

UNIVERSIDADE VILA VELHA-ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ATIVIDADE LARVICIDA E/OU OVICIDA DOS EXTRATOS DE
Euterpe edulis **MARTIUS**, *Mikania glomerata* **SPRENG.** E *Mikania*
laevigata **SCHULTZ BIP** **SOBRE OS NEMATÓIDES**
GASTRINTESTINAIS *Toxocara canis* E *Ancylostoma caninum*

TATIANA TONINI ZAMPROGNO

VILA VELHA
MARÇO/2014

UNIVERSIDADE VILA VELHA-ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ATIVIDADE LARVICIDA E/OU OVICIDA DOS EXTRATOS DE
Euterpe edulis **MARTIUS**, *Mikania glomerata* **SPRENG.** E *Mikania*
laevigata **SCHULTZ BIP** **SOBRE OS NEMATÓIDES**
GASTRINTESTINAIS *Toxocara canis* E *Ancylostoma caninum*

TATIANA TONINI ZAMPROGNO

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

VILA VELHA
MARÇO/2014

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

Z26a Zamprogno, Tatiana Tonini.

Atividade larvívica e/ou ovívica dos extratos de *Euterpe edulis* Martius, *Mikania glomerata* Spreng. e *Mikania laevigata* Schultz bip sobre os nematodes gastrintestinais *Toxocara canis* e *Ancylostoma caninum*. / Tatiana Tonini Zamprogno. – 2014.

43 f.

Orientador: Fábio Ribeiro Braga.

Co-orientadora: Denise Coutinho Endringer.

Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Centro Universitário Vila Velha, 2014.

Inclui bibliografias.

1. Cão - Doença - Tratamento. 2. Nematoda - Pesquisa. 3. *Ancylostoma caninum* - Tratamento. 4. *Mikania* - Extrato. 5. *Euterpe edulis* - Extrato. I. Braga, Fábio Ribeiro. II. Endringer, Denise Coutinho. III. Universidade Vila Velha. IV. Título.

CDD 636.70896025

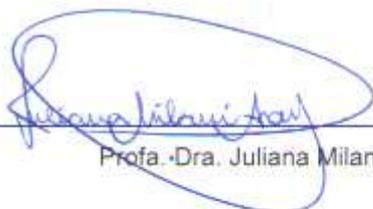
TATIANA TONINI ZAMPROGNO

ATIVIDADE LARVICIDA E/OU OVICIDA DOS EXTRATOS DE
Euterpe edulis **MARTIUS**, *Mikania glomerata* **SPRENG.** E *Mikania*
laevigata **SCHULTZ BIP** **SOBRE OS NEMATÓIDES**
GASTRINTESTINAIS *Toxocara canis* E *Ancylostoma caninum*

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 23 de março de 2014.

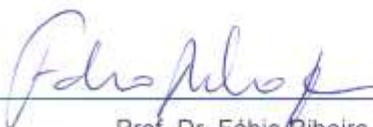
Banca examinadora:



Prof. Dra. Juliana Milani Araújo (UFV)



Prof. Dr. Leandro Abreu da Fonseca (UVV)



Prof. Dr. Fábio Ribeiro Braga (UVV)
(Orientador)

Dedico este trabalho às pessoas que mais amo, em especial ao meu marido, pela paciência e apoio incondicional e aos meus pais, pela motivação constante.

AGRADECIMENTOS

A Deus acima de tudo, por todas as maravilhas que tem feito em minha vida e por iluminar e abençoar meus caminhos e meu trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Fábio Ribeiro Braga, por todo apoio na execução e redação deste trabalho, disponibilidade e, especialmente, pela confiança em mim depositada ao assumir a orientação. Obrigada por acreditar em mim professor, fez toda a diferença!!!

À Prof. Dra. Denise Coutinho Endringer, pela co-orientação e por toda colaboração para realização deste trabalho.

À Universidade Vila Velha – UVV, Laboratório de Produtos Naturais por fornecer os materiais e a estrutura necessária para execução deste trabalho.

Ao professor Leandro Abreu da Fonseca, pela disponibilidade do laboratório clínico de Medicina Veterinária, o qual foi importantíssimo na realização do trabalho.

Ao INCAPER e a DAG/UFLA que gentilmente cederam as espécies para a realização deste trabalho.

Ao Centro de Controle de Zoonoses de Colatina, em especial ao veterinário Adriano Marchiori, que gentilmente cedeu amostras para a realização deste trabalho.

À mestranda do programa de pós-graduação em Ciência Animal, Emy Hyura, por toda paciência, conhecimento e ajuda que, deu-me durante minha permanência no laboratório clínico de Medicina Veterinária.

Aos funcionários e estagiários do laboratório clínico de Medicina Veterinária, Fábio, Caio, Jojô, Júlia por toda colaboração na realização das análises parasitológicas.

Aos meus pais, Waldecir Luis Tonini e Antônia Pandini Tonini, pelo amor incondicional, por acreditarem nos meus sonhos e por me darem todo apoio para realizar cada um deles.

Ao meu marido, companheiro e amigo, Ederson Adão Zamprogno, por entender a minha ausência, não me deixar desistir e me motivar constantemente. Seu valioso e incansável apoio foi definitivo em todos os momentos deste trabalho, te amo, meu bem!!!

Ao meu irmão, Luis Felipe Tonini, e minha cunhada, Larissa Fernandes Tonini, pelo auxílio tecnológico, pelo abrigo, pelo acalento nas horas difíceis, e pela confiança de seu bem mais precioso, o Pequeno Príncipe Pedro. Obrigado, Rimão!!!!

À minha amiga guerreira, Michelle Barrella, pela motivação constante, pelas convesas intermináveis, pela cumplicidade de irmã, pelas caronas incalculáveis, pela diversão garantida, pela empatia instantânea, por todos os momentos compartilhados e por muitos outros que virão, e principalmente, por me convencer que tudo daria certo no final. E deu!!! Conseguimos, Mi!!!

Ao Centro Universitário do Espírito Santo (UNESC) pelo apoio e aos colegas dessa instituição que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho. Em especial à amiga Christiane Curi Pereira, e ao casal amigo Claudinei Antonio Montebeller e Roberta Passamani Ambrósio, por toda motivação e ajuda nos momentos difíceis.

Às amigas farmacêuticas Helaine Aparecida Bonatto de Moraes, Camile Guidoni e Eunice Aparecida da Silva e todos os estagiários que estão ou passaram pela farmácia municipal de Colatina, por entenderem a minha ausência, por perdoarem meu mau-humor e por me darem força pra continuar. Valeu pessoal!!!!

Às mestrandas do programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Priscylla Maria Martins Cardoso e Renata Alves Mazuco, pela ajuda na preparação dos extratos.

A todas as pessoas, não menos importantes, que passaram por minha vida deixando um pouco de si e levando um pouco de mim.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Médias e desvios padrão dos percentuais de ovos embrionados de *Toxocara canis* após o contato prévio com os grupos tratados com extrato etanólico de *Mikania laevigata* (0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL), extrato etanólico de *Mikania glomerata* (0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL), extrato etanólico de *Euterpe edulis* (0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL) e o grupo controle após 15 dias de interação. 27
- Tabela 2 Médias e desvios padrão dos percentuais de ovos embrionados de *Toxocara canis* após o contato prévio com os grupos tratados com Albendazol (0,01mg/mL; 0,05 mg/mL e 0,1mg/mL), e o Etanol após 15 dias de interação. 28
- Tabela 3 Médias e desvios padrão dos percentuais de larvas infectantes (L3) de *A. caninum* recuperadas das coproculturas do tratamento com o extrato etanólico de *Mikania laevigata* (0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL), extrato etanólico de *Mikania glomerata* (0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL), extrato etanólico de *Euterpe edulis* (0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL) e o grupo controle após 8 dias de interação. 29

RESUMO

ZAMPROGNO, Tatiana Tonini, M.Sc., Universidade Vila Velha-ES, março de 2014.

ATIVIDADE LARVICIDA E/OU OVICIDA DOS EXTRATOS DE *Euterpe edulis* MARTIUS, *Mikania glomerata* Spreng. E *Mikania laevigata* SCHULTZ BIP SOBRE OS NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS *Toxocara canis* e *Ancylostoma caninum*. Orientador: Fábio Ribeiro Braga. Co-orientadora: Denise Coutinho Endringer.

Para avaliar a atividade larvicida e/ou ovicida dos extratos etanólicos das plantas *Euterpe edulis*, *Mikania glomerata* e *Mikania laevigata* sobre os nematóides gastrintestinais *Toxocara canis* e *Ancylostoma caninum* foram realizados dois ensaios *in vitro*. No primeiro ensaio, denominado A, ovos de *T. canis* foram expostos a três concentrações diferentes (0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL) de cada extrato, três concentrações diferentes de albendazol (controle positivo), etanol (solvente) e controle negativo (tubo sem tratamento) por 15 dias, a 26°C, sob o abrigo da luz, a fim de se avaliar o percentual de embrionamento desses ovos frente aos extratos. No segundo ensaio (B), avaliou-se a atividade larvicida de todas as espécies em estudo nas concentrações 0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL, do controle e do solvente (etanol) em coproculturas positivas para ovos de *A. caninum*. No ensaio A, os resultados demonstraram atividade inibitória sobre a embriogênese dos ovos de *T. canis*, contudo, não foi encontrada diferença ($P > 0,01$) entre a atividade dos extratos. Em relação ao grupo controle houve diferença ($p < 0,01$) em relação aos extratos testados, não sendo concentração-dependente. No ensaio B, todos os extratos testados apresentaram atividade ($P > 0,01$) inibitória sobre a eclodibilidade dos ovos de *A. caninum* em relação ao grupo controle. Por meio dos resultados encontrados sugere-se a aplicabilidade dos extratos das plantas utilizadas no controle de ovos e ou larvas de *T. canis* e *A. caninum*. Contudo, vale destacar que novos estudos devem ser realizados com as espécies *E. edulis*, *M. glomerata* e *M. laevigata*, utilizando-se diferentes extratos, novas concentrações e estudos *in vivo*, a fim de se garantir maiores esclarecimentos sobre os agentes responsáveis pelos efeitos observados, grau de eficácia e toxicidade.

Palavras-chaves: *Toxocara canis*; *Ancylostoma caninum*; extrato.

ABSTRACT

ZAMPROGNO, Tatiana Tonini, M.Sc., University of Vila Velha-ES, March 2014.
LARVICIDAL ACTIVITY AND/OR OVICIDE OF EXTRACTS OF *Euterpe edulis* MARTIUS, *Mikania glomerata* Spreng. AND *Mikania laevigata* SCHULTZ BIP ABOUT THE GASTROINTESTINAL NEMATODES *Toxocara canis* and *Ancylostoma caninum*. Advisor: Fábio Ribeiro Braga. Co-advisor: Denise Coutinho Endringer.

To evaluate larvicidal activity and/or ovicide ethanolics extracts of plants *Mikania glomerata* and *Euterpe edulis*, *Mikania laevigata* on gastrointestinal nematodes *Toxocara canis* and *Ancylostoma caninum* two in vitro tests were carried out. In the first test, called A, *T. canis* eggs were exposed to three different concentrations (0,1mg/mL, 1mg/mL and 10mg/mL) of each extract, three different concentrations of albendazole (positive control), ethanol (solvent) and negative control (untreated tube) for 15 days, 26 C, under the shelter of the light, in order to assess the percentage of those eggs embryonment comparing to the extracts. In the second test (B), it was assessed the larvicidal activity of all species under study at concentrations 0,1mg/mL, 1mg/mL and 10mg/mL of the control and the solvent (ethanol) in larval culture positive for eggs of *A. caninum*. In the test A, the results showed inhibitory activity on embryogenesis of *T. canis* eggs, however, no difference was found ($P>0.01$) between the activity of extracts. Compared to the control group there was difference ($p<0.01$) compared to extracts tested, no concentration-dependent. In the test B, all extracts tested exhibited inhibitory activity ($P>0.01$) on the hatchability of eggs of *A. caninum* in relation to the control group. Through the results suggested the applicability of extracts of plants used in the control of eggs and/or larvae of *T. canis* and *A. caninum*. However, it is worth noting that further studies should be performed with the species *E. edulis*, *M. glomerata* and *M. laevigata*, using different extracts, new concentrations and in vivo studies, in order to ensure further clarification about the agents responsible for the observed effects, degree of efficacy and toxicity.

