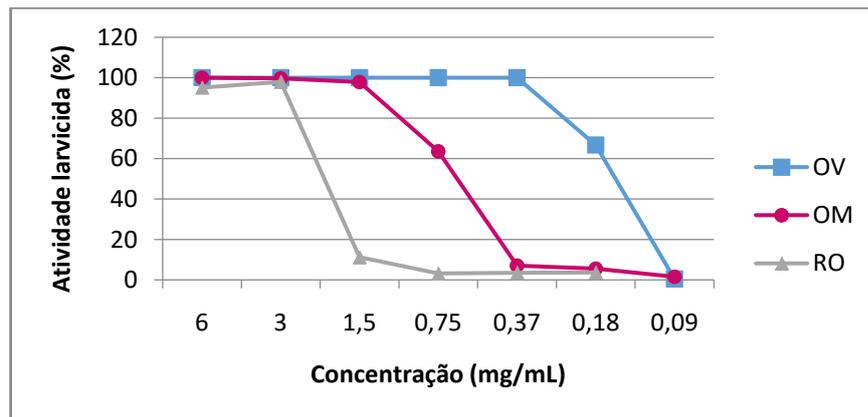


Figura 2. Porcentagem média de atividade larvívora em *Toxocara spp.* dos óleos essenciais de *Origanum vulgare* (OV), *Origanum majorana* (OM) e *Rosmarinus officinalis* (RO) em diferentes concentrações.

Outros autores também observaram atividade antihelmíntica utilizando óleos essenciais de plantas da família Lamiaceae frente a parasitos. A maioria dos estudos, objetivam demonstrar eficácia do óleo essencial de orégano. Nesse contexto, foram realizados estudos *in vitro* com *O. vulgare* frente a ovos de *Ascaridia galli* (VILLANUEVA et al., 2015), frente a protoescolex e cistos de *E. granulosus in vitro* *in vivo* (PENSEL et al., 2014). Assim como, estudos *in vivo* em parasitos entéricos humanos (*Blastocystis hominis*, *Entamoeba hartmanni* e *Endolimax nana*) (FORCE et al., 2000) e o efeito anticoccidiano contra *Eimeria tenella* em frangos de corte (GIANNENAS et al., 2003), foram desenvolvidos.

O óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* demonstrou eficácia *in vitro* frente células larvais de *E. granulosus* (ALNANESE, 2009; ALBANI, 2014). Em relação ao óleo essencial de *Origanum majorana* não foram encontrados estudos demonstrando potencial anti-helmíntico, contudo, foi eficaz inseticida frente a larvas de *Anopheles labranchiae* (EL-AKHAL, 2016).

A expressiva atividade larvívora e ovívora observada no óleo essencial de *Origanum vulgare*, *Origanum majorana* e *Rosmarinus officinalis* pode ser explicada pela composição química das plantas. Dessa forma, destaca-se a importância da

identificação dos compostos químicos presentes nos óleos essenciais das plantas medicinais.

Na análise cromatográfica do óleo essencial de *O. vulgare* foram identificados 24 compostos, sendo os compostos majoritários 4-Terpineno (20,9%), gama-Terpinene (14,16%), cis-Sabinenehydrate (10,45%), alpha-terpineno (8,63%) e thymol (8,42%), o que está de acordo com outros estudos (CLEFF, 2010; SANTIN, 2014). Assim como também já foram identificados  $\gamma$ -terpineno, 4-terpineol e hidroxy-p-cymene como os compostos majoritários (SILVA, 2016). No óleo essencial de *O. majorana* foram identificados 23 compostos através da análise cromatográfica, destacando-se 4-Terpineol (34,9%), gama-Terpinene (14,28%), alpha-Terpineno (9,60%), cis-Sabinenehydrate (6,81%) e alpha-Terpineol (5,86%), diferente de estudos anteriores onde foram evidenciados 4-terpineol, 4-carene e 5-isopropyl-2-methylbicyclo como majoritários (GUTERRES, 2014; SILVA, 2016). No óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* foram identificados 16 compostos, sendo o cineole (47,91%),  $\alpha$ -Pinene (11,52%), camfor (17,92%), isoborneol (5,43%) e alpha-Terpineol (4,08%) os majoritários, semelhante aos compostos identificados por Silva (2016).

A maioria dos estudos com plantas medicinais como perspectiva no tratamento de parasitoses vem utilizando extratos aquosos ou alcoólicos. No entanto, os óleos essenciais de plantas também podem ser eficazes no tratamento ou prevenção de doenças parasitárias (ANTHONY et al., 2005). Os óleos essenciais apresentam características como baixa densidade e alta solubilidade lipídica. Essas propriedades permitem aos óleos apresentarem uma rápida difusão através das membranas celulares e um maior direcionamento dos componentes ativos para os parasitos (BOYOM, 2003).

Diversos estudos vem demonstrando que a atividade de uma planta medicinal está diretamente relacionada com a composição química e a interação entre os componentes presentes, sendo que alguns autores tem evidenciado a ação de compostos isolados e os mecanismos de ação destes (SARKOZI et al., 2007; SANTOS). Sárközi e colaboradores (2007), demonstraram que o timol apresenta capacidade de inibir a atividade da acetilcolinesterase, assim como influencia na liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático dos miócitos afetando a excitação e contração muscular, o que poderia levar a paralisia da larva dos parasitas. A presença do 4-terpineol pode ter importante influencia na atividade observada, pois

por ser um álcool terpênico, apresenta hidroxilas polares capazes de fazerem ligações de hidrogênio, podendo atuar induzindo a deformações em membranas celulares, alterando conseqüentemente sua permeabilidade. Essa ação poderia ter ocorrido no caso das larvas, favorecendo a atividade dos óleos de *O. vulgare* e *O. majorana*, uma vez que estudos já demonstraram sua ação larvicida (SANTOS, 2014).

O efeito ovicida e larvicida em *Haemonchus contortus* foi relacionado a alta concentração de 1,8-cineol associado a outros componentes presentes no óleo essencial de *Eucalyptus globulus*, justificando a ação devido ao composto ser altamente hidrofóbico o que causaria danos na membrana celular (Macedo et al., 2009).

Em relação a atividade larvicida, estudos com outras plantas medicinais vêm sendo desenvolvidos, visando obter novas formas de controle da parasitose em humanos e animais. No entanto, esses estudos não utilizaram óleo essencial, sendo demonstrado potencial anti-helmíntico frente a larvas de *Toxocara* spp. os extratos de *Chenopodium ambrosioides*, *Curcuminae*, *Argemone mexicana* e *Carica papaya* (REIS et al., 2010; CAROCCIA et al., 2013; RAMOS et al., 2005).

A conformação morfológica dos ovos de *Toxocara* spp. confere aos ovos extrema resistência a condições ambientais e aos agentes químicos (BOUCHET 1986; AYÇIÇEK, 2001; MORRONDO, 2006). Dessa forma, os ovos podem permanecer viáveis por longos períodos no ambiente (LLOYD, 1983), sendo uma realidade conhecida a contaminação por ovos de *Toxocara* spp. em locais de recreação no Brasil e no mundo (HABLUETZEI, 2003; MACPHERSON, 2013; COLLI et al., 2010). Esse fato, associado ao potencial zoonótico da Toxocaríase ressalta a importância do estabelecimento de métodos que interrompam o ciclo do parasito no ambiente e diminuam a contaminação ambiental. Dessa forma, destaca-se a importância da eficácia do óleo essencial de orégano e de manjerona na inibição do embrionamento de ovos de *Toxocara* spp.

## **Conclusões**

Os resultados demonstraram que o óleo essencial de *Origanum vulgare*, *Origanum majoranae* e *R. officinalis* possuem atividade ovicida e larvicida frente ao gênero *Toxocara*.

## Referências

ABE, Y. T.; NAGAO T.; KINJO J.; et al. Ursolic acid as a Trypanocidal Constituent in Rosemary. **Journal Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.25, n.11, p.1485-1487, 2002.

BOUCHET, F.; BOULARD, Y.; BACCAIN, D.; et al. Ultrastructural studies of alterations induced by microwaves in *Toxocaracanis* eggs: prophylactic interest. **Parasitology Research**, v.72, n.6, p.755-764, 1986.

AYÇIÇEK, H.; YARSAN, E.; SARIMEHMETOOLUHO.; et al. Efficacy of Some Disinfectants on Embryonated Eggs of *Toxocaracanis*. **Journal Scientific and Technological Research Council of Turkey**, v.31, p.35–39, 2001

ALBANESE, A.A.; ELISSONDO, M.C.; GENDE, L.; et al. Echinococcus granulosus: In vitro efficacy of *Rosmarinus officinalis* essential oil on protoscoleces. **International Journal of Essential Oil Therapeutics**, v.3, n.2-3, p.69-75, 2009.

ALBANI, C.M.; DENEGRI, G.M.; ELISSOND, M.C. "Effect of Different Terpene-Containing Essential Oils on the Proliferation of *Echinococcus granulosus* Larval Cells," **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, vol. 2014, Article ID 746931, 7 pages, 2014. doi:10.1155/2014/746931

AL-SEREITI, M. R.; ABU-AMER, K. M.; SEN, P. Pharmacology of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. **Indian Journal Experimental Biology**, v.37, p.124–130, 1999.

ANTHONY, J. P.; FYFE, L., & SMITH, H, Plant active components – a resource for antiparasitic agents? **Trends in parasitology**, v. 21, n.10, p.462-468, 2005.

BANETH G.; THAMSBORG, S.M.; OTRANTO, D.; et al. Parasitic Zoonoses Associated with Dogs and Cats in Europe. **Journal of Comparative Pathology**, v.155, n.1, p.54-74, 2016.

BOYOM, F.F. et al. Composition and anti-plasmodial activities of essential oils from some Cameroonian medicinal plants. **Phytochemistry**, v.64, p.1269–1275, 2003

CAROCCIA, G. H. G.; RODOLPHO, J. M. A.; OLIVEIRA, S. R. P.; CAMILLO, L; MAGALHAES, L. G.; ANIBAL, F. F. Atividade dos compostos curcumina e

albendazol contra o nematódeo *Toxocara canis* *in vitro*. **Revista Saúde** (Ung. Online), v.7, p.11-16, 2013.

CLEFF, M.B.; MEINERZ, A.R.M; FARIA, R.O. et al. Atividade inibitória do óleo essencial de orégano em fungos de importância médica e veterinária. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.62, p.1291-1294, 2010.

COLLI, C. M.; RUBINSKY-ELEFANT, G.; PALUDO, M. L.; et al. Serological, clinical and epidemiological evaluation of toxocaríasis in urban areas of south Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v.52, n.2, p.69-74, 2010.

DEL PILAR GUAUQUE, M.; CASTAÑO, J. C.; GÓMEZ, M. Detecção de metabolitos secundários em *Ambrosia peruviana* Willd y determinación de La actividad antibacteriana y antihelmíntica. **Revista Infectio**, v.14.3, p.186-194, 2010.

DESPOMIER D.; Toxocaríasis: Clinical Aspects, Epidemiology, Ecology, and Molecular Aspects. **Clinical Microbiology Reviews**, v.16, n.2, p.265–272, 2003.

DIAS DE CASTRO, L.; MADRID, I. M.; AGUIAR, C. L. G.; et al. POTENCIAL OVICIDA DE *Origanum vulgare* (Lamiaceae) EM NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DE BOVINOS. **Ciência Animal Brasileira** (Online), v.14, p.508-513, 2013.

DUIJVESTIJN, M.; MUGHINI-GRAS, L.; SCHUURMAN N.; SCHIJF, W.; WAGENAAR J. A.; Egberink, Herman Enteropathogen infections in canine puppies: occurrence, clinical relevance and risk factors. **Veterinary Microbiology**, Vol.195, pp.115-122, 2016.

EL-AKHAL, F. O. U. A. D.; KHALID, T.; RAJA, G.; et al. Larvicidal activity of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum majorana* (Lamiaceae) against of the malaria vector *Anopheles labranchiae* (Diptera: Culicidae). **International Journal of Pharmaceutics**, v.8, n.3, p.372-376, 2016.

FAN, C.K.; LIAO, C.W.; CHENG, Y.C. Factors affecting disease manifestation of toxocarosis in humans: genetics and environment. **Veterinary Parasitology**, vol.193, p.342-52, 2013.

FORCE, M.; SPARKS, W.S.; RONZIO, R.A. Inhibition of Enteric Parasites by Emulsified Oil of Oregano *in vivo*. **Phytotherapy Research**, v.14, n.3, p.213 -214, 2000.

GIANNENAS, I.; FLOROU-PANERI, P.; PAPAZHARIADOU, M.; et al. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. **Archives of Animal Nutrition**, v. 57, n. 2, p. 99-106, 2003.

GUTERRES, K. A. **Microrganismos de lesões cutâneas de pequenos animais: Resistência a antimicrobianos e bioprospecção de extratos de plantas da família Lamiaceae e Fabaceae**. 2015. 97f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

HABLUETZEL, A.; TRALDI, G.; RUGGIERI, S. et al. An estimation of *Toxocara canis* prevalence in dogs, environmental egg contamination and risk of human infection in the Marche region of Italy. **Veterinary Parasitology**, v.113, n.3-4, p.243-52, 2003.

HOTEZ, P.J.; BRINDLEY, P.J.; BETHONY, J.M.; et al. Helminth infections: the great neglected tropical diseases. **The Journal of Clinical Investigation**, v.118, n.4, p.1311-1321, 2008.

LESCANO, S.Z.; CHIEFFI, P.P.; AMATO NETO, V.; et al. Anti-helmínticos na toxocaríase experimental: efeito na recuperação de larvas de *Toxocara canis* e na resposta humoral. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. Rio de Janeiro, v.41, n.1, p.21-24, 2005.

MACEDO, I. T. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; OLIVEIRA, L. M. B. et al. Ovicidal and larvicidal activity in vitro of *Eucalyptus globulus* essential oils on *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.18, n.3, p.62-66, 2009.

MACPHERSON, C.N.L. The epidemiology and public health importance of toxocaríasis: A zoonosis of global importance. **International Journal for Parasitology**, v.43, n., p.999-1008, 2013.

MAGNAVAL, J.F.; GLICKMAN, L.T. Management and treatment options for human toxocaríasis. In: Holland, C.V., Smith, H.V. (Eds.), *Toxocara: The Enigmatic Parasite*. Oxfordshire, CAB International, p.113–126, 2006.

MATOS, C. B. Eficácia de extratos vegetais na desinfecção de superfícies contaminadas com fungos do complexo *Sporothrix*. 2014. f. 83. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

MORRONDO, P.; DÍEZ-MORRONDO, C.; PEDREIRA, J. et al. *Toxocara canis* larva viability after disinfectant – exposition. **Parasitology Research**, p.558-561, 2006.

PEREIRA, A. V. G.; ALBIERO, A. L. M. A valorização da utilização de plantas medicinais na atenção básica: oficinas de aprendizagem **Arquivos do Mudi**, v19, n.2/3, p.23-42, 2015.

REIS, M., TRINCA, A., FERREIRA, M. J. U., et al. *Toxocara canis*: potential activity of natural products against second-stage larvae in vitro and in vivo. **Experimental parasitology**, v. 126, n.2, p.191-197, 2010.

MAGNAVAL, J.F.; GLICKMAN, L.T. Management and treatment options for human toxocariasis. In: Holland, C.V., Smith, H.V. (Eds.), *Toxocara: The Enigmatic Parasite*. Oxfordshire, CAB International, p.113–126, 2006.

OLIVEIRA, R.O.; LESTINGI, V. Resistência parasitária em helmintos intestinais de cães: a importância do tratamento adequado e o papel do clínico na prevenção deste problema. **Atualização em Parasitologia**, v.1, n.5, 2011.

OVERGAAUW, P. A.; VAN KNAPEN, F. Veterinary and public health aspects of *Toxocara* spp. **Veterinary Parasitology**, v.193, n.4, p.398-403, 2013.

PENSEL, P. E., et al. Efficacy of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* on *Echinococcus granulosus*. *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases*, 2014.

PERERA, Soliane Carra. **Identificação de ovos de *Diectophyma renale* no ambiente e na urina de cães e gatos de Pelotas, e avaliação in vitro de extratos vegetais da família Lamiaceae sobre os ovos do nematódeo**. 2016. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Bioprospecção) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

RAMOS, I. S.; SANTOS, A. P.; LIZAMA R. S. et al. Actividad toxocaricida de plantas cubanas. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 67, n.3, 2015.

SANTOS, S. R. L. **Síntese e atividade de compostos potencialmente larvicidas frente ao *Aedes aegypti***. 2014. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2014.

SA-NUNES, A.; ROGERIO, A.P.; MEDEIROS, A.I. et al. Modulation of eosinophil generation and migration by *Mangifera indica* L. extract (Vimang®). **International Immunopharmacology**, v.6, n.9, p.1515-1523, 2006.

SANTIN, R.; GIORDANI, C.; MADRID, I. M.; et al. Antifungal activity of *Origanum vulgare* essential oil against *Malassezia pachydermatis*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.2, p.367-373, 2014.

SANTORO, G.F.; CARDOSO, M.G.; GUIMARÃES, L.G. et al. Anti-proliferative effect of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (lemongrass) on intracellular amastigotes, bloodstream trypomastigotes and culture epimastigotes of *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida). **Parasitology**, v.134, p.1649-1656, 2007.

SÁRKÖZI, S., ALMÁSSY, J., LUKÁCS, B., DOBROSI, N., NAGY, G., & JÓNA, I. Effect of natural phenol derivatives on skeletal type sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase and ryanodine receptor. **Journal of muscle research and cell motility**, v. 28, n. 2-3, p. 167-174, 2007.

SILVA, Cristine Cioato da. **Estudo retrospectivo de melanomas cutâneos caninos e determinação da atividade citotóxica de produtos vegetais frente a células neoplásicas (B16F10) e não neoplásicas (MDBK)**. 2016. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

STRUBE, C.; HEUER, L.; JANECEK, E. *Toxocara* spp. infections in paratenic hosts. **Veterinary Parasitology**, v.15, n.193, v.4, p.375-89, 2013.

THOMPSON, R.C.; ROBERTS, M.G. Does pet helminth prophylaxis increase the rate of selection for drug resistance? **Trends Parasitology**, v.17, n.12, p. 576-578, 2001.

### 4.3 Artigo 3

**Atividade ovicida e larvicida de extratos hidroalcoólicos de plantas da família  
*Lamiaceae* em parasitos do gênero *Toxocara***

Gabriela de Almeida Capella, Micaele Quintana de Moura, Natalia Berne Pinto,  
Karina Guterres, Rogerio Antonio Freitag, Marlete Brum Cleff

Artigo formatado segundo as normas da UFPel

## Atividade ovicida e larvicida de extratos hidroalcoolicos de plantas da família *Lamiaceae* em parasitos do gênero *Toxocara*

### Resumo

Os parasitos acometem rebanhos e levam a grandes perdas econômicas na cadeia produtiva brasileira, assim como nos animais de companhia, onde se tem uma alta casuística de parasitoses. Assim, o objetivo do estudo foi avaliar a atividade antihemintica *in vitro* de extratos de plantas da família Lamiaceae frente ovos e larvas de *Toxocara* spp. Os extratos hidroalcoolicos de *Origanum vulgare*, *Origanum majorana* e *Rosmarinus officinalis* foram testados nas concentrações de (50 a 3,12mg/ml) frente aos ovos. Enquanto frente as larvas foram testados em concentrações de 100 a 6,25 mg/mL para *O. majorana* e *R. officinalis* para *O. vulgare* de 50 a 3,12 mg/mL. Todos extratos foram preparados no CCQFa –UFPeI. Os testes de atividade foram realizados em placas de microcultivo onde foram distribuídas as concentrações dos extratos com ovos (+100) ou larvas (100 a 150) de *Toxocara* spp.. Os ovos foram incubados em estufa B.O.D. a 28°C com 80% de umidade relativa por trinta dias e após realizou-se as leituras em microscópio de luz invertida. As larvas foram incubadas por 48 horas, em estufa a 37°C e 5% de  $CO_2$ . Após a incubação, para verificação da atividade larvicida adicionou-se Corante Azul de Tripán e a impregnação e viabilidade larval foi observada por microscopia (100 e 400x). Os extratos hidroalcoolicos *O. vulgare* e *O. majorana* (50mg/mL) demonstraram inibição de embrionamento superior a 90%, enquanto *R. officinalis* (50mg/mL) apresentou 86,9 % de inibição. Com relação a atividade larvicida dos extratos de *O. vulgare* tiveram 88,64% de atividade na concentração de 100mg/mL, *O. majorana* de 86,95% na concentração de 50mg/mL e *R. officinalis* apresentaram 97% a 99% nas concentrações de 100 a 12,5mg/mL. De acordo com o estudo os extratos hidroalcoolicos de *O. vulgare*, *O. majorana* e *R. officinalis*, possuem atividade frente a ovos e larvas de *Toxocara* spp..

**Palavras-chave:** endoparasitoses; toxocara spp.; extratos hidroalcoolicos; plantas medicinais; Lamiaceae

### Introdução

Estima-se que nos países em desenvolvimento, cerca de 80% da população dependa, de plantas medicinais e fitoterápicos para a prevenção e tratamento das enfermidades (PEREIRA e ALBEIRO, 2015; MATOS, 2014). A expressiva utilização das plantas pela população e a crescente ineficácia dos medicamentos alopáticos motivam a manutenção e ampliação dos estudos com extratos vegetais (BAKKALI et al., 2008). Neste sentido, o Brasil destaca-se por apresentar grande biodiversidade natural e possuir o correspondente a 1/5 da flora mundial (GIULIETTI, 2005; MMA, 1998).

Em virtude da conhecida problemática no controle e tratamento das parasitoses em animais, torna-se necessário a descoberta de novas opções de tratamento, com características aprimoradas (ANTHONY et al., 2005). Dessa forma, as plantas medicinais têm sido apontadas como uma alternativa para o desenvolvimento de novos agentes anti-helmínticos (HAMMOND et al., 1997; BAHMANI, 2014). Dentre as plantas estudadas, as espécies *Origanum vulgare* (orégano), *Origanum majorana* (manjerona) e *Rosmarinus officinalis* (alecrim) se destacam por apresentarem um amplo espectro de atividades biológicas tanto na forma de óleos essenciais, como na forma de outros extratos (GAYATHIRI, 2016).

Por outro lado, as parasitoses estão entre as doenças mais frequentes nos pequenos animais (OTERO et al., 2014), entretanto são muitas vezes subestimadas (ALHO, 2010), desconsiderando-se o fato de os parasitos serem responsáveis por algumas das enfermidades infecciosas mais importantes transmitidas ao homem pelos animais (BANETH, 2016). Assim, o papel dos animais de estimação como disseminadores de parasitos com potencial zoonótico deve ser considerado (MOSKIVINA e ERMOLENKO, 2016). Principalmente, em função do contato cada vez mais próximo dos animais com os humanos e a possibilidade de animais assintomáticos eliminarem formas contaminantes de parasitos (DUIJVESTIJN, 2016). Dentre os parasitos, destaca-se o gênero *Toxocara*, com uma alta prevalência na população canina (NEVES et al., 2014) e humana (MACPHERSON, 2013), não sendo encontrado nenhum trabalho na literatura com uso de extratos de plantas da família Lamiaceae com *Toxocara* spp.. Nesse contexto, esse trabalho objetivou avaliar a atividade antihelmíntica de extratos hidroalcoólicos de *O. vulgare*, *O. majorana* e *R. officinalis* frente ovos e larvas de *Toxocara* spp.