Key words: *Toxocara canis*; *Ancylostoma caninum*; extract.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO	5
2 REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1 PARASITOS GASTRINTESTINAIS HUMANOS.....	7
2.1.1 <i>Toxocara canis</i>	8
2.1.1.1 Ciclo biológico e transmissão.....	9
2.1.1.2 Diagnóstico.....	12
2.1.1.3 Medidas de controle.....	12
2.1.2 <i>Ancylostoma caninum</i>	13
2.1.2.1 Ciclo biológico e transmissão.....	14
2.1.2.2 Diagnóstico.....	15
2.1.2.3 Medidas de controle.....	16
2.2 PLANTAS MEDICINAIS.....	17
2.2.1 <i>Euterpe edulis Martius</i>	18
2.2.2 <i>Mikania glomerata Spreng.</i>	19
2.2.3 <i>Mikania laevigata Schultz Bip. Ex Baker</i>	20
3. MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1 ASPECTOS ÉTICOS.....	22
3.2 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL E PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS.....	22
3.2.1 <i>Mikania glomerata Spreng. e Mikania laevigata Schultz Bip. Ex Baker</i>	22
3.2.2 <i>Euterpe edulis Martius</i>	22
3.3 OBTENÇÃO DE OVOS DE <i>Toxocara canis</i>	23
3.4 OBTENÇÃO DE LARVAS DE <i>Ancylostoma caninum</i>	23
3.5 ENSAIOS EXPERIMENTAIS.....	23
3.5.1 Ensaio A	24
3.5.1.1 Análise estatística.....	24
3.5.2 Ensaio B	24
3.5.2.1 Análise estatística.....	25

4 RESULTADOS	26
4.1 ENSAIO A	26
4.1 ENSAIO B	27
5 DISCUSSÃO	29
5.1 ENSAIO A	29
5.1 ENSAIO B	31
6 CONCLUSÃO	33
7 REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

As parasitoses gastrintestinais apresentam altos índices de morbidade e mortalidade. Anualmente cerca de 3,5 bilhões de pessoas são afetadas por estas doenças e 65 mil delas morrem, principalmente em países em desenvolvimento devido à falta de saneamento básico, desnutrição e a dificuldade de acesso aos medicamentos (Fauci, 2001; Brooker, 2010). Dessa forma, constituem um relevante problema de saúde pública, pois ocasionam problemas diretos à saúde relacionada à falta de água encanada, ausência de rede de esgoto e a falta de orientação. A parcela da população mais afetada pelas doenças parasitárias é a faixa etária mais jovem da população e os hábitos de higiene dos pais é um dos fatores que contribuem para esta contaminação, comprometendo assim o desenvolvimento intelectual e físico de crianças e jovens (Fonseca et al., 2010; Vasconcelos et al., 2011).

Embora existam várias estratégias de controle disponíveis para combater os nematóides gastrintestinais de humanos e animais, os fármacos sintéticos são os mais utilizados e que apresentam grande impacto positivo na conservação da saúde humana e animal (Steppek et al., 2004). No entanto, esses fármacos não estão isentos de problemas, tais como a resistência aos medicamentos e a quantidade de resíduos químicos no ambiente (Dalton, Mulcahy, 2001; Steppek et al., 2004).

Torna-se, portanto, iminente o estudo de novas alternativas de controle contra estes parasitos gastrintestinais de humanos e animais, e a utilização de extratos de plantas medicinais têm se mostrado uma estratégia com grande potencial (Tagboto, Townson, 2001).

A esse respeito diversos estudos empregando plantas medicinais e seus derivados têm evidenciado as atividades ovicida e larvicida frente a diversos parasitos (Macedo et al, 2009; Lone, 2012; Bi, Goyal, 2012; Sousa et al., 2013; Sá-Nunes et al., 2006). Estudo *in vitro* realizado por Macedo et al. (2009) com o óleo essencial de *Eucalyptus globulus* L. sobre a eclosão e desenvolvimento de larvas de *Haemonchus contortus*, nematoide gastrintestinal de ruminantes, evidenciou atividade ovicida e ou larvicida com potencial para utilização no seu controle. Naquele trabalho, os autores demonstraram a partir de diferentes concentrações, um percentual de 99,3% de eficácia sobre a eclodibilidade dos ovos na concentração de 21,75mg/mL e 98,7% sobre as larvas na concentração de 43,5mg/mL. Em outro trabalho, os extratos metanólicos de *Euphorbia helioscopia* apresentaram atividade

anti-helmíntica quando testados *in vitro* e *in vivo* sobre *H. contortus*, nas concentrações de 12,5, 25 e 50mg/mL, que exibiram efeito concentração-dependente sugerindo uma alternativa para o tratamento de casos de infecções por helmintos em ruminantes (Lone, 2012).

Frente aos parasitos gastrintestinais *Toxocara canis* e *Ancylostoma caninum* outras espécies vegetais foram avaliadas e observou-se a sensibilidade desses parasitos (Bi, Goyal, 2012; Sousa et al., 2013). Um estudo com extrato de *Carica papaya* L., sugeriu um papel potencial desta planta como anti-helmíntico contra uma infecção por *A. caninum* em camundongos (Bi, Goyal, 2012; Sousa et al., 2013). Outro apontou atividade larvicida de extratos hexânicos de *C. ambrosioides* L., *in vitro*, na concentração de 0,01mg/mL frente a larvas infectantes de *T. canis* (Reis et al., 2010).

Dessa forma, é evidente o potencial de plantas medicinais e seus derivados como ovicidas e ou larvicidas e diversas são as espécies de plantas que ainda não foram avaliadas quanto a essa atividade. Avaliar a atividade larvicida e/ou ovicida de espécies nativas da Mata Atlântica que ainda não apresentam publicações com atividade anti-helmíntica, como as espécies *Euterpe edulis* Martius, *Mikania glomerata* Spreng e *Mikania laevigata* Schultz Bip sobre os nematóides gastrointestinais *T. canis* e *A. caninum*, investigar se há atividade larvicida e/ou ovicida dessas espécies de plantas medicinais; se essas atividades são diferentes entre as plantas e se aumentando a concentração dos extratos, também se aumentará a atividade larvicida e/ou ovicida das espécies em estudo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PARASITOS GASTRINTESTINAIS EM HUMANOS

Os parasitos gastrintestinais estão entre as causas mais comuns de infecções em humanos no mundo de hoje. Estimativas recentes pressupõem que cerca de 48% da população acometida por infecções parasitárias estão infectadas com pelo menos uma espécie de nematóide gastrointestinal, enquanto que quase 10% estão infectados por pelo menos duas espécies desses parasitos (Hall et al., 2008).

Geralmente a contaminação humana acontece acidentalmente pela ingestão das formas infectantes do parasito que está presente no solo, em fômites, nos alimentos, na água e nas mãos contaminadas, principalmente de crianças (Coelho et al., 2001; Hall et al., 2008).

Os cães, animais mundialmente domesticados, estão envolvidos involuntariamente na transmissão de mais de 60 zoonoses ao homem e os parasitos intestinais estão entre os agentes patogênicos mais comumente encontrados nestes animais de companhia (Macpherson, 2005; Katagiri, Oliveira-Sequeira, 2007).

Dentre as inúmeras parasitoses as quais o homem está susceptível em virtude da proximidade aos animais de estimação, configuram como importantes problemas de saúde pública as doenças conhecidas como Larva migrans visceral e Larva migrans cutânea, causadas pelos nematóides *Toxocara canis* e *Ancylostoma caninum* (Cassenote et al., 2011).

A síndrome larva migrans visceral, também conhecida como Toxocaríase é transmitida aos humanos, especialmente crianças, através da ingestão de ovos larvados de *T. canis* provenientes de ambientes contaminados por fezes caninas (Nunes et al., 2000; Fisher, 2003). No entanto, há relatos do desenvolvimento da doença em virtude do consumo de carne crua, mal cozida ou de miudezas de aves ou mamíferos contaminados com *T. canis* e ovos embrionados de *T. canis* encontrados na pelagem de cães, o que sugere que o contato direto com esses cães parasitados pode infectar as pessoas com *T. canis* (Wolfe, Wright, 2003; Fillaux, Magnaval, 2013).

A larva migrans cutânea, também conhecida como “bicho geográfico”, é uma dermatite causada pela infecção e migração das larvas de nematóides, geralmente de ancilóstomo de cães, gatos e outros mamíferos, em hospedeiros não habituais. No ser humano, as larvas de terceiro estágio de ancilostomídeos, como *A.*

caninum, *A. braziliense* e *A. tubaeforme* presentes em solos contaminados por fezes de cães e gatos, penetram na pele e migram até vários centímetros por dia pelo tecido subcutâneo, onde induzem uma reação inflamatória eosinofílica localizada. A Larva migrans cutânea apresenta uma característica erupção cutânea serpigínea, que é geralmente eritematosa, distribuídas principalmente nos pés, pernas, nádegas, genitálias e mãos. Embora a maioria das larvas seja incapaz de invadir tecidos mais profundos, devido ao intenso prurido que a dermatite provoca, o quadro pode se agravar, pois pode ocasionar lesões ou infecções secundárias (Araújo et al., 2000; Kwon et al., 2003).

No Brasil, os principais responsáveis pela larva migrans cutânea são o *Ancylostoma braziliense* e *Ancylostoma caninum*. (Santarém, Giuffrida, Zanin, 2004).

Diversos estudos relatam a prevalência dessas parasitoses em cães e a contaminação de locais públicos de recreação por todo o Brasil e, portanto, importantes fontes de infecção (Araújo et al., 2000; Nunes et al., 2000; Scaini et al., 2003; Blazius et al., 2005; Guimarães, 2005).

2.1.1 *Toxocara canis*

O *T. canis* pertence ao filo Nematelminthes, classe Nematoda, ordem Ascarididae, família Ascaridae e subfamília Toxocarinae (Bowman et al., 2006). O *T. canis*, juntamente com o *T. cati* são as espécies responsáveis pela toxocaríase humana, comumente encontrados em cães e gatos, respectivamente (Despommier, 2003).

A fêmea adulta do *T. canis* mede entre 6-18 cm e o macho 4-10 cm, o dimorfismo sexual é nítido, sendo que os machos têm a extremidade posterior recurvada no sentido ventral. Na extremidade anterior do *T. canis* é possível observar asas cefálicas estreitas, o que os diferencia a espécie *T. cati* (Jacob, Oselka, 1991).

Os vermes adultos de *T. canis* vivem no intestino delgado do hospedeiro, em média, quatro meses, alimentando-se de produtos pré-digeridos (aminoácidos, vitaminas e oligoelementos) (Jacob, Oselka, 1991; Ribeiro, 2004).

A fêmea do *T. canis* é extremamente fértil, podendo liberar até 200.000 ovos por dia e como a carga parasitária no animal infectado pode alcançar até várias centenas de parasitos, esses hospedeiros podem contaminar o ambiente com milhões de ovos (Jacob, Oselka, 1991).

Os ovos de *T. canis* são altamente resistentes às variações climáticas e às ações de agentes químicos, podendo permanecer viáveis por tempo prolongado no solo (Urquhart et al, 1998; Verocai et al., 2010). Esses ovos possuem três camadas: a mais externa, a camada mamilonada; a central, composta de proteína e quitina, e a camada interna, predominantemente lipídica. Essa última funciona como principal barreira contra a permeabilidade do ovo (Jacob, Oselka, 1991).

Nas fezes, os ovos não estão embrionados, portanto, não são infectantes. A embriogênese só acontece quando as condições adequadas de temperatura (15 a 35°C) e umidade (90%) são favoráveis e consiste no desenvolvimento, dentro do ovo, da larva, L1, L2 e L3, (forma infectante). (Jacob, Oselka, 1991; Bowman et al, 2006; Napoli, Sartor, Martins, 2010). Observa-se que num período de 2 a 5 semanas, nessas condições de temperatura e umidade, 85% dos ovos de *T. canis* tornam-se infectantes (Carvalho, Rocha, 2011).