## **Material e Métodos**

O orégano (*Origanum vulgare*), manjerona (*Origanum majorana*) e o alecrim (*Rosmarinus officinalis*) utilizados no estudo foram obtidos de distribuidor comercial (Luar Sul®) com certificação de qualidade e origem. A preparação do extrato hidroalcoólico foi realizada no Laboratório de Química Orgânica da UFPel.

Para o preparo dos extratos hidroalcoólicos, utilizou-se 100g de cada planta, separadamente, e adicionou-se 500mL de álcool de cereais 70%. A tintura

permaneceu por um período de sete dias em vidro estéril hermeticamente fechado, protegido da luz e em temperatura ambiente. Uma vez ao dia era realizada agitação manual durante um minuto para favorecer a homogeneização. Após este período, a amostra foi filtrada com gaze estéril e reconstituiu-se o volume inicial com álcool de cereais 70%, resultando em uma tintura que permaneceu armazenada em frasco âmbar estéril hermeticamente fechado até o uso. Para obtenção do extrato hidroalcoólico, foi utilizado o rotaevaporador à vácuo com banho de aquecimento sob temperatura de 40°C para retirada do solvente e, restituído com metade do volume inicial com água destilada estéril.

Para a obtenção dos ovos do parasita, foram coletadas fezes de cães do canil do Hospital de Clínicas Veterinária – HCV/ FaVet, com idade entre 30 a 45 dias, após receberem tratamento antihelmíntico. As amostras obtidas foram mantidas refrigeradas e encaminhadas para o Laboratório de Helminologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia - IB (UFPel). No laboratório, foram retirados os *Toxocara* spp. adultos e realizada separação por sexo. Nos parasitos fêmeas foram realizadas histerectomias para a recuperação dos ovos. Os ovos foram lavados em tampão PBS e incubados em solução de formalina a 2% a 28°C com 80% de umidade, sob aerações diárias, durante 30 dias.

As larvas de terceiro estágio de *Toxocara* spp. foram obtidas utilizando uma solução de hipoclorito de sódio a 5% P.A., a fim de dissolver as membranas dos ovos já embrionados. As larvas de *T. canis* foram recolhidas em tubos estéreis (Gibco) para a meio de cultivo RPMI-1640 (suplementado com HEPES 25mM, glicose a 1%, penicilina 100 UI/mL, estreptomicina 100 µg/mL e fungizona 50 µg/mL). As amostras foram mantidas a 37 °C com 5% de CO<sub>2</sub>.

Os testes ovicidas foram realizados utilizando extrato hidroalcoólico das três plantas (*O. vulgare*, *O. majorana* e *R. officinalis*). Nos testes de eficácia do extrato, foram utilizadas placas de microcultivo de 24 poços e os ensaios realizados em quadruplicata. Os extratos foram dissolvidos em água destilada estéril. Nos orifícios testes foram distribuídas cinco concentrações (50 a 3,12 mg/ml) dos extratos e após adicionada a suspensão contendo aproximadamente 100 ovos de *Toxocara* spp. Os ensaios foram acompanhados de um controle negativo com cloridrato de tiabendazole (0,025 mg/mL) e um controle positivo com água destilada. As placas de microcultivo foram lacradas com filme plástico e incubadas em estufa B.O.D. a 28°C

com 80% de umidade relativa por trinta dias. Após esse período, foram realizadas as leituras das placas com o auxílio de um microscópio de luz invertida.

Os testes larvicidas foram realizados em placas de microcultivo de 96 poços, onde foi distribuída a suspensão contendo de 100 a 150 larvas de *Toxocara* spp. juntamente com cinco concentrações (100 a 6,25 mg/mL) do extrato de *O. majorana* e *R. officinalis* cinco concentrações (50 a 3,12 mg/mL) do extrato de *O. vulgare*. Os testes foram acompanhados de dois controles negativos (Cloridrato de Tiabendazol 0,025mg/mL e larvas congeladas) e um controle positivo (RPMI). Os testes foram realizados em triplicata e as placas lacradas com filme plástico e incubadas por 48 horas em estufa a 37°C, em tensão de CO<sub>2</sub> de 5%. Após esse período foi adicionado um indicador de viabilidade larval (Corante Azul de Tripán 0,4%). A avaliação da viabilidade larval foi verificada através de microscopia de luz (aumento de 100 e 400x), sendo observado a impregnação por azul de Tripán e consideradas não viáveis as larvas coradas e viáveis as larvas que não foram coradas.

Os resultados do experimento ovicida foram expressos pela média percentual da inibição de embrionamento, sendo a eficácia de cada tratamento determinada conforme a equação: % de inibição do embrionamento =  $n^{\circ}$  de ovos não embrionados x no total de ovos<sup>-1</sup> x 100. Os testes larvicidas foram expressos pelo percentual de atividade larvicida, sendo a eficácia determinado conforme a equação % de eficácia larvicida =  $n^{\circ}$  de larvas coradas x  $n^{\circ}$  total de larvas<sup>-1</sup> x 100.

## Resultados e discussão

Na avaliação *in vitro* do extrato hidroalcoólico de *O. vulgare*, *O. majorana* e *R. officinalis* sobre ovos de *Toxocara* (Figura 1) os três extratos testados apresentaram uma boa proporção de inibição de embrionamento. Podendo ser classificados como efetivo (acima de 90%) nas concentrações de 50 mg/ml para *O. vulgare* e *O. majorana*. *O. R. officinalis* na concentração de 50 mg/ml apresentou uma proporção de inibição de embrionamento de 86,9% após 30 dias de contato (*World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology-WAAVP*).

Os controles mostraram embrionamento após 30 dias de incubação para água destilada (78,94%), enquanto Tiabendazol demonstrou inibição de 100% em 30 dias de incubação. O período de embrionamento dos ovos depende das

condições de temperatura e umidade (OVERGAAUW, 2013), sendo acelerado em condições de temperatura e umidade mais elevadas (AZAM, 2011).

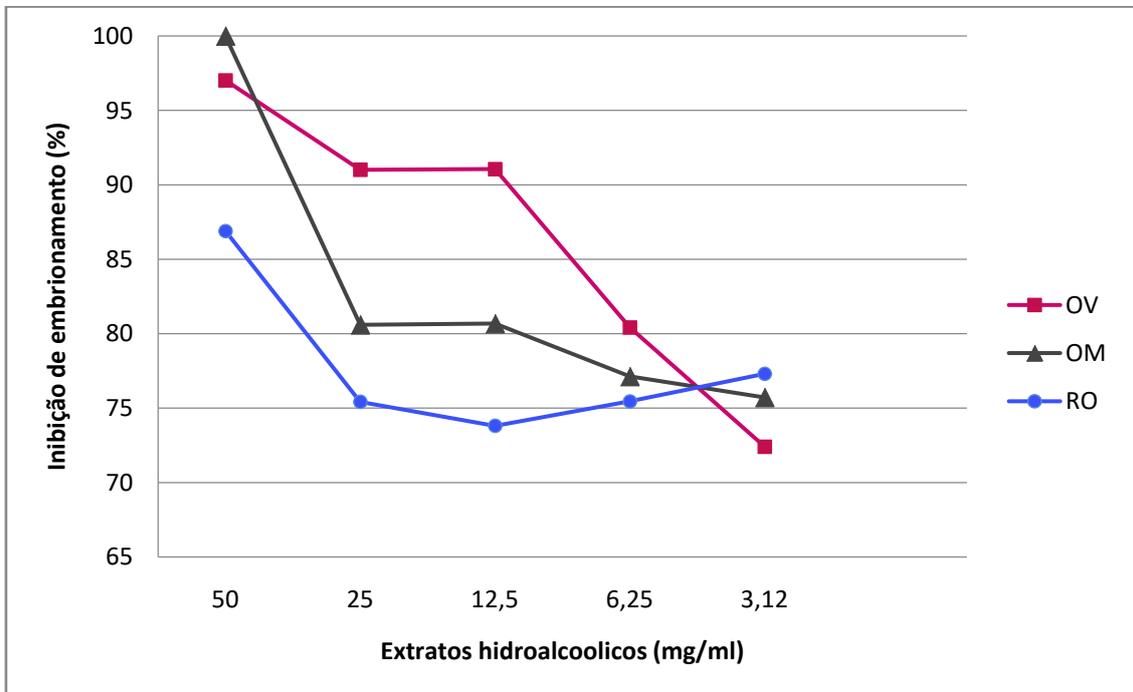


Figura 1. Porcentagem de inibição de embrionamento de ovos de *Toxocara* spp. após 30 dias de contato com diferentes concentrações (mg/ml) do extrato hidroalcoólico de *Origanum vulgare* (OV), *Origanum majorana* (OM) e *Rosmarinus officinalis* (RO).

A inibição do embrionamento de ovos de *Toxocara* spp. nos grupos tratados com 50mg/ml de *O. vulgare* e *O. majorana* foi semelhante a observada no grupo tratado com o anti-helmíntico Tiabendazol na concentração 0,025%. As outras concentrações testadas (25 a 3,12) de *O. vulgare* e *O. majorana* e as outras concentrações (50 a 3,12 mg/ml) de *R. officinalis* foram consideradas pouco efetivas ou ineficazes (WAAVP, 1982), sendo a proporção de inibição de embrionamento proporcional a diminuição da concentração do extrato avaliado.

Nos testes de atividade larvicida frente a *Toxocara* spp. nos controles negativos (larvas congeladas) houve impregnação do indicador de viabilidade larval (Figura 2). Diferente do controle de larvas vivas em que as larvas não estavam coradas, apresentavam motilidade e não apresentavam alterações na morfologia.

Nos testes controles com anti-helmíntico (0,1, 0,05 e 0,025%), somente foi observado atividade larvicida (100%) na maior concentração testada (0,1mg/ml), as demais concentrações testadas não apresentaram diferença do controle positivo

(Larvas vivas em meio RPMI-1640). O controle positivo, contendo larvas em meio RPMI, apresentou uma atividade larvicida de 5,01%.



Figura 2. Diferença de coloração entre larvas impregnadas pelo corante azul de Tripán (seta menor) e larvas não impregnadas pelo corante (seta maior).

Nos testes de atividade larvicida os extratos hidroalcoolicos de *O. vulgare*, *O. majorona* e *R. officinalis* apresentaram atividade larvicida (Figura 3). Dentre os três extratos testados, o *R. officinalis* foi mais eficaz, pois apresentou uma eficácia superior a 90% nas concentrações de 100 a 12,5mg/ml. O óleo essencial de *O. vulgare* apresentou a maior eficácia(88,64%)na concentração de 100mg/ml e o *O. majorona* (86,95%) na concentração de 50mg/ml.

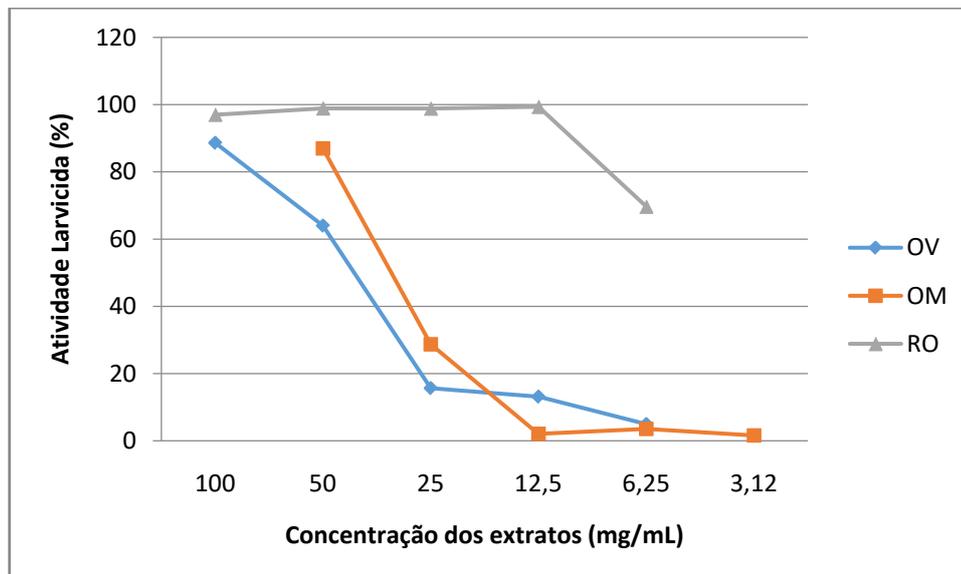


Figura 3. Atividade de diferentes concentrações (mg/ml) do extrato hidroalcoólico de *Origanum vulgare* (OV), *Origanum majorona* (OM) e *Rosmarinus officinalis*(RO) frente a larvas de *Toxocara* spp.

Existem poucos estudos que objetivem avaliar a atividade ovicida de plantas medicinais *in vitro* frente a ovos de *Toxocara* spp., sendo a maioria dos estudos avaliando a atividade larvicida das plantas (ZAMPROGNO, 2015). Entretanto Zamprogno (2015), estudando os extratos etanólicos de *Euterpe edulis*, *Mikania laevigata* e *Mikania glomerata* nas concentrações (0,1 mg / mL, 1 mg / mL e 10 mg / mL) observaram atividade ovicida em *Toxocara canis*. Outros estudos com plantas medicinais frente a ovos embrionados visando a atividade ovicida, demonstrou que a mobilidade relativa das larvas de *Toxocara canis* foi reduzida no grupo tratado com curcumina quando comparado ao albendazol (CAROCCIA et al., 2013). No trabalho de Caroccia et al. (2013), o anti-helmíntico albendazol (0,01, 0,05 e 0,1 mg/mL) não apresentou uma boa eficácia frente a ovos embrionados de *Toxocara* spp, diferindo do observado nesse estudo em que a atividade ovicida do tiabendazol na concentração de 0,1% foi de 100%, apesar desta ser maior que a concentração utilizada (0,025%) em estudos *in vitro* para este anti-helmíntico (PERERA, 2016). Em relação a Toxocaríase humana não existe consenso entre os autores sobre a eficácia da terapia antihelmíntica, sendo albendazol o anti-helmíntico frequentemente empregado no tratamento (MAGNAVALE e GLICKMAN, 2006). No entanto, alguns autores vem relatando ineficácia frente as larvas de *Toxocara* spp. (MARQUEZ-NAVARRO, 2009; REIS, 2010; CAROCCIA, 2013).

A presença de resistência dos ovos de *Toxocara* a anti-helmínticos tem sido observada, demonstrando que algumas exemplares destes parasitos vem desenvolvendo resistência aos fármacos disponíveis (CAROCCIA et al., 2013). A resistência de parasitos gastrintestinais de animais de produção é um grande problema na pecuária, mas, comparativamente, pouco tem se relatado em relação aos animais de companhia (OLIVEIRA e LESTINGI, 2011; TORRES, 2015). De acordo com Thompson (2001), um fator que pode estar contribuindo para o estabelecimento de resistência dos parasitos aos fármacos disponíveis é a tendência no mercado veterinário de apresentar associações de anti-helmínticos para o tratamento de forma periódica nos animais.

Não existem trabalhos anteriores descrevendo a utilização de plantas da família Lamiaceae frente a *Toxocara* spp. No entanto, estudos com extratos e óleos essenciais de plantas dessa família já foram realizados visando demonstrar o potencial anti-helmíntico frente a outros parasitos (PENSEL et al., 2014; CASTRO et

al., 2013; FORCE et al, 2000; GIANNENAS et al., 2003; ABE et al., 2002; ALBANI et al., 2014).

Dessa forma, a atividade larvicida dos três extratos hidroalcoolicos testados vai ao encontro de outros estudos realizados com plantas da família *Lamiaceae* frente a outros parasitos. Em relação ao extrato hidroalcoolico de plantas da família *Lamiaceae*, Castro (2013) demonstrou eficácia de *Origanum vulgare* frente a parasitos gastrintestinais de ruminantes. Abe (2002) também evidenciou o potencial anti-helmíntico de extrato hidroalcoolico de *Rosmarinus officinalis* frente a *Trypanosoma cruzi*.

Sabe-se que os gêneros *Origanum* e *Rosmarinus* apresentam diversos compostos químicos ativos, contudo, dados em literatura citam como majoritário os ácidos fenólicos e flavonóides, especialmente ácido rosmarínico, luteolina, 7-O-glicosídeo e 7-O-glucuronida, apinenina ácido carnosico, caempferol e quercetina (MARTINS et al., 2014; BLANCK et al., 2014; WALLER, 2016).

Waller et al. (2016), demonstrou a presença de ácido 4-hidroxibenzóico para os extratos hidroalcoólicos de manjerona ( $386.47 \pm 0.26 \mu\text{g g}^{-1}$ ) e alecrim ( $144.58 \pm 0.61 \mu\text{g g}^{-1}$ ), seguidos de Ácido caféico e ácido clorogênico e luteolina. O mesmo perfil químico foi observado por Proestos et al. (2005) e Cattaneo et al. (2015) para alecrim, assim como ensaios de Dorman et al. (2004), Proestos et al. (2005) e Vallverdú-Queralt et al. (2015) para manjerona. Sugere-se que o mecanismo de ação dos extratos das plantas testadas se dê por atuação direta sobre a parede celular, provocando ruptura da membrana plasmática, granulação citoplasmática e desorganização dos conteúdos celulares (BRAGA et al., 2008).

Os hospedeiros definitivos do *T. canis* e do *T. cati* são cães e gatos respectivamente, sendo que os filhotes são mais suscetíveis a infecção (DUIJVESTIJN, 2016). Além disso, costumam apresentar uma carga parasitária maior do que os animais adultos e, conseqüentemente, representam uma importante fonte de contaminação ambiental (FAN et al., 2013). Atualmente, a contaminação ambiental por ovos de *Toxocara* spp. no Brasil e no mundo é uma realidade (HABLUETZEI, 2003; MACPHERSON, 2013; BRASIL).

Assim como a alta prevalência de Toxocaríase em várias regiões do mundo, inclusive, em países desenvolvidos (MACPHERSON, 2013). Nesse contexto, ressalta-se a importância da atividade ovicida dos extratos estudados, sendo

possível sugerir que a sua utilização permita interromper o ciclo do *Toxocara* no ambiente.

## Conclusões

Os resultados demonstraram que os extratos hidroalcoolicos de *Origanum vulgare*, *O. majorana* e *R. officinalis* possuem atividade ovicida e larvicida em parasitas do gênero *Toxocara*.

## Referências

ABE, Fumiko et al. Ursolic acid as a trypanocidal constituent in rosemary. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.25, n.11, p.1485-1487, 2002.

ALBANI, C.M.; DENEGRI, G.M.; ELISSONDO, M.C. "Effect of Different Terpene-Containing Essential Oils on the Proliferation of Echinococcus granulosus Larval Cells," **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, vol. 2014, Article ID 746931, 7 pages, 2014. doi:10.1155/2014/746931

ALHO, A.M. et al. Formas larvares dos helmintas: o elo mais forte na desparasitação do cão e do gato. **Veterinary Medicine**, v.12, n.71, p.33-46, 2010.

AL-SEREITI, M. R.; ABU-AMER, K. M.; SEN, P. Pharmacology of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. **Indian Journal Experimental Biology**, v.37, p.124–130, 1999.

ANTHONY, J. P; FYFE, L., & SMITH, H, Plant active components – a resource for antiparasitic agents? **Trends in parasitology**, v. 21, n.10, p.462-468, 2005.

AZAM, D.; UKPAI, O.M.; SAID, A.; ABD-ALLAH, G.A.; MORGAN, E.R; Temperature and the development and survival of infective canis larvae. **Parasitology Research**, v.110, p.649–656, 2012.

BAHMANI, M.; RAFIEIAN-KOPAEI, M.; HASSANZADAZAR, H. et al. A review on most important herbal and synthetic antihelmintic drugs. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v.7, p.S29-S33, 2014.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D. et al. Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, v.46, n.2, p.446-475, 2008.

BANETH, G.; THAMSBORG, S. M.; OTRANTO, D. et al. Major Parasitic Zoonoses Associated with Dogs and Cats in Europe. **Journal of comparative pathology**, v.155, n.1, p.S54-S74, 2016.

BRAGA, M. R. Fitoalexinas. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Ed.). **Interação Planta Patógeno – fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular**. FEALQ, 2008, p.305-346.

CAROCCIA, G. H. G.; RODOLPHO, J. M. A.; OLIVEIRA et al. Atividade dos compostos curcumina e albendazol contra o nematódeo *Toxocara canis* in vitro. **Revista Saúde** (Ung. Online), v.7, p.11-16, 2013.

CASTRO, L. L. D.; MADRID, I. M.; AGUIAR, C. L. G. ; CASTRO, L. M. ; CLEFF, M. B. ; BERNE, M. E. A. ; LEITE, F. P. L. . POTENCIAL OVICIDA DE *Origanum vulgare* (Lamiaceae) EM NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DE BOVINOS. **Ciência Animal Brasileira** (Online), v.14, p.508-513, 2013.

CATTANEO, L., CICCIONI, R., MIGNOGNA, G. et al. Anti-proliferative effect of *Rosmarinus officinalis* L. extract on human melanoma A375 cells. **PloS one**, v.10, n.7, p e0132439, 2015.

COLLI, C. M.; RUBINSKY-ELEFANT, G.; PALUDO, M. L.; et al. Serological, clinical and epidemiological evaluation of toxocarosis in urban areas of south Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v.52, n.2, p.69-74, 2010.

DANTAS-TORRES, F.; OTRANTO, D. Cães, gatos, parasitos e humanos no Brasil: abrindo a caixa preta. **Parasites & Vectors**, v.7, n22, 2014.

DORMAN, H. D., BACHMAYER, O., KOSAR, M., & HILTUNEN, R. Antioxidant properties of aqueous extracts from selected Lamiaceae species grown in Turkey. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 4, p. 762-770, 2004.

DUIJVESTIJN, M.; MUGHINI-GRAS, L.; SCHUURMAN N.; SCHIJF, W.; WAGENAAR J. A.; Egberink, Herman Enteropathogen infections in canine puppies: (Co-)occurrence, clinical relevance and risk factors. **Veterinary Microbiology**, v.195, p.115-122, 2016.

FAN, C. K.; LIAO C. W.; CHENG, Y. C.; Factors affecting disease manifestation of toxocarosis in humans: genetics and environment. **Veterinary Parasitology**, v.193, p.342-52, 2013.

FORCE, M.; SPARKS, W.S.; RONZIO, R.A. Inhibition of Enteric Parasites by Emulsified Oil of Oregano in vivo. **Phytotherapy Research**, v.14, n.3, p.213-214, 2000.

GAYATHIRI, K.; SANGEETHA, M.; SHARANYA, V. K. et al. Review: Potential Pharmacological Uses of Natural Products from Laminaceae. **International Journal of Pharma Research e Review**, v.5, n.5, p.21-34, 2016.