2.1.1.1 Ciclo biológico e transmissão

Os ovos de *T. canis* são eliminados com as fezes do cão. Os cães podem se infectar por diversas maneiras: ingestão de ovos embrionados; ingestão de larvas e tecidos de hospedeiros paratênicos; migração transplacentária; passagem da larva pelo leite da cadela que amamenta e ingestão, pela cadela, de larvas do *T. canis* presentes nas fezes ou vômitos de filhotes, quando da higienização dos mesmos (Carvalho, Rocha, 2011).

Após a ingestão do ovo embrionado pelo cão, este libera a larva no estômago e intestino delgado. Essas larvas, que se alimentam de serosidades e medem 20µ por 400µ penetram na mucosa intestinal, invadem a corrente linfática ou sangüínea e alcançam o fígado dentro de 24 horas. Posteriormente, atingem o coração e os pulmões, através do sistema vascular. O acometimento pulmonar acontece após 3-5 dias da infecção. (Jacob, Oselka, 1991; Ribeiro, 2004).

Dos pulmões, algumas larvas passam dos bronquíolos para a traquéia e faringe, sendo então deglutidas (rota traqueal). Após duas mudas, essas larvas tornam-se vermes na luz intestinal, iniciando, então, a postura de ovos. Esses ovos aparecem nas fezes 4-5 semanas após a infecção (Jacob, Oselka, 1991).

A rota traqueal acontece, preferencialmente, em cães menores de 5 semanas de idade, enquanto em animais mais velhos as larvas migram do pulmão para o coração e daí para os tecidos do hospedeiro, onde permanecem quiescentes (rota somática), sem desenvolvimento, podendo sobreviver por vários anos, sendo

esse fato fundamental para a transmissão placentária do parasito. A migração pulmonar é reduzida no cão após um ou dois meses de vida, quando se mantém a migração somática. Desse modo o cão adulto raramente apresentará o verme no intestino, mas poderá apresentar larvas dormentes nos tecidos, importantes nas fêmeas, para a transmissão placentária (Jacob, Oselka, 1991; Urquhart et al., 1998).

A transmissão transplacentária característica do *T. canis* é bastante importante do ponto de vista de contaminação ambiental, já que grande parte dos cães nascidos com alto grau de parasitismo, a prevalência do *T. canis* nos filhotes se aproximam dos 100% (Carvalho, Rocha, 2011). Na via transplacentária, larvas de infecção recente por ingestão de ovos ou larvas dormentes nos tecidos da cadela prenha são ativadas (provavelmente pela progesterona) e migram para a placenta caindo na circulação fetal e após o nascimento migram para os pulmões completando o ciclo. Admite-se que uma cadela, infectada, abriga larvas suficientes para infectar todas as ninhadas subsequentes (Urquhart et al., 1998).

Outro modo de transmissão de larvas é através da amamentação, larvas migrantes da cadela na fase final da gestação atingem as mamas e são excretadas no leite nas primeiras semanas da lactação; sendo que a presença de larvas no colostro é constatada logo após o parto, sendo máxima durante a segunda semana de lactação (Jacob, Oselka, 1991; Urquhart et al., 1998; Bowman et al, 2006).

A contaminação humana com ovos de *T. canis* se faz geralmente pela ingestão de ovos com alimentos ou água contaminados ou através de mãos não lavadas que entraram em contato com solo contaminado com ovos. Crianças em sua primeira década de vida são propensas a infecções por causa de seu comportamento geofágico, que está ligada a um maior risco de exposição a *playgrounds* ou caixas de areia contaminada com fezes de cães (Despommier, 2003).

Toxocara spp. normalmente não causam alterações patológicas em espécies de hospedeiros definitivos, tais como os cães. No homem, embora a maioria das pessoas desenvolva um quadro assintomático, algumas apresentam quadros clínicos graves associados aos órgãos para onde as larvas migraram (Fragoso, et al., 2011; Macpherson, 2013).

No intestino humano, após a eclosão do ovo de *T. canis* e a larva penetra na mucosa intestinal, migrando pela circulação portal até o fígado, onde pode ser encapsulada ou alcançar os pulmões e coração, sendo disseminada pela circulação sistêmica. Dependendo da resistência conferida pelo diâmetro dos vasos

sangüíneos do tecido, a disseminação pode ser impedida, possibilitando a lesão da parede vascular e a migração errática dessas larvas pelo tecido acometido (Jacob, Oselka, 1991).

Esse fenômeno pode desencadear hemorragias, necrose e processo inflamatório, que podem resultar no encapsulamento fibroso dessas larvas no tecido, onde permanecem viáveis por longos períodos. Dependendo das condições imunitárias do hospedeiro, algumas larvas podem ser destruídas e a lesão reparada, progressivamente, enquanto outras ficam livres no tecido (Jacob, Oselka, 1991).

Assim, as larvas migrantes podem produzir quadros clínicos, que incluem larva migrans visceral (forma sistêmica), larva migrans ocular e neurológica (formas localizadas), toxocaríase oculta e assintomática (Jacob et al, 1994; Despommier, 2003; Rubinski-Elephnat, 2010; Carvalho, Rocha, 2011).

A larva migrans visceral é geralmente uma doença relativamente benigna, caracterizada principalmente por eosinofilia crônica, febre, manifestações pulmonares, hipergamaglobulinemia e hepatomegalia (Beaver, Snyder, Carrera, 1952). Nessa síndrome clínica, a faixa etária mais freqüentemente acometida é aquela entre 1-5 anos de idade, devido à geofagia comum nessa período da vida, apesar de existirem relatos da doença acometendo adultos (Jacob, Oselka, 1991).

A larva migrans ocular é uma doença rara, sendo o espectro da doença clínica difícil de reconhecer, será descrita por Wilder em 1950 e resulta da migração das larvas para os olhos, que geralmente se manifesta com um granuloma coriorretiniano solitário, na retina periférica ou na mácula, a uveíte, e/ou deslocamento de retina. Os sinais clínicos mais comuns são a inflamação vítrea, edema macular cistoide e fios de tração vítreo-retinianas que levam ao disco óptico e/ou um granuloma (Morais, 2012; Verillo, 2012). Geralmente ocorre em crianças de 5 a 10 anos de idade e, normalmente, apresenta como comprometimento da visão unilateral que às vezes é acompanhada por estrabismo (Despommier, 2003).

2.1.1.2 Diagnóstico

Nos cães, o diagnóstico de *T. canis* se dá através da constatação de ovos característicos nas fezes, podendo ser utilizadas técnicas de exame direto e sedimentação simples. São técnicas simples e de rotina que apresentam sensibilidade para diagnóstico em animais jovens com grande postura de ovos, mas que apresenta baixa sensibilidade para os animais mais velhos que lançam ovos de forma intermitente e/ou em baixo número (Macpherson, 2013).

Tratando-se do diagnóstico da toxocaríase em humanos, quase todas as infecções em humanos são *Toxocara* diagnosticados sorologicamente (Rubinski-Elephnat, 2010).

A utilização combinada de TES-ELISA seguido pela *Western blotting* representa a atual opção de escolha no que diz respeito à sensibilidade e especificidade para diagnóstico de *Toxocara canis*. No entanto, a dificuldade de diagnóstico da infecção ativa na toxocaríase continua a ser um problema. A presença de uma taxa significativa de anticorpos residuais na população em geral, faz a interpretação de um teste realmente positivo ser difícil. Ao contrário dos métodos utilizados para o imunodiagnóstico de infecções bacterianas, infecções virais ou por protozoários (toxoplasmose), não é possível na toxocaríase avaliar a idade da presença de IgG específico, utilizando os níveis de IgM específica, porque os anticorpos IgM podem ser encontrados durante todo o curso da helmintíase. A detecção de outras classes de imunoglobulinas, ou seja, a IgE, IgA, as subclasses, nomeadamente IgG4 ou circulação Ag será provado ser incapaz de discriminar entre infecções generalizadas toxocaral ativas e auto-cura. Atualmente, o diagnóstico de uma toxocaríase ativa depende de argumentos indiretos, por exemplo, a presença de sintomas, juntamente com o sangue inexplicáveis eosinofilia e /ou elevados níveis de proteína catiônica eosinofílica (Fillaux, Magnaval, 2013).

2.1.1.3 Medidas de controle

Os cães são hospedeiros definidos do *T. canis* e a menos que as medidas preventivas sejam tomadas serão portadores deste parasito. Entende-se como medida preventiva: vermifugação regular dos cães, prevenir a contaminação do solo com fezes de cães em áreas imediatamente adjacentes às casas e às áreas de lazer de crianças, regular lavagem das mãos após ter contato com terra e antes de comer e controlar a geofagia e a redução da população canina (Carvalho, Rocha, 2011).

A principal fonte de contaminação por *Toxocara* é o solo e em um ambiente externo sob condições adequadas de temperatura e umidade, acredita-se que os seus ovos podem sobreviver cerca de seis anos. Devido a esta alta resistência, estudos mostram que a desinfecção de locais contaminados por este parasito é muito difícil, pois ele é resistente a vários produtos desinfetantes, tais como etanol 70%, glutaraldeído 2%, hipoclorito de sódio 7%, permanganato de potássio 1%, hidróxido de potássio 10% e fenol 3%, sem contar que também é resistente às variações climáticas (Ayçiçek et al., 2001). Assim, medidas alternativas

que auxiliem na descontaminação do solo devem ser planejadas para contribuir com o controle deste nematóide no ambiente (Verocai et al., 2010).

Dentre elas, uma medida promissora é a utilização de fungos nematófagos presentes no meio ambiente e, cuja ação está concentrada no ambiente fecal e direcionada ao combate dos ovos e das larvas de vida livre dos geohelmintos (Braga et al., 2011). A espécie de fungo nematófago *Pochonia chlamydosporia*, que devido ao seu parasitismo, causa a destruição dos ovos, pode ser uma alternativa de controle biológico para os ovos embrionados de *Toxocara canis* (Frassy et al., 2010).

Outra estratégia é a utilização de plantas medicinais, como por exemplo a utilização de *Chenopodium ambrosioides*, planta originária da América Central e do Sul, cujo extrato hexânico apresentou potencial atividade anti-helmíntica *in vitro* e uma redução na reação inflamatória produzida pela infecção de larvas de *T. canis in vivo* de camundongos, o que sugerem que mais estudos na área devem ser realizados para avaliação da melhor dose, comparação das fases da migração das larvas e para se fazer uma análise multifatorial - contagem de larvas, imunologia e histologia - (Reis et al., 2010).

2.1.2 *Ancylostoma caninum*

A espécie *Ancylostoma caninum* pertence ao Filo Nematelminthes, classe Nematoda, família Ancylostomatidae e está distribuída mundialmente, sobretudo nas regiões quentes dos trópicos (Fortes, 1997; Urquhart et al., 1998; Taylor et al., 2010).

O *A. caninum* é de coloração vermelho-acinzentado, dependendo se está ou não alimentado, apresenta cápsula bucal subglobulosa, com três pares de dentes situados na margem ventral do orifício oral e um par de dentes ventrolaterais. São facilmente identificados devido a sua anatomia em forma de gancho característica. O comprimento dos machos varia em média cerca de 9 a 13 mm e o das fêmeas de 14 a 20 mm. Os ovos são elípticos, de casca fina e contém 2-8 blastômeros (Urquhart et al., 1998; Fortes, 1997; Taylor, 2010).

Os adultos vivem fixados à mucosa do intestino delgado; onde as fêmeas põem diariamente, em média, cerca de 16.000 ovos não embrionados (Ribeiro, 2004).

2.1.2.1 Ciclo biológico e transmissão

O ciclo de vida de *A. caninum* no hospedeiro definitivo é muito semelhante a do ciclo de vida do ancilóstomo para espécie humana. Os ovos são eliminados nas fezes do hospedeiro definitivo (cão adulto ou gato). Sob condições favoráveis (umidade, calor, sombra), larvas rhabditóides eclodem em um a dois dias. Após 5 a 10 dias (e duas mudas), elas tornam-se larvas filariformes (terceira fase), que é infecciosa e pode sobreviver três a quatro semanas, em condições ambientais favoráveis (Brenner, Patel, 2003).