GIANNENAS, I.; FLOROU-PANERI, P.; PAPAZHARIADOU, M.; CHRISTAKI, E.; BOTSOGLOU, N.A.; SPAIS, A.B. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. **Archives fur Tierernahrung**, v.57, n.2, p.99-106, 2003.

GIULIETTI, A. M.; HARLEY, R.M., QUEIROZ, L. P et al. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil **MEGADIVERSIDADE**, v.1, n.1, 2005

GUPTA, S.; KULSHRESHTH, K.; DATTA A. Bio-control of clinical fungal isolates associated with fungal keratitis using medicinal plant extract. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical**, v.4, n.4, p.544-547, 2012.

HABLUETZEL, A.; TRALDI, G.; RUGGIERI, S. et al. An estimation of *Toxocara canis* prevalence in dogs, environmental egg contamination and risk of human infection in the Marche region of Italy. **Veterinary Parasitology**, v.113, n.3-4, p.243-52, 2003.

HAMMOND, J. A., FIELDING, D.; BISHOP, S. C. Prospects for plant anthelmintics in tropical veterinary medicine. **Veterinary research communications**, v.21, n.3, p.213-228, 1997.

MACPHERSON, C.N.L. The epidemiology and public health importance of toxocariasis: A zoonosis of global importance. **International Journal for Parasitology** v.43, n.12, p.999-1008, 2013.

MAGNAVAL, J.F., GLICKMAN, L.T. Management and treatment options for human toxocariasis. *Toxocara: The Enigmatic Parasite*. Oxfordshire, CAB International, p.113–126, 2006.

MARTINS, N.; BARROS, L.; SANTOS-BUELGA, C. et al. Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of *Origanum vulgare* L.: Different performances regarding bioactivity and phenolic compounds. **Food Chemistry**, v. 158, p. 73-80, 2014.

MARQUEZ-NAVARRO, A.; NOGUEDA-TORRES, B.; HERNANDEZ-CAMPOS A. et al. Anthelmintic activity of benzimidazole derivatives against *Toxocara canis* second-stage larvae and *Hymenolepis nana* adults. **Acta Tropica**, v.109, p.232–235, 2009.

MATOS, Caroline Bohnen **Eficácia de extratos vegetais na desinfecção de superfícies contaminadas com fungos do complexo *Sporothrix***. 2014. f. 83 Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

MMA (Ministério do Meio Ambiente). 1998. Primeiro relatório nacional para a Convenção sobre Diversidade Biológica. Ministério do Meio Ambiente (MMA), Brasília.

MOSKVIN, T. V.; ERMOLENKO, A. V. Helminth infections in domestic dogs from Russia. **Veterinary World**, v. 9, n. 11, p. 1248, 2016.

NEVES, D. et al., 2014. Frequency of intestinal parasites in pet dogs from an urban area (Greater Oporto, northern Portugal). **Veterinary Parasitology**, v.200, n.3, p.295-298, 2014.

OTERO, D. et al. Prevalência de ovos de *Toxocara* spp. no solo de parques públicos da área da Grande Lisboa, Portugal – resultados preliminares. **Acta Parasitológica Portuguesa**, v.20, n.1/2, p.47-50, 2014.

OLIVEIRA, R.O.; LESTINGI, V. Resistência parasitária em helmintos intestinais de cães: a importância do tratamento adequado e o papel do clínico na prevenção deste problema. **Atualização em Parasitologia**, v.1, n.5, 2011.

OVERGAAUW, P. A.; VAN KNAPEN, F. Veterinary and public health aspects of *Toxocara* spp. **Veterinary Parasitology**, v.193, n.4, p.398-403, 2013.

PENSEL, P.E.; MAGGIORE, M.A.; GENDE, L.B.; EGUARAS, M.J.; DENEGRI, M.G.; ELISSONDO, M.C., 2014. Efficacy of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* on *Echinococcus granulosus*. **Interdiscip. Interdisciplinary perspectives on infectious diseases**, Volume 2014, Article ID 693289, 12 pages, doi:10.1155/2014/693289.

PEREIRA, A. V. G.; ALBIERO, A. L. M. A valorização da utilização de plantas medicinais na atenção básica: oficinas de aprendizagem **Arquivos do Mudi**, v19, n.2/3, p.23-42, 2015.

PERERA, Soliane Carra. **Identificação de ovos de Dioctophyma renale no ambiente e na urina de cães e gatos de Pelotas, e avaliação in vitro de extratos vegetais da família Lamiaceae sobre os ovos do nematódeo**. 2016. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Bioprospecção) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas 2016.

POWERS, K.G.; WOOD, I.B.; ECKERT, J. et al. Association for the advancement of veterinary parasitology (W.A.A.V.P) guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants. **Veterinary Parasitology**, v.10, n.4, p.265-284, 1982.

PROESTOS, C.; CHORIANOPOULOS, N.; NYCHAS, G. J.; KOMAITIS, M. RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 4, p. 1190-1195, 2005

REIS, M., TRINCA, A., FERREIRA, M. J. U., et al. *Toxocara canis*: potential activity of natural products against second-stage larvae in vitro and in vivo. **Experimental parasitology**, v. 126, n.2, p.191-197, 2010.

STANGARLIN, J. R.; FREITAS, K. R. S. E. CRUZ, M. E. S. et al. Plantas Medicinais. **Biotecnologia Cienciae Desenvolvimento**, v.2 p.16-24, 1999.

THOMPSON, R. C; ROBERTS, M. G. Does pet helminth prophylaxis increase the rate of selection for drug resistance? **Trends Parasitology**. v.17, n.12, p. 576-578, 2001.

WALLER, Stefanie Bressan. **Potencial anti-Sporothrix spp. de plantas da família lamiaceae**. 2015, 129. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2015.

VALLVERDÚ-QUERALT, A.; REGUEIRO, J.; ALVARENGA, J. F. R. et al Characterization of the phenolic and antioxidant profiles of selected culinary herbs and spices: caraway, turmeric, dill, marjoram and nutmeg. **Food Sciences and Technology (Campinas)**, v.35, n.1, p.189-195, 2015.

ZAMPROGNO, T. T., LOPES, A. D. C. G., LACERDA, T. et al. Activity of Euterpe edulis Martius, Mikania glomerata Spreng, and Mikania laevigata Schultz Bip. Extracts on Gastrointestinal Nematodes *Toxocara canis* and *Ancylostoma caninum*. **Archives of Clinical Infectious Diseases**, v.10, n.3, 2015.

## 5 Considerações Finais

- Todos os pontos do ambiente analisado na comunidade em Pelotas, RS apresentaram-se contaminados por formas infectantes de protozoários e nematódeos com potencial zoonótico;
- Os componentes principais dos óleos essenciais de *O. vulgare* foram 4-Terpineno, gama-Terpinene, cis-Sabinenehydrate, enquanto que em *O. majorana* observou-se 4-Terpineol, gama-Terpinene, alpha-Terpineno e em *R. Officinalis* os majoritários foram  $\alpha$ -Pinene, cineole e camfor;
- Os extratos de plantas da família Lamiaceae avaliados apresentaram efeito ovicida e larvicida sobre os ovos e larvas de *Toxocara* spp.;
- Os óleos essenciais tiveram melhor potencial ovicida, com destaque para *O. vulgare* e *O. majorana*, enquanto o *R. officinalis* apresentou menor eficácia;
- Com relação ao potencial larvicida, o óleo essencial de *O. vulgares* e destacou, seguido de *O. majorana* e *R. officinalis*;
- Os extratos hidroalcolicos de *O. vulgare* apresentaram melhor atividade ovocida, seguido de *O. majorana* e *R. officinalis*;
- Os extratos hidroalcolicos de *R. officinalis* apresentaram melhor atividade larvicida quando comparados a *O. vulgare* e *O. majorana*.

## Referências

ABE F., YAMAUCHI T., NAGAO T., et al. Ursolic acid as a trypanocidal constituent in rosemary. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.25, n.11, p.1485-1487, 2002.

ABO-SHEBADA, M.N.; HERBERT, I.V. Anthelmintic effect of levamisole, ivermectin, albendazole and fenbendazole on larval *Toxocara canis* infection in mice. **Research in Veterinary Sciences** v.36, p.87–91, 1984.

AGRA, M. D. F., FREITAS, P. F. D., BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.1, p.114-140, 2007.

ALBANI, C.M.; DENEGRI, G.M.; ELISSONDO, M.C. "Effect of Different Terpene-Containing Essential Oils on the Proliferation of *Echinococcus granulosus* Larval Cells," *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, vol. 2014, Article ID 746931, 7 pages, 2014. doi:10.1155/2014/746931

ALHO, A.M. et al. Formas larvares dos helmintos: o elo mais forte na desparasitação do cão e do gato. **Veterinary Medicine**, v.12, n.71, p.33-46, 2010.

AL-SEREITI, M. R.; ABU-AMER, K. M.; SEN, P. Pharmacology of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. **Indian Journal Experimental Biology**, v.37, p.124–130, 1999.

AL-KALALDEH, J. Z.; ABU-DAHAB, R; AFIFI, F. U. Volatile oil composition and antiproliferative activity of *Laurus nobilis*, *Origanum syriacum*, *Origanum vulgare*, and *Salvia triloba* against human breast adenocarcinoma cells. **Nutrition Research**, v.30, p.271-278, 2010.

ALMEIDA, A. B. P. F.; CÂNDIDO, A. C.; SOUSA, V. R. F. Larvas de helmintos em áreas de recreação de creches de Cuiabá, Mato Grosso. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 2, p. 469-472, 2010.

ALVES, G.C.; SILVA, D.T.; NEVES, M.F. *Diocotophyma renale*: o parasita gigante do rim. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n.8, 2007.

AMARANTE, A.F.T.; SALES, R.O. Controle de Endoparasitoses dos Ovinos: Uma Revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**. v.1, n.2, p.14 – 36,73p,2007.

ANTHONY J. P. FYFE, L.; SMITH, H, Plant active components – a resource for antiparasitic agents? **Trends in parasitology**, v. 21, n. 10, p. 462-468, 2005.

APT W. Indications for treatment. **International journal for parasitology** v.17, n.1, p.141-149, 1987.

ARAUJO, N.S.; RODRIGUES, C.T.; CURY, M.C. Helmintos em caixas de areia em creches da cidade de Uberlândia, Minas Gerais. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo , v. 42, n. 1, p. 150-153, Feb. 2008.

ARAÚJO, P. Obsevações pertinentes à primeiras ecdises de larvas de *Ascarislumbricoides*, *Ascaris suum* e *Toxocara canis*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.14,1972.

Arcila-Lozano, C. C., Loarca-Piña, G., Lecona-Urbe, S., & González de Mejía, E.. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. **ALAN**, Caracas , v. 54, n. 1, p. 100-111, 2017

AYÇIÇEK H., YARSAN E., SARIMEHMETOĐLU H. O. et al. Efficacy of some disinfectants on embryonated eggs of *Toxocara canis*. **Turkish Journal of Medical Sciences**, v.31, p. 35–39, 2001.

Azam, D., Ukpai, O.M., Said, A., Abd-Allah, G.A., Morgan, E.R., 2012. Temperature and the development and survival of infective *Toxocara canis* larvae. **Parasitology Research**. v.110, p.649–656, 2012.

BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., & IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, v.46, n.2, p.446-475, 2008.

BALANDRIN M.F., KLOCKE J.A., WURTELE E.S., BOLLINGER W.H. Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. **Science** v.228, p.1154-116, 1985.

BAHMANI, M.; RAFIEIAN-KOPAEI, M.; HASSANZADAZAR, H. et al. A review on most important herbal and synthetic antihelmintic drugs. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, 7, S29-S33, 2014.

BANETH G.; THAMSBORG S. M.; OTRANTO D. et al. Major Parasitic Zoonoses Associated with Dogs and Cats in Europe. **Journal of comparative pathology**, v.155, n.1, p.S54-S74, 2016.

BARDÓN R, CUÉLLAR C, DEL AGUILA C, GUILLÉN JL. Evaluation of mebendazole activity on experimental murine toxocariasis by immune complexes determination. *Zentralbl Veterinarmed B*. v.42, p. 235–246, 1995.

BEAVER, P.C., SNYDER, C.H. e CARRERA, G.M. (1952) Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans. *Pediatrics* 9, 7–19. Apt W. Indications for treatment **International Journal Parasitology**, n.17, v.1, p.141-9, 1987.

BOZIN B., MIMICA-DUKIC N., SAMOJLI, I. e JOVIN E. Antimicrobial and Antioxidant Properties of Rosemary and Sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) Essential Oils. **Jornaul of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, n.19, p.7879–7885, 2007.

BLAZIUS, R.D. Ocorrência de protozoários e helmintos em amostras de fezes de cães errantes da cidade de Itapema, Santa Catarina. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, São Paulo, v.38, n.1, p.73–74, 2005.

BOYOM, F.F. et al. Composition and anti-plasmodial activities of essential oils from some Cameroonian medicinal plants. **Phytochemistry**, v.64, p.1269–1275, 2003.

BOTELHO, L.S.; PERERA, S.C.; CAPELLA, G.A. et al. Potencial zoonótico de parasitos de cães e gatos em comunidade em vulnerabilidade social. In: II Congresso de Extensão e Cultura - UFPel, 2015, Pelotas-RS. **Anais do II Congresso de Extensão e Cultura - UFPel**, 2015.

BOWMAN, D.D., MONTGOMERY, S.P., ZAJAC, A.M., EBERHARD, M.L. e KAZACOS, K.R. Hookworms of dogs and cats as agents of cutaneous larva migrans. **Trends in Parasitology** v.26, n.4, p.162-167, 2010.

BOUCHET, F., BOULARD, Y., BACCAIN, D., et al. Ultrastructural studies of alterations induced by microwaves in *Toxocara canis* eggs: prophylactic interest. **Parasitology Research**, v.72, n.6, p.755-764, 1986.

BRAGA, Fernanda G., et al. "Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil." **Journal of ethnopharmacology**, 111.2 (2007): p.396-402.

BRAGA, M. R. Fitoalexinas. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Ed.). Interação Planta Patógeno – fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular. Piracicaba: FEALQ, p.305-346, 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2011. 126p

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 971 de 3 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. Diário Oficial da União, 2006

BRAZ FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n.1, p.229-239, 2010.

CAYE, P.; MILECH, V.; LIMA, C.S. et al. Relato de caso sobre *Dioctophyma renale* na musculatura abdominal. **XXIV Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Pelotas**, Pelotas, 2015.

CAROCCIA, G. H. G.; RODOLPHO, J. M. A.; OLIVEIRA, S. R. P.; et al. Atividade dos compostos curcumina e albendazol contra o nematódeo *Toxocara canis* in vitro. *Revista Saúde (Ung. Online)*, v.7, p.11-16, 2013.

CAUMES E. Treatment of cutaneous larva migrans and *Toxocara* infection. **Fundamental & clinical pharmacology**, v.17 n.2, p.213-216, 2003.

CEZAR, A.S., CATTO, J.B.; BIANCHIN, I. "Controle alternativo de nematodeos gastrintestinais dos ruminantes: atualidade e perspectivas." *Ciencia Rural*, vol. 38, no.7, p. 2083, 2008. Academic OneFile, [go-galegroup.ez66.periodicos.capes.gov.br/ps/i.do?p=AONE&sw=w&u=capes&v=2.1&it=r&id=GALE%7CA193756582&asid=61c69d15a76a42448cf74cf45c02f001](http://go.galegroup.ez66.periodicos.capes.gov.br/ps/i.do?p=AONE&sw=w&u=capes&v=2.1&it=r&id=GALE%7CA193756582&asid=61c69d15a76a42448cf74cf45c02f001). Accessed 12 Jan. 2017

CHEN, J., ZHOU, D. H., NISBET, A. J., XU, M. J., HUANG, S. Y., LI, M. W. et al. Advances in molecular identification, taxonomy, genetic variation and diagnosis of *Toxocara* spp. **Infection, Genetics and Evolution** v.12, n.7, p.1344-1348, 2012.

CLEFF, M. B.; MEINERZ, A. R. M; FARIA, R. O. et al. Atividade inibitória do óleo essencial de orégano em fungos de importância médica e veterinária. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, p.1291-1294, 2010.

CLEFF, M.B. Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de 442 *Origanum vulgare* L. frente a fungos de importância em veterinária com ênfase em 443 *Candida* spp. 2008. 129f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

COELHO, L.M.P.S.; DINI, C.Y.; MILMAN, M.H.S.A. et al. *Toxocara* spp. eggs in public squares of Sorocaba, São Paulo State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical** São Paulo, v.43, n.4, p.189-191, 2001.

COLLI, C. M.; RUBINSKY-ELEFANT, G.; PALUDO, M. L.; et al. Serological, clinical and epidemiological evaluation of toxocariasis in urban areas of south Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v.52, n.2, p.69-74, 2010.

DAFALLA, A. A. Study of the effect of diethylcarbamazine and thiabendazole on experimental *Toxocara canis* infection in mice. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene** v.75, p.158–159, 1972.

DANTAS-TORRES, F.; OTRANTO, D. Cães, gatos, parasitos e humanos no Brasil: abrindo a caixa preta. **Parasites & Vectors**, v.7, n.22, 2014.

DAÍ, R.S.; LI, Z.Y.; LI, D.X.; et al. Zhu Severe infection of adult dogs with helminths in Hunan Province, China poses significant public health concerns. **Veterinary Parasitology**, v.160, p.348–350, 2009.

DELGADO, O.; BOTTO, C.; MATTEI, R.; ESCALANTE, A.. Effect of albendazole in experimental toxocariasis of mice. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 83, p.621–624, 1989.

DESPOMIER D. Toxocariasis: Clinical Aspects, Epidemiology, Ecology, and Molecular Aspects. **Clinical Microbiology Reviews**, v.16, n.2, p.265–272, 2003.

DIAS, J.S. O ambiente como fonte de contaminação para zoonoses parasitárias. Disponível em: [http://prg.ufpel.edu.br/sisbi/bibct/acervo/biologia/2005/tcc\\_josiani\\_dias.pdf](http://prg.ufpel.edu.br/sisbi/bibct/acervo/biologia/2005/tcc_josiani_dias.pdf). Acesso em 15/10/2015.

CAMPOS, D.R.; OLIVEIRA, L.C.; SIQUEIRA, D.F.; PERIN, L.R.; CAMPOS, N.C.; APTEKMANN, K.P.; MARTINS, I.V.F. Eficácia de associações anti-helmínticas no controle de infecções naturais por *Ancylostoma* spp. em cães, *Ancylostoma* spp. E *toxocara cati* em gatos. **Rev. Bras. Med. Vet.**, 35(Supl.2): 85-89, dezembro 2013 85.

CASTRO, LUCIANA L.C.; MADRID, I. M.; AGUIAR, C. L. G.; et al. Potencial ovicida de *origanum vulgare* (Lamiaceae) em nematódeos gastrintestinais de bovinos. **Ciência Animal Brasileira** (Online), v. 14, p. 508-513, 2013.

DIXON, R. A. Natural products and plant disease resistance. **Nature**, v. 411, p. 843–847, 2001.

DOMINGUES, L.R.; CESAR, J.A.; FASSA, A.G. et al . Guarda responsável de animais de estimação na área urbana do município de Pelotas, RS, Brasil. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v. 20, n. 1, p. 185-192, 2015.

DORMAN, H. D., BACHMAYER, O., KOSAR, M., & HILTUNEN, R. Antioxidant properties of aqueous extracts from selected Lamiaceae species grown in Turkey. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 4, p. 762-770, 2004.

DUIJVESTIJN, M.; MUGHINI-GRAS, L.;SCHUURMAN N.;et al. Enteropathogen infections in canine puppies: (Co-)occurrence, clinical relevance and risk factors.**Veterinary Microbiology**, v.195, p.115-122, 2016.

ESCCAP. (2010). ESCCAP Guideline 1 – Worm control in dogs and cats (2nd. ed., Vol. 1 segunda). Worcestershire, UK: European Scientific Counsel Companion Animal Parasites.

FAN, C. K.; LIAO, C. W.; Cheng Y. C. Factors affecting disease manifestation of toxocarosis in humans: genetics and environment. **Veterinary Parasitology**, v.193 p. 342-52, 2013.

FILLAUX, J.; MAGNAVAL, J. F. Laboratory diagnosis of human toxocariasis. **Veterinary Parasitology**, v.193, p.327–336, 2013.

FINSTERER, J.; AUER, H. Review Neurotoxocarosis. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.49, n.5, p.279-287, 2007

FISHER M. *Toxocara cati*: an under estimated zoonotic agent. **Trends in Parasitology**, v. 19, 2003.

FOK, E.; KASSAI, T. *Toxocara canis* infection in the paratenic host: a study on the chemosusceptibility of the somatic larvae in mice. **Veterinary Parasitology**, v.74, p.243–259, 1998.

FORCE, M.; SPARKS, W.S.; RONZIO, R.A. Inhibition of Enteric Parasites by Emulsified Oil of Oregano in vivo. **Phytotherapy Research**, v.14, n.3, p.213 -214, 2000.

GALLINA, T.; PEREIRA, M. A. M.; CASTRO, L. L. D. et. al. Presence of eggs of *Toxocara* spp. and hookworms in a student environment in Rio Grande do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 20, n.2, p. 41-42, 2011

GAYATHIRI, K.; SANGEETHA, M.; SHARANYA, V. K. et al. Review: Potential Pharmacological Uses of Natural Products from Laminaceae. **International Journal of Pharma Research e Review**, v.5, n.5, p.21-34, 2016.

GHASEMIAN M.; OWLIA S.; OWLIA M.B. Review of Anti-Inflammatory Herbal Medicines. **Advances Pharmacological Sciences**. 2016.

GIANNENAS, I.; FLOROU-PANERI, P.; PAPAZHARIADOU, M.; et al. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. **Archives fur Tierernahrung**, p.57, n.2, p.99-106, 2003.

GIORDANI, Cláudia. Investigação de plantas medicinais e tóxicas em Pelotas-RS e determinação da atividade antifúngica frente a *Malassezia pachydermatis*, 2013.

GOBBO-NETO, L.; LOPES N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, São Paulo, v.30, n.2, p.374-381, 2007.

GLICKMAN, L.T.; SCHANTZ P.M. Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocaríasis. **Epidemiologic Reviews**, v.3: p.230-250, 1981.

GOMES, M.A.F. Água: sem ela seremos o planeta Marte de amanhã. [S. I.] Embrapa, 2011. Disponível em: Acesso em: 14 de maio de 2012.

GLICKMAN, L. T.; SCHANTZ, P. M. Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocaríasis. **Epidemiologic Reviews**, v. 3, n.1, p. 230-250, 1981.

GIULIETTI A. M.; HARLEY R.M., QUEIROZ L. P et al. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil, **MEGADIVERSIDADE**, v.1, n.1, 2005.

GUAUQUE, M. P.; CASTAÑO, J. C.; GÓMEZ, M. Detección de metabolitos secundarios en *Ambrosia peruviana* Willd y determinación de la actividad antibacteriana y antihelmíntica. **Infectiology**, v.14, n.3, p.186-194, 2010.