A infecção por *A. caninum* se dá pela ingestão ou pela penetração cutânea das larvas infectantes (L3), elas são as únicas infectantes para o homem e sua penetração se faz principalmente pela pele das extremidades inferiores. Através da circulação sanguínea, elas chegam aos capilares pulmonares, atravessam a parede alveolar, sobem com as secreções mucosas da árvore brônquica até a laringe e a faringe e, deglutidas, vão ter ao intestino, onde ocorrem as últimas ecdises e transformação final em vermes adultos, machos e fêmeas (Rey, 2001; Bowman, 2006).

As áreas do corpo humano comumente afetadas são o dorso dos pés, nádegas, e, menos comumente, no dorso da mão. Lesões sobre a parede abdominal anterior, o eixo do pênis, região perianal, ou a cavidade oral pode ocorrer raramente. Lesões de mama podem ocorrer em mulheres de *topless* e deitadas de bruços em uma praia tropical. Mais do que uma lesão pode ocorrer devido a vários pontos de entrada. Como a larva sobrevive no hospedeiro humano por apenas 2-4 semanas, a doença é auto-limitada em mais de 80 % dos casos (Upendra et al., 2013).

No entanto, nos casos de infecções maciças, as larvas podem penetrar em tecidos mais profundos, levando a sintomas pulmonar ou intestinal (Robertson, Thompson 2002). Sintomas como tosse, sibilância e dor no peito são ocasionais, enquanto eosinofilia pulmonar (pneumonia de Loeffler) costumam acompanhar a infecção grave (Upendra et al., 2013). A dermatite causada pela penetração de larvas, principalmente de *A. caninum* e de *A. braziliensis*, é denominada de Larva Migrans Cutânea, referida popularmente como “bicho-geográfico” (VELHO et al., 2003).

Clinicamente coceira, lesões eritematosas, levantadas serpiginosas avançando a uma taxa de 2 mm a 3 cm por dia desenvolvem em 1-6 dias após a infecção é adquirida. Quadro clínico clássico pode ficar sobreposto com impetigo após a infecção bacteriana secundária de repetição coçar. Lesões bolhosas e lesões

com foliculite ou eczematização são outras apresentações observadas (Upendra et al., 2013).

Também se têm demonstrado que infecções entéricas com *A. caninum* podem levar a enterite eosinofílica enterite, ocasionando dor abdominal, diarreia, distensão abdominal, perda de peso e sangramento retal (Walker et al., 1995).

Nos cães, as infecções agudas, promovem anemia e cansaço, além de dificuldade respiratória. Em filhotes caninos lactantes, a anemia costuma ser grave e acompanhada por diarreia, que pode conter sangue e muco. Os sinais respiratórios podem ser decorrentes de dano pulmonar causado pelas larvas ou dos efeitos anóxicos da anemia. Em infecções mais crônicas, geralmente o animal está com baixo peso, pelo opaco, perda de apetite e muitas vezes perversão do apetite. Com pouca frequência há lesões cutâneas e claudicação (Taylor et al, 2010).

2.1.2.2 Diagnóstico

O diagnóstico nos cães é simples e preciso e se dá pela identificação de ovos nas fezes através da técnica de coprocultura e pelo exame hematológico para constatação da anemia (Rey, 1991).

Em humanos, o diagnóstico de *A. caninum* é feito a partir de lesões clássicas, especialmente em indivíduos ou viajantes que retornam de regiões tropicais profissionalmente expostos. Eosinofilia periférica é transitória e pode estar associada com infiltrados pulmonares migratórios ou aumento dos níveis séricos de IgE de pouco valor diagnóstico. A biópsia de pele não é útil no diagnóstico e mostra predominante infiltração eosinofílica, enquanto a larva raramente é vista como teria avançado além das lesões cutâneas. Microscopia epiluminescência é um método eficaz, não-invasivo para confirmar o diagnóstico. A larva é visualizada melhor na ampliação de 40x como marrom, área linear segmentada translúcida, e o interior vazio com vasos pontilhados vermelhos. O exame sob microscópio confocal de reflectância pode ser usado eficazmente para visualizar a larva altamente birrefringente e perturbação escuro no padrão “favo de mel” epidérmica correspondendo ao interior larval. Recentemente, a identificação da larva por tomografia de coerência óptica verificou ser útil na sua remoção direta. Outros diferenciais incluem dermatite cercarial, curvilíneas lesões de dermatite de contato, e miíase migratória (Upendra et al., 2013).

2.1.2.3 Medidas de controle

A anemia crônica da ancilostomíase ocasionada por *A. caninum* é particularmente devastador para as crianças, que sofrem de crescimento atrofiado e desenvolvimento intelectual prejudicado, para as mães que estão em maior risco de anemia durante a gravidez e parto, e para os idosos, por isso as medidas de controle são tão importantes (Wang et al., 2010).

Em humanos, tal como acontece com muitas outras zoonoses parasitárias de rota oral-fecal é extrema importância os procedimentos de higiene adequadas, tais como lavar as mãos e remoção e eliminação de fezes, reduzindo a chance de infecção. Além disso, regulares vermifugação de cães e gatos irão eliminar ou minimizar as cargas parasitárias e reduzir a contaminação ambiental. Usando calçado fechado nas áreas onde cães ou gatos podem ter defecado também vai reduzir a probabilidade de ocorrer larva migrans cutânea (Robertson, Thompson 2002).

Embora as drogas anti-helmínticas sejam eficientes na desparasitação de pessoas infectadas, a rápida re-infecção em áreas endêmicas e à falta de imunidade estéril exige tratamentos repetidos, que por sua vez resultam em resistência. As altas taxas de re-infecção após o tratamento medicamentoso significa que as vacinas permanecem a melhor esperança para o controle de vermes em humanos no futuro (Wang et al., 2010).

No entanto, nenhuma vacina ainda está disponível, apesar dos investimentos para o desenvolvimento de uma vacinas específica para ancilostomatídeos. Até que vacinas seguras e eficazes sejam desenvolvidas, anti-helmínticos irão continuar a ser utilizados para o tratamento e controle de infecções em seres humanos de nematóides. Assim, existe uma necessidade crítica de mais pesquisas para identificar novas drogas, que exijam uma melhor compreensão da biologia e parasitismo destes devastadores parasitos (Wang et al., 2010; Macpherson, 2013).

Estudos têm demonstrado a eficiência dos fungos nematófagos no controle biológico de nematóides gastrintestinais (Maciel, Araújo e Cecon, 2006; Frassy et al., 2010; Braga et al., 2011). Um estudo utilizou extrato bruto enzimático de *Pochonia chlamydosporia* (VC4) sobre ovos de *Ancylostoma* sp, in vitro, em meio ágar-água 2% e em cultura de fezes. O referido estudo comprovou que o extrato bruto enzimático de *Pochonia chlamydosporia* foi eficiente na redução da eclosão

dos ovos de *Ancylostoma* sp e que portanto, pode ser utilizado como controlador desse nematóide (Braga et al., 2011).

Uma vertente ainda promissora é a utilização de plantas medicinais e seus derivados, como é o extrato de *C. papaya*, que foi avaliado contra larvas de *A. caninum* em infecção em camundongos. Nesse estudo, os camundongos foram infectados com 500 larvas de *A. caninum* (grupos A e B). O grupo C não foi infectado (controle). O grupo de camundongos do grupo A foi tratado com 0,2mL do extrato da planta/camundongo, em mais de um momento da infecção, enquanto que o grupo B não recebeu nenhum tratamento, apenas as larvas de *A. caninum*. A recuperação das larvas e dos mastócitos e a contagem de eosinófilos dos grupos analisados nesta pesquisa sugerem uma potencial atividade anti-helmíntica da planta *C. papaya* contra infecções por nematóides intestinais (Bi, Goyal, 2012).

2.2 PLANTAS MEDICINAIS

O relato de uso de plantas medicinais para tratamento de doenças e distúrbios de saúde em humanos é milenar e continua nos dias atuais, sendo as principais cólicas menstruais, os distúrbios gastrintestinais, a insônia, o resfriado, as doenças parasitárias, dentre outras (Wink, 2012).

Muitos dos medicamentos sintéticos hoje disponíveis para o tratamento das doenças parasitárias foram desenvolvidos há muitos anos atrás e, devido aos anos de utilização, muitas espécies de parasitos gastrintestinais já desenvolveram resistência a eles (Stepek et al., 2004). E infelizmente, os medicamentos antiparasitários não são prioridade para as indústrias farmacêuticas porque destinam-se a países pobres, onde a população não pode pagar um preço alto pelas drogas (Hall et al., 2008).

Os países em desenvolvimento combatem às doenças parasitárias com albendazol, mebendazol, praziquantel e ivermectina (Hotez et al., 2008). Sabendo-se que a disponibilidade e eficácia destas drogas dependem da dosagem, da necessidade de associação de drogas e da espécie do nematóide intestinal infectado, e que irá impactar diretamente no tratamento nutricional e no estado de crescimento da criança se não forem bem tratadas (Hall et al., 2008).

Diante do rápido desenvolvimento de populações de nematóides resistentes, do alto custo do tratamento sintético e do risco de resíduos nos

alimentos e de contaminação ambiental, novas medidas de controle tornaram-se necessárias (Macedo et al, 2009).

Uma alternativa que tem sido avaliada é a utilização de plantas medicinais e seus derivados (extratos, frações enriquecidas, óleo essencial, tintura) no controle das parasitoses gastrintestinais. Essa medida, além de ter se mostrado eficaz em diversas pesquisas, tem a vantagem de ser sustentável e não agredir o meio ambiente (Eguale, 2007a; Eguale, 2007b; Costa et al., 2008).

Os produtos naturais continuam a ter importante papel na descoberta e no desenvolvimento de novos medicamentos e essa exploração como fonte de novos agentes ativos é o alicerce para a elaboração de medicamentos eficazes para doenças ainda hoje incuráveis (Newman, Cragg, 2012).

No Brasil, foi publicada uma lista de 71 plantas de Interesse ao Sistema Único de Saúde (SUS) – RENISUS - divulgada pelo Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos do Ministério da Saúde, que dentre as espécies constam diversas espécies usadas pela população, como a *Matricaria recutita* (camomila) e *Aloe vera* (babosa), com o propósito de direcionar a elaboração da relação de fitoterápicos disponíveis para uso seguro e eficaz da população (Renisus, 2009).

2.2.1 *Euterpe edulis* Martius

A palmeira *Euterpe edulis* Martius, família Arecaceae, é popularmente conhecida como juçara (jussara) e é encontrada do nordeste ao sul do Brasil, ocorrendo em vários ecossistemas na Mata Atlântica, que vão desde florestas tropicais a florestas estacionais (Reis et al., 2000; Conte et al., 2003; Felzenszwalb et al., 2013).

E. edulis está incluída na lista oficial do site de espécies brasileiras ameaçadas de extinção e no Espírito Santo, uma Instrução Normativa foi publicada, considerando a necessidade de simplificar os Planos de Exploração Sustentável de Produtos Não Madeireiros para que o pequeno produtor e as populações tradicionais tenham acesso a tal atividade e que a espécie seja preservada (Espírito Santo, 2013).

Os frutos são consumidos por aves, mamíferos e roedores, e as sementes são usadas na alimentação animal. São considerados uma rica fonte de energia, e têm sido reconhecidos por certas propriedades funcionais, principalmente devido às antocianinas (Rufino et al., 2010; Inácio et al., 2012).

A polpa do fruto de *E. edulis* apresenta maior concentração de ácidos fenólicos (ferúlico, gálico, protocatecuico e *p*-cumárico) e flavonóides (catequina, epicatequina e quercetina), quando comparada com os outros representantes importantes do mesmo gênero, *E. precatoria* e *E. oleracea* (Borges *et al.*, 2010).

2.2.2 *Mikania glomerata* Spreng.

Mikania glomerata Spreng., família Asteraceae, popularmente conhecida como guaco, é nativa do Brasil e apesar de não ter sua constituição química totalmente elucidada é uma das espécies mais estudadas sobre o aspecto farmacognóstico (Brandão *et al.*, 2006; Amaral *et al.*, 2009).

Para a *M. glomerata* diversas atividades farmacológicas foram evidenciadas, entre elas antifúngica, antimicrobiana, broncodilatadora, antialérgica, anti-inflamatória (Fierro *et al.*, 1999; Holetz *et al.*, 2002; Napimoga, Yatsuda, 2010). Além de ter demonstrado atividade na inibição do crescimento e morte de células tumorais e na neutralização eficiente dos venenos das serpentes *Bothrops* e *Crotalus* (Lacy, O'Kennedy, 2004; Maiorano *et al.*, 2005).