GUPTA S.; KULSHRESHTH K.; DATTA A. Bio-control of clinical fungal isolates associated with fungal keratitis using medicinal plant extract. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical**, v.4, n.4, p.544-547, 2012.

GURGEL, R.Q.; CARDOSO, G.S.; SILVA, A.M. et al. Creche: ambiente expositor ou protetor nas infestações parasitárias intestinais em Aracajú, SE. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.38, n.3, p.267-269, 2005.

HABLUETZEL, A.; TRALDI, G.; RUGGIERI, S.; et al. An estimation of *Toxocara canis* prevalence in dogs, environmental egg contamination and risk of human infection in the Marche region of Italy. **Veterinary Parasitology**, v.113, n. 3-4, p.243-52, 2003.

HAJLAOUI H.; MIGHRI H.; AOUNI M.; et al. Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial, cytotoxicity and anti-acetylcholinesterase properties of Tunisian *Origanum majorana* L. essential oil. **Microbial Pathogenesis**, v.95, p. 86-94, 2016

HAMMOND, J. A.; FIELDING, D.; BISHOP, S. C. Prospects for plant anthelmintics in tropical veterinary medicine. **Veterinary research communications**, v.21, n.3, p.213-228, 1997.

HOLT, P.E.; CLARKSON, M.J.; KERSLAKE, M. Anthelmintic tests on *Toxocara canis* infection in mice. *Veterinary Records* v.108, p.308–309, 1981.

HOTEZ, P. J.; WILKINS, P. P. Toxocariasis: America's most common neglected infection of poverty and a helminthiasis of global importance?. *Neglected Tropical Diseases*, v.3 n.3. 2009.

IBGE. Pesquisa Nacional de Saúde 2013, Rio de Janeiro, 2015. Acesso em 5 de novembro de 2015. Online. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv94074.pdf>

INAN, M.; SAKRU, N.; VATANSEVER, U. et al. Visceral larva migrans presenting as acute abdomen in a child. Case Reports, **Journal of Pediatric Surgery**, v.41, n.3, p.7-9, 2006.

JUN, W. J.; HAN, B. K.; YU, K. W.; et al. Antioxidant effects of *Origanum majorana* L. on superoxide anion radicals. **Food Chemistry**, v.75, n.4, pag.439-444, 2001.

KATAFIGIOTIS, I.; FRAGKIADIS, E.; POURNARAS, C.; et al. A rare case of a 39 year old male with a parasite called *Diocotophyma renale* mimicking renal cancer at the computed tomography of the right kidney. **Parasitology International**, v.62, p.459-460, 2013.

KARANIS P.; KOURENTI C.; SMITH H. Waterborne transmission of protozoan parasites: a review of world-wide outbreaks and lessons learned. **J Wat Health**, v. 5(1). p.38, 2007.

KOMMERS, G.D.; ILHA, M.R.S.; BARROS, C.S.L. Diocotofimose em cães: 16 casos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.3, p.517-522, 1999.

KOROLKOVAS, A.; FRANÇA, F. F. Fármacos do trato gastrointestinal. In: Dicionário Terapêutico Guanabara, 12a Ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.10.1-10.35, 2005.

LABRUNA, M.B.; PENA, H.F.J.; SOUZA, S.L.P. et al. Prevalência de endoparasitas em cães da área urbana do município de Monte Negro, Rondônia. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v.73, p.183-193, 2006.

LEITE, A.C. Ancylostomidae. In: Neves DP. Parasitologia humana. São Paulo: Atheneu, p.234-42, 2004.

LESCANO S.Z.; CHIEFFI P.P.; IKAI D.K. et al. Efeitos da ciclosporina A e betametasona na toxocaríase murina experimental. *Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.37, p.22–24, 2004.

LI, G.; LIU, C.; LI, F. et al. Fatal bilateral diocotophymatosis. **Journal of Parasitology**, v.96, n.6, p.1152-1154, 2010.

LLOYD, S.; AMERSINGHE, P.H.; SOULSBY, E.J.L. Periparturient immunosuppression in the bitch and its influence on infection with *Toxocara canis*. **Journal of Small Animal Practice**, v.24, p.237–247, 1983.

LUQMAN, Suaib et al. Potential of rosemary oil to be used in drug-resistant infections. **Alternative therapies in health and medicine**, v. 13, n. 5, p. 54, 2007.

MACPHERSON, C.N.L. The epidemiology and public health importance of toxocariasis: A zoonosis of global importance **International Journal for Parasitology** v.43(12-13) p.999-1008, 2013.

MAGNAVAL, J.F.; Glickman, L.T. Management and treatment options for human toxocariasis. In: Holland, C.V., Smith, H.V. (Eds.), *Toxocara: The Enigmatic Parasite*. Oxfordshire, CAB International, p.113–126, 2006.

MANINI, M.P.; MARCHIORO, A.A.; COLLI, C.M.; et al. Association between contamination of public squares and seropositivity for *Toxocara* spp. in children. **Veterinary Parasitology**, v.188, p.48–52, 2012.

MARQUES, J.P.; GUIMARÃES, C.R.; VILAS BOAS, A. et al. Contamination of public park sands quares from Guarulhos (São Paulo State, Brazil) by *Toxocara* spp. and *Ancylostoma* spp. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.54, p.267-71, 2012.

MARINHO, M. L.; ALVES, M. S.; RODRIGUES, M. L. C.; et al. A utilização de plantas medicinais em medicina veterinária: um resgate do saber popular. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, p.64-69, 2007.

MARQUEZ-NAVARRO, A.; NOGUEDA-TORRES, B.; HERNANDEZ-CAMPOS A. et al. Anthelmintic activity of benzimidazole derivatives against *Toxocara canis* second-stage larvae and *Hymenolepis nana* adults. **Acta Tropica**, v.109, p.232–235, 2009

MARTINS C.M., BARROS C., BIER D., MARINHO A.P., FIGUEIREDO J.M., HOFFMANN J.L., MOLENTO M.B., BIONDO A.W.. Dog parasite incidence and risk factors, from sampling after one-year interval, in Pinhais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v.21, n.2, p.101-106, 2012.

MARTINS N.; BARROS L.; SANTOS-BUELGA C. et al. Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of *Origanum vulgare* L.: Different performances regarding bioactivity and phenolic compounds. **Food Chemistry**, v. 158, p. 73-80, 2014.

MATOS, C. B.. Eficácia de extratos vegetais na desinfecção de superfícies contaminadas com fungos do complexo *Sporothrix*. 83f. 2014. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

MEASURES, L.N.; ANDERSON, R.C. Centrarchidfish as paratenic hosts of the giant kidney worm, *Dioctophyma renale* (Goeze, 1782), in Ontario, Canada. **Journal of Wild Life Diseases**, v.21, n.1, p.11-19, 1985.

MMA (Ministério do Meio Ambiente). 1998. Primeiro relatório nacional para a Convenção sobre Diversidade Biológica. Ministério do Meio Ambiente (MMA), Brasília.

MOORE J.; YOUSEF M.; TSIANI E. Anticancer Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Extract and Rosemary Extract Polyphenols. **Nutrients**, v.8, n. 11, p.731, 2016.

MOUDGIL, A.; MITTRA, S.; ASRANI, R.; et al. Histopathological Studies Targeting Comparative Efficacy of Herbal and Standard Allopathic Immunomodulators Against Visceral Larva Migrans Proceedings of the National Academy of Sciences, **India Section B: Biological Sciences**, V. 85, n.3, p.879-883, 2015.

MOSKVINA, T. V.; ERMOLENKO A. V. "Helminth Infections in Domestic Dogs from Russia." **Veterinary Word**, p.1248–1258, 2017.

NEVES, D. et al. Frequency of intestinal parasites in pet dogs from na urban area (GreaterOporto, nor- thern Portugal). **Veterinary Parasitology**, v.200, n.3, p. 295-298, 2014.

NICHOLAS, W.L.; STEWART, A.C. The action of benzimidazoles on the larval stage of *Toxocara canisin* the mouse. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology** v. 73, p.57–62, 1979.

NIJSSE R.; PLOEGER H.W.; WAGENAAR J.A. et al. Prevalence and risk factors for patent *Toxocara* infections in cats and cat owners' attitude towards deworming. **Parasitology Research**, v.115, n.12, p.4519-4525, 2015.

OTERO, D.; FERREIRA, A.; CRUZ, R.; et al. *Toxocara* spp.: a lombriga de estimação dos carnívoros domésticos e silvestres em Portugal. **Revista Clínica Animal**, v.3, p.30-35, 2015.

OTERO, D. et al. Prevalência de ovos de *Toxocara* spp. no solo de parques públicos da área da Grande Lisboa, Portugal – resultados preliminares. **Acta Parasitológica Portuguesa**, v.20, n.1, p. 47-50, 2014.

OLIVEIRA, R.O. e LESTINGI, V. Resistência parasitária em helmintos intestinais de cães: a importância do tratamento adequado e o papel do clínico na prevenção deste problema. **Atualização em Parasitologia**, v. 1, n. 5, 2011.

OLIVEIRA, C.B.; SILVA, A.S.; MONTEIRO, S.G. Ocorrência de parasitas em solos de praças infantis nas creches municipais de Santa Maria – RS, Brasil. **Revista da FZVA**, v.14, p.174-179, 2007.

OTHMAN, A.A. Therapeutic battle against larval toxocariasis: Are we still far behind? **Acta Tropica**, v.124, n.3, p.171–178, 2012.

OVERGAAUW, P. A.; VAN KNAPEN, F. Veterinary and public health aspects of *Toxocara* spp. **Veterinary Parasitology**, v.193, n.4, p.398-403, 2013.

PAWLOWSKI, Z. Toxocariasis in humans: clinical expression and treatment dilemma. **Journal of helminthology**, v.75, n.4, 2001.

PEDRASSANI, Daniela. Aspectos morfológicos, imunológicos e epidemiológicos do *Dioctophyma renale* em cães no distrito de São Cristóvão, Três Barras, Santa Catarina. 2009. 118 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2009.

PENSEL, P. E., et al. "Efficacy of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* on *Echinococcus granulosus*." *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases*, 2014.

PEREIRA, B.J.; GIRARDELLI, G.L.; TRIVILIN, L.O. et al. Ocorrência de diotofimose em cães do município de Cachoeiro do Itapemirim, Espírito Santo, Brasil, no período de maio a dezembro de 2014. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.15, n.3, p.123-125, 2006.

PEREIRA R. C. A.; Santos O. G. Plantas condimentares: cultivo e utilização– Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013.

PEREIRA A.V.G. ALBIERO A.L.M. A VALORIZAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS NA ATENÇÃO BÁSICA: OFICINAS DE APRENDIZAGEM **Arquivos do MUDI**, v19, n2-3, p. 23-42, 2015.

PERERA, S.C.; CAPELLA, G.A.; PINTO, N.B. et al. Investigação de *Diocetophyma renale* em amostras de urina em cães e gatos na cidade de Pelotas. **XVII Encontro de Pós-Gradua o da Universidade Federal de Pelotas**, Pelotas, 2015.

PERERA, Soliane Carra. **Identifica o de ovos de *Diocetophyma renale* no ambiente e na urina de cães e gatos de Pelotas, e avalia o in vitro de extratos vegetais da família Lamiaceae sobre os ovos do nematódeo**. 2016. Disserta o (Mestrado em Bioquímica e Bioprospecc o) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

PERUCA, C. B. L.; LANGONI, H.; LUCHEIS, S. B. Larva migrans visceral e cutânea como zoonoses: revisão de literatura. **Veterinária e Zootecnia**, v. 16, n.4, p.601-616, 2009.

POSSAS, C.A. Social ecosystem health: Confronting the complexity and emergence of infectious diseases. **Cadernos de Saúde Pública**, v.17, n. 1, p. 31-41, 2001.

POWERS, K.G.; WOOD, I.B.; ECKERT, J. et al. Association for the advancement of veterinary parasitology (W.A.A.V.P) guidelines for evaluating the efficacy of antihelminthics in ruminants. **Veterinary Parasitology**, v.10, n.4, p.265-284, 1982.

PRESTES, L.F.; JESKE, S.; SANTOS, C.V. et al. Contamina o do solo por geohelminthos em áreas públicas de recrea o em municípios do sul do Rio Grande do Sul (RS), Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 44, n. 2, p. 155-162, 2015.

PROESTOS, C.; CHORIANOPOULOS, N.; NYCHAS, G. J.; KOMAITIS, M. RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 4, p. 1190-1195, 2005.

QUASHIE, N. B.; TSEGAH E. An Unusual Recurrence of Pruritic Creeping Eruption after Treatment of Cutaneous Larva Migrans in an Adult Ghanaian Male: A Case Report with a Brief Review of Literature.” **The Pan African Medical Journal** 21, 2015.

RAMOS, I. S. et al . Actividad toxocaricida de plantas cubanas. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 67, n. 3, 2015.

RASSIER, G. L.; BORSUK, S., PAPPEN, F. et al. Toxocara spp. seroprevalence in sheep from southern Brazil. **Parasitology Research**, v.112, p.3181-3186, 2013.

REIS M.; TRINCA A.; FERREIRA M. J. U.; et al. Toxocara canis: Potential activity of natural products against second-stage larvae in vitro and in vivo. **Experimental Parasitology** v.126, p.191–197, 2010.

REZENDE, S. O.; FERNANDES, F. M.; MELLO, I. N. K. Ação do extrato de Punica granatum sobre larvas infectantes de Ancylostoma sp. de cães. **Sinapse Múltipla**, v.4, n. 2, p.103-112, 2015.

ROCHA, S.; PINTO, R.M.F.; FLORIANO, A.P.; et al. Environmental analyses of the parasitic profile found in the Sandy soil from the Santos municipality beaches, SP, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical São Paulo**, v.53, n.5, p.277-281, 2011.

RODRIGUES, M.R.A.; KRAUSE, L.C.; CARAMÃO, E.B. et al. Chemical composition and extraction yield of the extract of Origanum vulgare obtained from sub-and supercritical CO<sub>2</sub>. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.52, p.3042-3047, 2004.

ROSA JUNIOR, A.S.; SILVA, M.D.A.; ANANA, D.C.; et al. Medicina veterinária na promoção da saúde humana e animal: ações em comunidades carentes como estratégias de enfrentamento da desigualdade social. **Revista Ciência em Extensão**, v.8, p.3, 2012.

SAMANTA S.; ANSARF M. Z. Anthelmintic effect of ivermectin, albendazole, fenbendazole and thiabendazole on larval Toxocara canis infection in mice. **Indian Journal of Animal Sciences**, v.60, p.1195–1196, 1990.

SILVA, N. C. C.; FERNANDES JÚNIOR, A. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v.16, n.3, p.402-413, 2010.

SANTARÉM, V. A.; RUBINSKY-ELEFANT, G.; CHESINE, P. A. F.; et al. Toxocaríase canina e humana. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n. 3, p.437-447, 2009.

SANTIN, Rosema. **Potencial antifúngico e toxicidade de óleos essenciais da família Lamiaceae**. 2013. 104f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2013.

SANTIN, R.; GIORDANI, C.; MADRID, I. M.; et al. Antifungal activity of *Origanum vulgare* essential oil against *Malassezia pachydermatis*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.2, p.367-373, 2014.

SANTOS P.; BAPTISTA, A.; LEAL, L.; et al. Nematódeos gastrintestinais de bovinos—revisão. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 24, p. 1-15, 2015.

SA-NUNES, A.; ROGERIO A. P.; MEDEIROS A. I.; et al. Modulation of eosinophil generation and migration by *Mangifera indica* L. extract (Vimang®) **International Immunopharmacology**, v. 6, n. 9, p.1515-1523, 2006..

SANTORO, G. F.; CARDOSO, M. G.; GUIMARÃES, et al. L.G.; et al. Anti-proliferative effect of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (lemongrass) on intracellular amastigotes, bloodstream trypomastigotes and culture epimastigotes of *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida). **Parasitology**, v.134, p.1649-1656, 2007.

SCHOENARDIE, E. R.; SCAINI, C. J.; BROD, C. S.; et al. Seroprevalence of *Toxocara* infection in children from southern Brazil. **The Journal of parasitology**, v. 99 n. 3 p. 537-539, 2013.

SCAINI, C.J.; TOLEDO, R.N.; LOVATEL, R. et al. Contaminação ambiental por ovos e larvas de helmintos em fezes de cães na área central do Balneário Cassino, Rio Grandedo Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.36, p.617-619, 2003.

SHALABY, H. A.; EL NAMAKY, A. H.; KHALIL, F. A.; et al. Efficacy of methanolic extract of *Balanites aegyptiaca* fruits on *Toxocara vitulorum*. **VETERINARY PARASITOLOGY**, v.183, n.3-4, p.386–392, 2012.

SILVA, J.C.; FURTADO, L.F.V.; FERRO, T.C. et al. Parasitismo por *Ascaris lumbricoides* e seus aspectos epidemiológicos em crianças do Estado do Maranhão. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** [online], v.44, n.1, pp.100-102, 2011.

SILVA, J.P.; MARZOCHI, M.C.A.; SANTOS, E.C.L. Avaliação da contaminação experimental de areias de praias por enteroparasitas: pesquisa de ovos de Helmintos. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.7, n.1, p.90-99, 1991.

SILVA, J.; PIVA, C.; FALAVIGNA, G. A.; et al. MaxSpatial distribution and enteroparasite contamination in peridomiciliar soil and water in the Apucarantina Indigenous Land, southern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, Vol.38 (2), p.337-345, 2007.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; et al. PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento: Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos, 2003.

SOUZA, E.L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O.; et al. Orégano (*Origanum vulgare* L., Lamiaceae): uma especiaria como potencial fonte de compostos antimicrobianos / Origanum (*Origanum vulgare* L., Lamiaceae): a spice as potential composite antimicrobial *Higiene Alimentar*; v.19(132), p.40-45, 2005.

SORIANO, S.V.; PIERANGELI, N.B.; ROCCIA I.; et al. A wide diversity of zoonotic intestinal parasites infects urban and rural dogs in Neuquén, Patagônia, Argentina. **Veterinary Parasitology**, v.167, p.81-85, 2010.

STANGARLIN J. R.; FREITAS K. R. S. E. CRUZ, M. E. S. et al. Plantas Medicinais. **Biotecnologia Ciencia e Desenvolvimento**, v.2 p.16-24, 1999.

STRUBE, C.; HEUER, L.; JANECEK, E. *Toxocara* spp. infections in paratenic hosts **Veterinary Parasitology**, v.193, pp. 375–389, 2013.

SVIBEN, M.; CAVLEK T. V.; MISSONI, E. M.; et al. Seroprevalence of *Toxocara canis* infection among asymptomatic children with eosinophilia in Croatia. **Journal of Helminthology** v.83, p.369–371, 2009.

TAVARES, A. L. C.; SCAINI, C. J.; MÜLLER, G. et al. Contaminação do solo de praças de conjuntos habitacionais por helmintos e protozoários em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. **Vittalle**, v. 20, n.1, p.59-63, 2008.

THOMPSON Y. R. Does pet helminth prophylaxis increase the rate of selection for drug resistance?. **Trends in parasitology**, vol.17, p.576-578, 2001.

TRAVERSA, D. Are we paying too much attention to cardio-pulmonary nematodes and neglecting old-fashioned worms like *Trichuris vulpis*?. **Parasites & Vectors**, v. 4, n.1, p.32, 2011.

TRAVERSA D.; REGALBONO, A. F.; DI CESARE A.; LA TORRE, F.; et al. Drake and Mario Pietrobelli Environmental contamination by canine geohelminths. **Parasites & Vectors**, v.7, p.67, 2014.

WALLER, Stefanie Bressan. Potencial anti-Sporothrix spp. de plantas da família lamiaceae. 2015.

WALLER, S. B. ; MADRID, I. M. ; CLEFF, M.B. ; et al. Effects of essential oils of Rosmarinus officinalis Linn. and Origanum vulgare Linn. from different origins on Sporothrix brasiliensis and Sporothrix schenckii complex. Arquivo Brasileiro de **Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.68, p.991-999, 2016.

WILDER, H. C.; Nematode endophthalmitis. Trans. Am. Acad. **Ophthalmology. Otolaryngology**. v.55, p.99–104, 1950.

World Health Organization (WHO). Guidelines for dog population management. Geneva: WHO, WSPA; 1992.

VALLVERDÚ-QUERALT, A.; REGUEIRO, J.; ALVARENGA, J. F. R. et al Characterization of the phenolic and antioxidant profiles of selected culinary herbs and spices: caraway, turmeric, dill, marjoram and nutmeg. **Food sciences and Technology (Campinas)**, v.35, n.1, p.189-195, 2015 .

VASKO, L.; VASKOVA, J.; FERJEKACOVA, A.; et al. Comparison of some antioxidant properties of plants extrats from Origanum vulgare, Salvia officinalis, Eleutherococcus senticosus and Stevia rebaudiana. **In Vitro Cellular & Developmental Biology**, v.50, n.7, p.614-622, 2014.

VENKATRAJIAH, N.; KALBANDE, S.H.; RAO, G.V.N.; et al. Dioctophymatosis renalis in humans: first case report from India. **Journal of the Association of Physicians of India**, v.62, p.70-73, 2014.

VIEIRA, A. C.; AMARANTE, M. K.; Prevalência de helmintos no município de Ibiporã, Paraná, no período de 2004 a 2006. **Biosaúde** v.13 n.1, p.23-37, 2011.

VIEIRA M. A, Silva A.C.; FREIRE Filha L. G.; BARBOSA C.A.; et al. Avaliação da eficácia do Ivermectin na larva migrans murina experimental. **Rev Patol Trop** v.22 p.1–8, 1993.

VILLELA, M. M.; PEPE, M. S.; FERRAZ, M. L. et al. Nota: contaminação ambiental da orla da Laguna dos Patos (Pelotas, RS, Brasil), por parasitos com potencial zoonótico. **Vittalle**, v. 21, n. 2, p. 69-74, 2009.

VINEY, M. E.; GRAHAM, A. L. Patterns and processes in parasite co-infection. **Adv.Parasitol** v.82, p.321–369, 2013.

VINHA, C. Necessidade de uma política sanitária nacional para o combate às parasitoses intestinais. **Revista Sociedade brasileira de Medicina Tropical**, v.1, p.297-301, 1975.

VISSER, S.; GIATTI, L. L.; CARVALHO, R. A. C. et al. Estudo da associação entre fatores socioambientais e prevalência de parasitose intestinal em área periférica da cidade de Manaus (AM, Brasil). **Revista Ciência e Saúde Coletiva** [online]. v.16, n.8, p.3481-3492, 2011.

ZAMPROGNO, T. T.; LOPES, A. D. C. G.; LACERDA, T.; HIURA, E.; da FONSECA, L. A.; SENNA, T.; ... & BRAGA, F. R. Activity of *Euterpe edulis* Martius, *Mikania glomerata* Spreng, and *Mikania laevigata* Schultz Bip. Extracts on Gastrointestinal Nematodes *Toxocara canis* and *Ancylostoma caninum*. **Archives of Clinical Infectious Diseases**, v.10, n.3, 2015.