Esta planta configura entre as diversas plantas dispostas na Lista de Medicamentos Fitoterápicos de Registro Simplificado, publicada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em 2008, tendo sua indicação farmacológica expectorante/broncodilatador reconhecida devido a cumarina (BRASIL, 2008).

A cumarina é um dos principais responsáveis pelas atividades farmacológicas da *M. glomerata*, embora estudos recentes têm evidenciado a ausência desse marcador químico nessa espécie (BERTOLUCCI *et al.*, 2009; Lessa *et al.*, 2012; BERTOLUCCI *et al.* 2013 a; 2013b).

Outros constituintes químicos foram relatados para *M. glomerata* entre eles lupeol, 2H-1-benzopirran-2-ona, ácidos ent-caur-16(17)-en-19-óico, ent-15- β -isobutyloxycaur-16(17)-en-19-óico, ent-15- β -benzoioxycaur-16(17)-en-19-óico, ent-15- β -hydroxycaur, 16(17)-en-19-óico, ent-17-hydroxycaur-15(16)-en-19-óico e o-hidroxicinâmico. São encontrados ainda no óleo essencial, sesquiterpenos e diterpenos do tipo caurano (ácidos caurenico, grandiflórico, cinamoilgrandiflórico e caurenol). Outros metabólitos secundários como β -sitosterol, friedelina, estigmasterol, taninos hidrolisáveis, flavonóides e saponina, também estão presentes na composição desta espécie (Veneziani, Oliveira, 1999; Czelusniak, *et al.*, 2012; Soares e Silva *et al.*, 2012).

Um estudo recente sugere ainda que a *M. glomerata* apresente atividade antioxidante que possa estar correlacionada com seus efeitos bactericidas sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* e esquistossomicida sobre *Schistosoma mansoni* (Santana et al., 2013).

2.2.3 Mikania laevigata Schultz Bip. ex Baker

Assim como várias outras espécies do gênero Mikania, a *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker também é popularmente conhecida como guaco, e é uma espécie nativa do sul do Brasil (Napimoga, Yatsuda, 2010).

As espécies *M. laevigata* e *M. glomerata* apresentam pequenas diferenças morfológicas, mas que não interferem na sua utilização na medicina popular brasileira. A população, por vezes, utiliza as duas espécies, sem distinção (Oliveira et al., 1986; Holetz et al., 2002). Estudos já revelam que a eficácia dessas espécies para os principais males tratados pela população, transtornos inflamatórios e alérgicos do sistema respiratório, está comprovada e são similares (Freitas et al., 2008; Gasparetto et al., 2010).

A cumarina simples (1,2-benzopirona), assim como na *M. glomerata*, também é o principal marcador químico encontrado na *M. laevigata*, e sua presença na planta é notada pelo agradável aroma semelhante à baunilha característico desta substância (Gasparetto et al., 2010; Bertolucci et al., 2009; Lessa et al., 2012; Bertolucci et al. 2013 a; 2013b)

Estudos relatam ainda a presença de outros constituintes químicos com ações farmacológicas, entre eles estão diidroacumarina, ácido α -cumárico, ácido caurenóico, cinamoilgrandiflórico, cupressênico, isopropiloxigrandiflórico, isobutiloxigrandiflórico, caurenol, espatulenol, óxido de cariofileno, esteróides e triterpenóides, ácidos hexadecanóico, 9,12,15-octadecatrienóico; 9,12-octadecadienóico, 1-octadeceno, 2,5-ciclohexadieno-1,4-diona, siringaldeído, sabineno, α -pineno, β -pineno, mirceno, p-cimeno, silvestreno, e- β -ocimeno, terpin-4-ol, nonanal, 1,4-dimetoxibenzeno, α -elemeno, α -copaeno, β -elemeno, β -cariofileno, γ -elemeno, aromadendreno, α -humuleno, germacreno-D, biciclogermacreno, elemol, germacreno-B, e-nerolidol, espatulenol, globulol, óxido de cariofileno, *epi*-alfa-muurolol, α -cadinol, diterpenos, saponinas, taninos, estigmasterol dentre outros (Gasparetto et al., 2010; Rufatto et al., 2013; Bertolucci et al., 2009; Bertolucci et al. 2013 a; 2013b)

Embora não haja nenhum registro na ANVISA de medicamentos à base de *M. laevigata*, esta espécie é encontrada na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS) em conjunto com a *M. glomerata*, contribuindo com o desenvolvimento de pesquisas com espécies vegetais e incentivando a sua utilização na rede básica (Rennisus, 2009).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA- UVV) da Universidade Vila Velha (CEUA-UVV), conforme parecer consubstanciado nº 292/2013.

3.2 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL E PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS

3.2.1 *Mikania glomerata* Spreng e *Mikania laevigata* Schultz Bip ex Baker

As plantas *Mikania glomerata* Spreng. e *Mikania laevigata* foram fornecidas pelo Setor de Plantas Medicinais do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (DAG/UFLA). Exsiccatas de *Mikania glomerata* Spreng. e *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker foram depositadas no herbário do Instituto de Biociências da UFRGS, sob o registro ICN 141992 e ICN 141990.

O material vegetal seco de *M. glomerata* (260 g) e de *M. laevigata* (100 g) foi submetido à percolação com etanol a 96° GL. O extrato etanólico foi concentrado em evaporador rotatório, a 50 °C, sob pressão reduzida, até resíduo (Lessa et al., 2012).

3.2.2 *Euterpe edulis* Martius

Os frutos do palmitheiro juçara (1kg) foram fornecidos pelo INCAPER (Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural), estando de acordo com a Instrução Normativa 003/2013 (Espírito Santo, 2013). A amostra foi congelada em embalagem plástica transparentes com fecho hermético e mantida em *freezer* domésticas a -18°C até o uso.

A camada fibrosa dos frutos, bem como a fina cobertura oleosa e o mesocarpo foram retirados e o extrato etanólico de *E. edulis* foi preparado, empregando-se homogeneização durante 30 segundos, 10 g desse material sem a semente, em 70 mL de etanol aquoso a 80%. A mistura foi submetida a banho de ultrassom durante 20 min.

3.3 OBTENÇÃO DE OVOS DE *Toxocara canis*

Fêmeas grávidas de parasitos adultos de *T. canis* foram dissecadas e retiradas às alças uterinas contendo os ovos.

A seguir, esses ovos foram centrifugados em água destilada. O conteúdo presente no tubo de centrífuga foi homogeneizado e deste foram retirados três alíquotas de 10µL. Os ovos foram contados com auxílio de estereomicroscópio e aumento de 10x. A quantidade total desses ovos foi estimada de acordo com Araújo, Santos e Ferraz (1995).

3.4 OBTENÇÃO DE LARVAS DE *Ancylostoma caninum*

Cerca de 150g de fezes frescas de cães naturalmente infectados por *A. caninum* foram coletadas e utilizadas na confecção das coproculturas. Para tal, foi necessária a confirmação da contaminação por *A. caninum*, através da técnica de flutuação fecal de acordo com a técnica de Willis-Mollay (Araújo, 2006) e posterior observação ao microscópio óptico, inicialmente em objetiva de 10x, com posterior confirmação em objetiva de 40x. A contagem média de ovos por grama de fezes (OPG) foi de 125 ovos/3g.

3.5 ENSAIOS EXPERIMENTAIS

Foram realizados dois ensaios experimentais *in vitro*, distintos e denominados A e B. No experimento A, foi avaliado o percentual de embrionamento dos ovos de *T. canis* frente aos extratos de *E. edulis*, *M. glomerata* e *M. laevigata* em diferentes concentrações (0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL), etanol e albendazol em diferentes concentrações (0,01mg/mL, 0,05mg/mL e 0,1 mg/mL). conforme descrito por Reis et al. (2010). As concentrações utilizadas nos extratos foram selecionadas a partir de uma sequência logarítmica, pois não há padronização na literatura especializada.

No ensaio B avaliou-se a atividade larvicida das espécies em estudo nas concentrações 0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL e do etanol, sobre coproculturas de culturas de *Ancylostoma caninum* e grupo controle, sem tratamento.

3.5.1 Ensaio A

No ensaio A, 100 ovos de *T. canis*, foram vertidos em tubos de ensaio rosqueados contendo 5mL de extratos etanólicos nas concentrações 0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL das plantas medicinais em estudo (*E. edulis*, *M. glomerata* e *M. laevigata*). O grupo controle continha 100 (cem) ovos em 5mL de etanol (mesmo diluente usado na preparação dos extratos) no mesmo recipiente.

Foi realizado também um controle positivo com 100 (cem) ovos em tubos de ensaio rosqueados contendo albendazol nas concentrações 0,01mg/mL, 0,05mg/mL e 0,1 mg/mL; conforme descrito por Reis et al. (2010). Ainda havia um tubo contendo 100 (cem) ovos, que não recebeu nenhum tratamento. Todos os tubos, devidamente identificados e fechados, foram incubados a 26°C, no escuro por 15 dias. Cada tratamento foi constituído por seis repetições. Após cada período estudado, foi contado o número total de ovos embrionados e/ou não embrionados, presentes em cada tubo dos grupos tratado e controle de acordo com a metodologia descrita por Braga et al. (2011).

3.5.1.1 Análise estatística

A média de ovos embrionados recuperadas foi calculada. Os dados foram interpretados estatisticamente pela análise de variância em níveis de significância de 1 e 5% de probabilidade (Ayres et al., 2003). A eficiência de embrionamento em relação ao controle foi avaliada pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade, com o programa BioEstat 5.0.

Posteriormente o percentual de redução da média de L3 foi calculado de acordo com seguinte equação:

$$\% \text{Redução} = \frac{(\text{Média de ovos embrionados do controle} - \text{Médias de ovos embrionados do tratamento})}{\text{Média de ovos embrionados do controle}} \times 100$$

3.5.2 Ensaio B

A seguir, no ensaio B, cerca de 3g de fezes positivas foram misturadas com vermiculita industrial fragmentada (autoclavada) e umedecidas em cada copo. Posteriormente, foram adicionados 10mL de extratos etanólicos de *E. edulis*, *M. glomerata* e *M. laevigata* nas concentrações 0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL e levados à estufa a 26°C durante 8 dias, constituindo o grupo tratado. Cada tratamento foi constituído por três repetições. Foram realizados dois grupos controle:

um constituído pelas coproculturas sem os extratos e outro contendo apenas o diluente utilizado (etanol). Ao final desse período, foram obtidas larvas de terceiro estágio (L3) pelo método de Baermann, que foram identificadas e quantificadas segundo os critérios descritos por Urquhart et al. (1998) em microscópio óptico e objetiva de 10x.

3.5.2.1 Análise estatística

A média de L3 de *A. caninum* recuperadas foi calculada. Os dados foram interpretados estatisticamente pela análise de variância em níveis de significância de 1 e 5% de probabilidade (Ayres et al., 2003). A eficiência de destruição de L3 em relação ao controle foi avaliada pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade, com o programa BioEstat 5.0. Posteriormente o percentual de redução da média de L3 foi calculado de acordo com seguinte equação:

$$\% \text{Redução} = \frac{(\text{Média de L3 recuperadas do controle} - \text{Médias de L3 recuperadas do tratamento})}{\text{Média de L3 recuperadas do controle}} \times 100$$

4 RESULTADOS

4.1 ENSAIO A

A embriogênese dos ovos de *T. canis* ocorreu adequadamente durante o experimento A, conforme mostra o controle, e os resultados encontrados após 15 dias de interação entre os ovos e os extratos etanólicos podem ser observados na Tabela 1.

Todas as espécies investigadas (*M. glomerata*, *M. laevigata* e *E. edulis*) apresentaram atividade inibitória no percentual de embrionamento dos ovos de *T. canis*, em relação ao grupo controle.

Tabela 1. Médias e desvios padrão dos percentuais de ovos embrionados de *Toxocara canis* após o contato prévio com os grupos tratados com extrato etanólico de *Mikania laevigata* (0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL), extrato etanólico de *Mikania glomerata* (0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL), extrato etanólico de *Euterpe edulis* (0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL) e o grupo controle após 15 dias de interação.

Ensaio			
Espécie	Concentração	Média (%)	% embrionamento
<i>M. laevigata</i>	0,1mg/mL	43.3 ^A ±22.5	56,7
<i>M. laevigata</i>	1mg/mL	59.1 ^{AB} ±11.1	40,9
<i>M. laevigata</i>	10mg/mL	31.6 ^{AB} ±15.7	68,4
Controle	-	100 ^{BC}	100
Ensaio			
Espécie	Concentração	Média (%)	% embrionamento
<i>M. glomerata</i>	0,1mg/mL	40.8 ^A ±16.5	59,2
<i>M. glomerata</i>	1mg/mL	42.5 ^A ±10.8	57,5
<i>M. glomerata</i>	10mg/mL	31.6 ^A ±11.6	68,4
Controle	-	100 ^B	100
Ensaio			
Espécie	Concentração	Média (%)	% embrionamento
<i>E. edulis</i>	0,1mg/mL	57 ^A ±20.4	43
<i>E. edulis</i>	1mg/mL	40,8 ^A ±13.2	59,2
<i>E. edulis</i>	10mg/mL	35 ^A ±18.7	65
Controle	-	100 ^B	100

Letras distintas (A, B e C) nas colunas não diferem P>0,05 e P>0,01 – Teste de Tukey

A tabela 2 apresenta os resultados frente ao controle positivo com Albendazol e o controle negativo com o solvente utilizado nos extratos, o etanol, sob as mesmas condições de análise do experimento A.

Tabela 2. Médias e desvios padrão dos percentuais de ovos embrionados de *Toxocara canis* após o contato prévio com os grupos tratados com Albendazol (0,01mg/mL; 0,05 mg/mL e 0,1mg/mL), e o Etanol após 15 dias de interação.

Ensaio			
Tratamento	Concentração	Média (%)	% embrionamento
Albendazol	0,01mg/mL	43,3 ^A ±22,5	56,7
Albendazol	0,05mg/mL	59,1 ^B ±10,8	40,9
Albendazol	0,1mg/mL	68,3 ^B ±15,7	31,7
Etanol	-	31,6 ^A ±11,7	68,4
Controle	-	100 ^C	100

Letras distintas (A, B e C) nas colunas não diferem P>0,05 e P>0,01 – Teste de Tukey

4.2 ENSAIO B

No ensaio B, como podem ser observadas na tabela 3, nas coproculturas todos os extratos etanólicos testados (*M. glomerata*, *M. laevigata* e *E. edulis*) foram capazes de inibir a eclosão dos ovos de *A. Caninum* após 8 dias de interação; embora não tenha sido observado diferença (p>0,01) em relação à concentração de exposição do extrato das plantas, apenas diferença em relação ao controle.

Tabela 3. Médias e desvios padrão dos percentuais de larvas infectantes (L3) de *A. caninum* recuperadas das coproculturas nos grupos tratados com os extratos etanólico de *Mikania laevigata* (0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL), extrato etanólico de *Mikania glomerata* (0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL), extrato etanólico de *Euterpe edulis* (0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL) e o grupo controle após 8 dias de interação.

Ensaio			
Espécie	Concentração	Médias (%)	% L3 recuperadas
<i>M. laevigata</i>	0,1mg/mL	4,9 ^A ±2,9	57,3
<i>M. laevigata</i>	1mg/mL	3,0 ^A ±1,7	73,9
<i>M. laevigata</i>	10mg/mL	2,7 ^A ±2,7	78,2
Controle	-	11,5 ^B ±3,1	-

Ensaio			
Espécie	Concentração	Médias (%)	% L3 recuperadas
<i>M. glomerata</i>	0,1mg/mL	4,5 ^A ±3,5	56,9
<i>M. glomerata</i>	1mg/mL	3,18 ^A ±4,7	69,5
<i>M. glomerata</i>	10mg/mL	2,7 ^A ±2,0	74,1
Controle	-	10,4 ^B ±4,3	-

Ensaio			
Espécie	Concentração	Médias (%)	% L3 recuperadas
<i>E. edulis</i>	0,1mg/mL	2,4 ^A ±1,4	74,7
<i>E. edulis</i>	1mg/mL	5,75 ^A ±5,2	39,4
<i>E. edulis</i>	10mg/mL	2,0 ^A ±1,7	78,9
Controle	-	9,5 ^B ±4,7	-

Letras distintas (A, B e C) nas colunas não diferem $P>0,05$ e $P>0,01$ – Teste de Tukey

5 DISCUSSÃO

5.1 ENSAIO A

São escassos os trabalhos que avaliam ou demonstram atividade antiparasitária de plantas *in vitro* “ante” ovos de *T. canis*. A maioria das pesquisas direciona para a avaliação de larvas de *T. canis* (Satou et al., 2005; Reis et al., 2010) ou para a atividade de fungos nematófagos, dentre os quais *Pochonia chlamydosporia*, que em sua maioria, produzem proteases capazes de destruir os ovos de nematóides gastrointestinais (Braga et al., 2011).

Embora se entenda que as larvas sejam mais susceptíveis à ação destrutiva de extratos vegetais, pois não possuem a proteção do envoltório, presente nos ovos, pretendeu-se com este trabalho, encontrar espécies de plantas que contenham em sua composição química, substâncias com propriedades lipolíticas ou proteolíticas capazes de destruir o envoltório dos ovos e assim impedir a sua evolução, tal quais os extratos brutos enzimáticos de fungos conseguem (Braga et al., 2011) e conseqüentemente, impedir a contaminação por este parasito no meio ambiente.

Dentre os extratos etanólicos testados, não existe diferença significativa entre as concentrações investigadas (0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL), ao contrário do que encontraram Lone et al. (2012) em seu estudo *in vitro* com extratos de *Euphorbia helioscopia* em *Haemonchus contortus*, que a concentração do extrato mostrou-se mais efetiva na inibição da motilidade do parasita à medida que era aumentada, 12,5, 25 e 50mg/mL.

Em geral, um extrato de planta contém baixas concentrações de compostos ativos, no entanto, um grande número desses compostos (Rates, 2001).

Dessa forma, a utilização de ensaios *in vitro* com extratos de plantas medicinais, além das vantagens de facilidade de execução, baixo custo e rapidez, servem como uma indicação inicial da atividade a ser investigada e permitem a seleção dos extratos mais promissores, diminuem gastos, evitam perda de tempo e o uso indiscriminado de cobaias (Camurça-Vasconcelos et al., 2005).

Segundo Gasparetto et al. (2010), os diterpenos, sobretudo a classe dos cauranos, presentes nas espécies *M. glomerata* e *M. laevigata*, desempenham, dentre outras ações farmacológicas, atividade antiparasitária, o que corrobora com os resultados encontrados neste ensaio, onde os extratos de *M. laevigata* e *M. glomerata* apresentaram taxa de embrionamento inferior a do controle, ou seja,

existiam nesses extratos substâncias capazes de impedir a embriogênese dos ovos de *T. canis*. Vieira et al. (2002) endossam ainda essa informação ao relatarem a atividade antiparasitária de um diterpeno caurânico sobre formas tripomastigotas do *Trypanosoma cruzi* em um estudo *in vitro*.

A espécie *E. edulis* ainda não foi explorada quanto à sua atividade antiparasitária, no entanto, estudos demonstram atividade antiparasitária nos flavonóides, substâncias presentes em *E. edulis*. A quercetina, flavonóide revelado num estudo *in vitro* de Weiss et al. (1998), foi capaz de inibir a síntese de hsp90, hsp70, e hsp27 e ainda suprimir a indução de desenvolvimento bradizoíto em *Toxoplasma gondii*. Tasdemir et al. (2006) também demonstraram que a quercetina e seus derivados apresentam promissoras atividades *in vitro* contra os gêneros *Leishmania* e *Trypanosoma*. Já Molan et al. (2003) demonstraram a atividade anti-helmíntica de vários flavonóides e seus derivados, dentre eles a catequina e epicatequina, também presentes em *E. edulis* sobre ovos e larvas de *T. colubriformis*, nematóide de ruminantes, *in vitro*, numa relação concentração-dependente; contrariando os achados neste ensaio com *E. edulis*, onde a diferença na porcentagem ($P > 0,01$) de embrionamento dos ovos de *T. canis*, embora tenha sido maior em relação ao controle, não aumentou em função da concentração.

O albendazol é um medicamento derivado dos benzimidazóis, com sua atividade ovicida, larvicida e vermícida já comprovadas (Vieira et al., 1996). Embora seja uma das drogas anti-helmínticas mais utilizadas para o tratamento de larva migrans visceral, sua ação *in vitro* contra *T. canis*, tem sido demonstrada fraca em alguns estudos, (Satou et al., 2005; Marquez-Navarro et al., 2009) o que contrapõe ao encontrado neste estudo, onde observou-se diferença na porcentagem ($P > 0,01$) de embrionamento dos ovos de *T. canis* em relação ao controle e em função da concentração.

No entanto, as duas outras concentrações do albendazol utilizadas, 0,05 e 0,1mg/mL, cumpriram os objetivos propostos, que era funcionar como um controle positivo. Segundo Coles et al. (1992), o controle positivo permite comparar o efeito de drogas padrões conhecidas, com o encontrado pelo produto natural em investigação. Como por exemplo, o realizado por Pessoa et al. (2002) quando avaliaram a atividade ovicida do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* contra *H. contortus*, através da utilização de cinco concentrações diferentes deste óleo essencial diluídos em Tween 20 (0,5%), controle negativo (água), um controle para o diluente utilizado (Tween 20) e um controle positivo de tiabendazol 0,5%, a fim de se

avaliar a eficácia do óleo essencial. Vale destacar que neste estudo, também foi realizado o controle do diluente utilizado (etanol) e que o resultado, embora não tenha sido significativamente igual ao controle negativo, foi igual estatisticamente ao encontrado para o albendazol na menor concentração (0,01mg/mL), que apresentou baixa eficiência.

5.1 ENSAIO B

De acordo com os dados obtidos através da análise estatística, o ensaio obteve resultados satisfatórios, em todos os extratos etanólicos e concentrações testadas, *M. laevigata*, *M. glomerata* e *E. edulis* (0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL), uma vez que os ovos de *A. caninum* eclodiram resultando em um número larvar considerável quando comparado com o grupo controle que não apresentava nenhuma concentração do extrato. Vale ressaltar que também foi realizado um controle do solvente (etanol) e este também não interferiu nos resultados do ensaio.

Em um estudo realizado por Assis et al (2003), larvas e ovos de *H. contortus* foram submetidos ao contato de quatro extratos distintos de hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol em cinco concentrações diferentes (3,1, 6,2, 12,5, 25,0 e 50,0 mg/mL) da planta *Spigelia anthelmia*. Na concentração de 50,0 mg/mL o extrato de acetato de etila inibiu 100% da eclosão dos ovos e 81,2% do desenvolvimento larval. De um modo semelhante o extrato metanólico inibiu 97,4% da eclosão dos ovos e 84,4% de larvas em desenvolvimento de *H. contortus*, enquanto que os outros extratos apresentaram percentuais menores ou até mesmo estatisticamente iguais ao do controle, como foi o caso do extrato de clorofórmio na concentração de 50,0 mg/mL.

Sousa et al. (2013) afirmam que ao se avaliar a atividade anti-helmíntica de extratos de plantas alguns fatores mínimos devem ser considerados: tipo de extrato, parte da planta utilizada, concentração/dose, via de administração, bioensaio utilizado, espécie animal infectada e qual a espécie do parasito. Esses fatores podem interferir no ensaio e promover um falso-negativo.

Ainda assim, os resultados positivos obtidos a partir de testes *in vitro*, isoladamente, assim como os realizados no presente trabalho, não são suficientes para validar uma atividade pesquisada, assim como os resultados negativos também não invalidam a planta apenas o protocolo utilizado, pois um extrato aquoso pode

não apresentar efeito ovicida, porém larvicida, ou outro extrato da mesma planta pode vir a apresentar tal efeito ovicida (Camurça-Vasconcelos et al., 2005).

6 CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram que os extratos etanólicos de *M. laevigata*, *M. glomerata* e *E. edulis* nas concentrações testadas (0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL), apresentaram atividade ovicida e/ou larvicida para sobre os nematóides gastrintestinais *T. canis* e *A.caninum*. Não houve diferença ($P>0,01$) entre os extratos das espécies *M. laevigata*, *M. glomerata* e *E. edulis* quanto à atividade ovicida e/ou larvicida dos nematóides gastrintestinais investigados. As concentrações testadas nesses extratos (0,1mg/mL, 1mg/mL e 10mg/mL) não diferiram ($P>0,01$) entre si quanto à atividade ovicidade e/ou larvicida de *T. canis* e *A.caninum*. No entanto, novos estudos são necessários para ensaios *in vivo*, para o aprimoramento da metodologia e para maiores esclarecimentos dos agentes responsáveis pelos efeitos observados, mecanismos de ação, estudo das concentrações adequadas, grau de eficácia e toxicidade para o homem e para os animais.

7 REFERÊNCIAS

- AMARAL, M.P.H.; VIEIRA, F.P.; LEITE, M.N.; AMARAL, L.H.; PINHEIRO, L.C.; FONSECA, B.G.; PEREIRA, M.C.S.; VAREJÃO, E.V. Determinação do teor de cumarina no xarope de guaco armazenado em diferentes temperaturas. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 19, n. 2B, p. 607-611, Abr./Jun. 2009.
- ARAÚJO, J. V. de. **Diagnóstico das helmintoses**: caderno didático. Viçosa: UFV, 2006, 113p.
- ARAUJO, F.R; ARAUJO, C.P; WERNECK, M. R; GORSKI, A. Larva migrans cutânea em crianças de uma escola em área do Centro-Oeste do Brasil. **Rev. Saúde Públ.**, São Paulo, v. 34, n. 1, Fev. 2000 .
- ARAÚJO, J.V.; SANTOS, M.A.; FERRAZ, S. Efeito ovicida de fungos nematófagos sobre ovos embrionados de *Toxocara canis*. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 47, p. 37-42, 1995.
- ASSIS, L.M., BEVILAQUA, C.M.L., MORAIS, S.M. et al. Ovicidal and larvicidal activity in vitro of *Spigelia anthelmia* Linn extracts on *Haemonchus contortus*. **Vet. Parasitol.** v.117, n.1-2, p.43-9, 2003.
- AYÇIÇEK, H., E. YARSAN, H. O. SARIMEHMETOGLU, M. TANYÜKSEL, N. GIRGINKARDESLER, M. ÖZYURT. Efficacy of some disinfectants on embryonated eggs of *Toxocara canis*. **Turkish. J. Med. Sci.** v. 31, p. 35–39. 2001.
- AYRES M.; AYRES J.M.; AYRES D.L.; SANTOS, A.S. **Aplicações estatísticas nas áreas de ciências biomédicas**. Belém: Sociedade Civil Maniraua, 2003.
- BEAVER, P. C.; SNYDER, C. H.; CARRERA, G. M. Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans. **Pediatrics**, v.9, p. 7–19, 1952.
- BERTOLUCCI, S. K. V.; PEREIRA, A. B. D.; PINTO, J. E. B. P.; RIBEIRO, J. A. A. OLIVEIRA, A. B.; BRAGA, F. C. Development and validation of an RP-HPLC method for quantification of Cinnamic acid derivatives and kaurane-type diterpenes in *Mikania laevigata* and *Mikania glomerata*. **Planta med.** v. 75, p. 280-285, 2009.
- BERTOLUCCI, S. K. V.; PEREIRA, A. B. D.; PINTO, J. E. B. P.; OLIVEIRA, A. B.; BRAGA, F. C. Seasonal variation on the contents of coumarin and kaurane-type diterpenes in *Mikania laevigata* and *M. glomerata* leaves under different shade levels. **Chemistry & Biodiversity (Print)**, v. 10, p. 288-295, 2013a.
- BERTOLUCCI, S. K.V.; PEREIRA, A.B.D.; PINTO, J. E.B.P.; OLIVEIRA, A. B.; BRAGA, F. C. Isolation and HPLC quantitation of kaurane-type diterpenes and cinnamic acid derivatives of long-term stored leaves of *Mikania laevigata* and *Mikania glomerata*. **An. Acad. Bras. Cienc.**, v. 85, p. 473-486, 2013b.

- BI, S.; GOYAL, P. K. Anthelmintic effect of Natural Plant (*Carica papaya*) extract against the Gastrointestinal nematode, *Ancylostoma caninum* in Mice. **ISCA J. Biological Sci.**, v.1, n. 1, p. 2-6, May, 2012.
- BLAZIUS, R. D.; EMERICK, S.; PROPHIRO, J. S.; ROMÃO, P. R. T.; SILVA, O. S.S. Ocorrência de protozoários e helmintos em amostras de fezes de cães errantes da Cidade de Itapema, Santa Catarina. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 38, n. 1, p. 73-74, jan-fev, 2005
- BORGES, G. S. C.; VIEIRA, F. G. K.; COPETTI, C.; GONZAGA, L. V.; ZAMBIAZI, R. C.; MANCINI FILHO, J.; FETT, R. *Chemical characterization, bioactive compounds and antioxidant capacity of jussara (Euterpe edulis) fruit from the atlantic forest in southern brazil*. Food Research international, v. 44, p. 2128–2133, 2011.
- BOWMAN, D. D. **Parasitologia Veterinaria de Georgis**. 8 ed. Rio de Janeiro: Manole, 2006.
- BRAGA, F.R.; ARAUJO, J. M.; SILVA, A.R.; ARAÚJO, J.V; CARVALHO, R.O.; SOARES, F.E.F.; QUEIROZ, J.H.; GENIÊR, H.L.A. Ação ovicida do extrato bruto enzimático do fungo *Pochonia chlamydosporia* sobre ovos de *Ancylostoma* sp. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 44, p. 116-118, 2011.
- BRANDÃO, M. G. L.; COSENZA, G. P.; MOREIRA, R. A.; MONTE-MOR, R. L. M. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. **Braz J. Pharmacogn**, v. 16, n. 3, jul/set. 2006.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa (IN) n. 5, de 11 de dezembro de 2008. Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 dezembro. 2008.
- BRENNER, M.A.; PATEL, M.B. Cutaneous larva migrans: the creeping eruption. **Cutis**; v. 72, p. 111-115, 2003
- BROOKER, S. Estimating the global distribution and disease burden of intestinal nematode infections: Adding up the numbers – A review. **Int J Parasitol**, v. 15, n.40, v. 10, p.1137-44, 15 aug. 2010.
- CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L; BEVILAQUA, C.M.; MORAIS, S.M.; MACIEL, M.V.; COSTA, C.T.; MACEDO, I.T.; OLIVEIRA, L.M.; BRAGA, R.R.; SILVA, R.A.; VIEIRA, L.S. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. **Vet. Parasitol.**, v. 148, n. 3-4, p. 288-294, 2007.
- CARVALHO, E. A. A.; ROCHA, R. L. Toxocariasis: visceral larva migrans in children. **J Pediatr (Rio J)**, v. 87, n. 2. p. 100-110, 2011.

CASSENOTE, A.J.; PINTO NETO, J. M.; LIMA-CATELAN, A. R. A.; FERREIRA, A. W. Contaminação do solo por ovos de geo-helminthos com potencial zoonótico na municipalidade de Fernandópolis, Estado de São Paulo, entre 2007 e 2008. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 44, n. 3, p. 371-4, May-Jun. 2011.

COELHO, L. M. P. S. DINI; C. Y. MILMAN, M. H. S. A.; OLIVEIRA, S. M. *Toxocara spp.* eggs in public squares of Sorocaba, São Paulo State, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.43, n. 4, p. 189-191, 2001.

COLES, G.C.; BAUER, C.; BORGSTEEDE, F.H.; GEERTS, S.; KLEI, T.R.; TAYLOR, M. A.; WALLER, P. J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Vet. Parasitol.**, v. 44, n. 1-2, p. 35-44, 1992.

CONTE, R.; NODARI, R.O.; VENCOVSKY, R.; REIS, M. S. Genetic diversity and recruitment of the tropical palm, *Euterpe edulis* Mart., in a natural population from the Brazilian Atlantic Forest. **Heredity**, v. 91, p. 401–406, 2003.

COSTA, C. T. C.; BELIVAQUA, C. M. L.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; MACIEL, M. V.; MORAIS, S. M.; CASTRO, C. M.S.; BRAGA, R.R.; OLIVEIRA, L.M.B. *In vitro* ovicidal and larvicidal activity of *Azadirachta indica* extracts on *Haemonchus contortus*. **Small Ruminant Res.**, v. 74, p. 284–287, 2008.

CZELUSNIAK, K.E.; BROCCO, A.; PEREIRA, D.F.; FREITAS, G.B.L. Farmacobotânica, fitoquímica e farmacologia do Guaco: revisão considerando *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schulyz Bip. ex Baker. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.14, n.2, p.400-409, 2012.

DALTON, J.P. ; MULCAHY, G. Parasite vaccines - a reality? **Vet. Parasitol.**, v. 98, n. 1-3, p. 149-67, 12 jul. 2001.

DESPOMMIER, D. Toxocariasis: Clinical Aspects, Epidemiology, Medical Ecology, and Molecular Aspects. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.16, n. 2, p. 265–272, April. 2003.

EGUALE, T.; TILAHUN, G.; DEBELLA, A.; FELEKE, A. MAKONNE, E. *Haemonchus contortus*: *In vitro* and *in vivo* anthelmintic activity of aqueous and hydro-alcoholic extracts of *Hedera helix*. **Exp. Parasitol.**, v. 116, n. 4, p. 340-5, aug. 2007.

EGUALE, T.; TILAHUN, G.; DEBELLA, A.; FELEKE, A. MAKONNE, E. *In vitro* and *in vivo* anthelmintic activity of crude extracts of *Coriandrum sativum* against *Haemonchus contortus*. **J. Ethnopharmacol.**, v. 110, n. 3, p. 428-33, 4 apr. 2007.

ESPÍRITO SANTO. Instrução Normativa nº 003, de 31 de julho de 2013. **IDAF** – Instituto de defesa agropecuária e florestal do Espírito Santo. 2013.

FAUCI, A. S. Infectious Diseases: Considerations for the 21st Century. **Clin. Infect. Dis.**, v. 32, n. 5, p. 675-85, 1 mar. 2001.

FELZENSZWALB, I.; MARQUES, M. R. C.; MAZZEI, J. L.; AIUB, C. A. F. Toxicological evaluation of *Euterpe edulis*: A potential superfruit to be considered. **Food and Chemical Toxicology**, v. 58, p. 536–544, 2013.

FIERRO, I. M.; SILVA, A. C. B.; LOPES, C. S.; MOURA, R. S.; BARJA-FIDALGO, C. Studies on the anti-allergic activity of *Mikania glomerata*. **J Ethnopharmacol**, v. 66, n. 1, p. 19-24, jul. 1999.

FILLAUX, J.; MAGNAVAL, J. F. Laboratory diagnosis of human toxocariasis. **Vet. Parasitol.** v.193, n. 4, p. 327-36, 15 apr. 2013.

FISHER, M. *Toxocara cati*: an underestimated zoonotic agent. **Trends Parasitol.** v. 19, n. 4, p.167-70, apr. 2003

FONSECA, E. O. L.; TEIXEIRA, M. G.; BARRETO, M. L.; CARMO, E. H.; COSTA, M. C. N. C. Prevalência e fatores associados às geo-helminthiases em crianças residentes em municípios com baixo IDH no Norte e Nordeste brasileiros. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 1, p. 143-152, jan. 2010.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. 3. ed. Ver e ampl. São Paulo: Editora Ícone. 1997.

FRASSY, L. N.; BRAGA, F. R.; SILVA, A. R.; ARAÚJO, J. V.; FERREIRA, S. R.; FREITAS, L. G. Destruição de ovos de *Toxocara canis* pelo fungo nematófago *Pochonia chlamydosporia*. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 43, n.1, p. 102-104, jan-fev. 2010.

FRAGOSO, R.P.; MONTEIRO, M. B. M.; LEMOS, E. M.; PEREIRA, F. E. L. Anti-Toxocara antibodies detected in children attending elementary school in Vitória, State of Espírito Santo, Brazil: prevalence and associated factors. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v. 44, 2011; p. 461-466. 2011.

FREITAS, T.P.; SILVEIRA, P.C.; ROCHA, L.G.; REZIN, G.T.; ROCHA, J.; CITADINI-ZANETTE, V.; ROMÃO, P.T.; DAL-PIZZOL, F.; PINHO, R.A.; ANDRADE, V.M.; STRECK, E.L. Effects of *Mikania glomerata* Spreng. and *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker (Asteraceae) extracts on pulmonary inflammation and oxidative stress caused by acute coal dust exposure. **J. Med. Food.**, v. 11, n. 4, p.761-6, dec. 2008.

GASPARETTO, J. C.; CAMPOS, F. R.; BUDEL, J. M.; PONTAROLO, R. *Mikania glomerata* Spreng. e *M. laevigata* Sch. Bip. ex Baker, Asteraceae: estudos agrônômicos, genéticos, morfoanatômicos, químicos, farmacológicos, toxicológicos e

uso nos programas de fitoterapia do Brasil. **Rev. Bras. Farmacogn.** v. 20, n.4, p. 627-640, Ago./Set. 2010.

GUIMARÃES, A. M.; ALVES, E. G. L.; REZENDE, G. F.; RODRIGUES, M.C. Ovos de *Toxocara* sp. e larvas de *Ancylostoma* sp. em praça pública de Lavras, MG. **Rev. Saúde Públ.**, v. 39, n. 2, p. 293-5, apr. 2005.

HALL, A. HEWITT, G.; TUFFREY, V.; SILVA, N. A review and meta-analysis of the impact of intestinal worms on child growth and nutrition. **Matern. Child. Nutr.** v. 4, n.1:p.118-236. apr. 2008.

HOLETZ, F.B. PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P. Screening of some plants used in the brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 2002. 97, 1027–1031.

HOTEZ, P. J.; BRINDLEY, P. J.; BETHONY, J. M. KING, C. H. PEARCE, E. J.; JACOBSON, J. Helminth infections: the great neglected tropical diseases. **J. Clin. Invest.** v. 18, n. 4, apr. 2008.

INÁCIO, M.R.; LIMA, K. M. G.; LOPES, V. G.; PESSOA, J. D. C.; TEIXEIRA, G. H. A. Total anthocyanin content determination in intact açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) and palmitero-juçara (*Euterpe edulis* Mart.) fruit using near infrared spectroscopy (NIR) and multivariate calibration. **Food Chem.**, v. 136, n. 3-4, p. 1160-4, 15 feb 15. 2013.

JACOB, C. M. A.; OSELKA, G.W. Toxocaríase na infância. **Pediatria.** v. 13, p. 48-55. 1991.

JACOB, C.M.; PASTORINO, A. C.; PERES, B. A; MELLO, E. O.; OKAY, Y.; OSELKA, G. W. Clinical and laboratorial features of visceral toxocariasis in infancy. **Ver. Inst. Med. Trop.** São Paulo, v. 36, p. 19-26, 1994.

KATAGIRI, S.; OLIVEIRA-SEQUEIRA, T.C.G. zoonoses causadas por parasitas intestinais de cães e o problema do diagnóstico. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.74, n.2, p.175-184, abr./jun., 2007.

KWON, I.H.; KIM, H.S.; LEE, J.H.; CHOI, M.H.; CHAI, J.Y.; NAKAMURA-UCHIYAMA, F.; NAWA, Y.; CHO, K.H. A serologically diagnosed human case of cutaneous larva migrans caused by *Ancylostoma caninum*. **Korean J. Parasitol.** v.41, n. 4, p.233-7, dec, 2003.

LACY, A.; O'KENNEDY, R. Studies on coumarins and coumarin-related compounds to determine their therapeutic role in the treatment of cancer. **Curr. Pharm. Des.**;v. 10, n. 30, p. 3797-811, 2004.

LESSA, F. C. R.; GRILLO, C. H.; PINTO, F. E. ; LOURENCON, B. B.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, J. E. B.P.; ENDRINGER, D. C. . Efficacy of guaco mouthwashes (*Mikania glomerata* and *Mikania laevigata*) on the disinfection of toothbrushes. *Revista Brasileira de Farmacognosia (Impresso)*, v. 22, p. 1330-1337, 2012.

LONE, B.A.; CHISHTIA, M. Z.; BHATD, F. A.; TAKB, H.; BANDHA, S. A. *In vitro* and *in vivo* anthelmintic activity of *Euphorbia helioscopia* L. **Vet. Parasitol.**, v. 189, n. 2-4, p. 317-21, 26 oct. 2012.

MACEDO, I.T. BEVILAQUA, C. M. L.; OLIVEIRA, L. M. B.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; VIEIRA, L. S. OLIVEIRA, F. R.; QUEIROZ-JÚNIOR, E. M.; PORTELA, B. G.; BARROS, R. S.; CHAGAS, A. C. S. Atividade ovicida e larvicida *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Haemonchus contortus*. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 18, n. 3, p. 62-6. jul-set. 2009.

MACIEL, A.S.; ARAUJO, J.V.; CECON, P.R. Atividade predatória *in vitro* dos fungos *Arthrobotrys robusta*, *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* sobre larvas infectantes de *Ancylostoma spp.* de cães. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v.15, n.2, p71-75, 2006.

MACPHERSON, C. N. Human behaviour and the epidemiology of parasitic zoonoses. **Int. J. Parasitol.**, v. 35, n. 11-12, p. 1319-31, oct. 2005.

MACPHERSON, C.N. The epidemiology and public health importance of toxocariasis: A zoonosis of global importance. **Int. J. Parasitol.** v. 43, n. 12-13, p. 999-1008. nov. 2013.

MAIORANO, V.A.; MARCUSSI, S.; DAHER, M.A.; OLIVEIRA, C.Z.; COUTO, L.B.; GOMES, O.A.; FRANÇA, S.C.; SOARES, A.M.; PEREIRA, P.S. Antiophidian properties of the aqueous extract of *Mikania glomerata*. **J. Ethnopharmacol.** v. 102, n. 3, p. 364-70, 1 dec. 2005.

MARQUEZ-NAVARRO, A.; NOGUEDA-TORRES, B.; HERNANDEZ-CAMPOS, A.; SORIA-ARTECHE, O.; CASTILLO, R.; RODRIGUEZ-MORALES, S.; YEPEZ-MULIA, L.; HERNANDEZ-LUIS, F. Anthelmintic activity of benzimidazole derivatives against *Toxocara canis* second-stage larvae and *Hymenolepis nana* adults. **Acta Tropica.** v. 109, p. 232–235. 2009.

MOLAN, A.L.; MEAGHER, L. P.; SPENCER, P. A.; SIVAKUMARAN, S. Effect of flavan-3-ols on *in vitro* egg hatching, larval development and viability of infective larvae of *Trichostrongylus colubriformis*. **Int. J. Parasitol.**, v.33, n.14, p.1691-1698, 2003.

MORAIS, F.B.; MACIEL, A. L.; FARIAS, T. E. A.; MUCCIOLI, C.; ALLEMANN, N. Achados ultrassonográficos em toxocaríase ocular. **Arq. Bras. Oftalmol.**, v. 75, n. 1, p. 43-7, jan-feb. 2012.

NAPIMOGA, M.H.; YATSUDA, R. Scientific evidence for *Mikania laevigata* and *Mikania glomerata* as a pharmacological tool. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 62, n. 7, p. 809-20, jul. 2010.

NAPOLI, L.; SARTOR, D. R.; MARTINS, J. P. **Manual de zoonoses**. Programa de Zoonoses – Região Sul, 2. ed. v. 1. .2010.

NEWMAN, D.J. ; CRAGG, G.M. Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. **J. Nat. Prod.**, v. 75, n. 3, p. 311-35, 23 mar. 2012.

NUNES, C. M., PENA, F. C.; NEGRELLI, G. B.; ANJO, C, G. S.; NAKANO, M. M.; STOBBE, N. S. Ocorrência de larva *migrans* na areia de áreas de lazer das escolas municipais de ensino infantil, Araçatuba, SP, Brasil. **Rev. Saúde Públ.**, v. 34, n. 6, p. 656-8, dec. 2000.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. AKISUE, M. K.; FERREIRA, J. L. I. Morfodiagnose de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker - guaco-do-mato - estudo do Axófito. **Rev. Bras. Farmacogn.** v.1, n.1, p. 45-57. 1986.

PESSOA, L.M.; MORAIS, S.M.; BEVILAQUA, C.M. L.; LUCIANO, J. H. S. Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn and eugenol against *Haemonchus contortus*. **Vet. Parasitol.**, v.109, p.59-63, 2002.

RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. **Toxicon**. v. 39,p. 603–613, 2001.

REIS, M.; TRINCA, A.; FERREIRA, M. J. U.; MONSALVE-PUELLO, A. R.; GRÁCIO, M. A. A. *Toxocara canis*: potential activity of natural products against second-stage larvae *in vitro* and *in vivo*. **Exp. Parasitol.**, v. 126, n. 2, p. 191-7, oct. 2010.

REIS, M. S.; FANTINI, A. C., NODARI, R. O.; REIS, A.; GUERRA, M. P.; MANTOVANI, A. Management and Conservation of Natural Populations in Atlantic Rain Forest: The Case Study of Palm Heart (*Euterpe edulis* Martius). **BIOTROPICA**, v. 32, n. 4b, p. 894-902, 2000.

RENISUS - Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS. **DAF/SCTIE/MS – RENISUS**; Ministério da Saúde. Brasília, Distrito Federal, 2009. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS_2010.pdf. Acessado em: 23 ago. 2013.

REY, Luís. Um século de experiência no controle da ancilostomíase. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop. Uberaba**, v. 34, n. 1, 2001.

RIBEIRO, V.M.; Controle de helmintos de cães e gatos. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.13, n. 1, 2004.

ROBERTSON, I.D. ; THOMPSON, R.C. Enteric parasitic zoonoses of domesticated dogs and cats. **Microbes Infect.**, v.4, n. 8, p. 867-73, jul. 2002.

RUBINSKY-ELEFANT, G.; HIRATA, C. E.; YAMAMOTO, J. H. Human toxocariasis: diagnosis, worldwide seroprevalences and clinical expression of the systemic and ocular forms. **Ann Trop. Med. Parasitol.**, v. 104, p. 3-23. 2010.

RUFATTO, L.C.; FINIMUNDYB, T. C.; ROESCH-ELYB; MOURA, S. *Mikania laevigata*: chemical characterization and selective cytotoxic activity of extracts on tumor cell lines. **Phytomedicine**, v. 20, n. 10, p. 883-9, 15 jul. 2013.

RUFINO, M. S. M., ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURACALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996–1002, 2010.

SANTANA, L. C. L. R.; SILVA, O. A.; BRITO, M. R. M.; DAVID, J. P. L.; DAVID, J. M.; GALVÃO, K. C. S.; MORAES, J.; FREITAS, R. M. Avaliação do potencial antioxidante, atividade antimicrobiana e antihelmíntica do extrato etanólico padronizado das folhas de *Mikania glomerata* Sprengel. **Rev. Bras. Farmacogn.** v. 94, n. 2, p. 120-129, 2013.

SANTARÉM, V.A.; GIUFFRIDA, R.; ZANIN, G. A. Larva *migrans* cutânea: ocorrência de casos humanos e identificação de larvas de *Ancylostoma* spp em parque público do município de Taciba, São Paulo. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 37, n. 2, p.179-81, mar-apr. 2004.

SÁ-NUNES, A.; ROGERIO, A.P.; MEDEIROS, A.I.; FABRIS, V.E. ANDREU, G.P.; RIVERA, D.G.; DELGADO, R.; FACCIOLI, L.H. Modulation of eosinophil generation and migration by *Mangifera indica* L. extract (Vimang®). **Int. Immunopharmacol.**, v.6, n.9, p.1515-23, sep. 2006.

SATOU, T.; HORIUCHI, A.; AKAO, N.; KOIKE, K.; FUJITA, K.; NIKAIDO, T.; *Toxocara canis*: search for a potential drug amongst beta-carboline alkaloids – in vitro and mouse studies. **Exp. Parasitol.**, v. 110, p. 134–139, jan-feb. 2005.

SCAINI, C. J.; TOLEDO, R. N.; LOVATEL, R.; DIONELLO, M. A.; GATTI, F. A.; SUSIN, L. SIGNORINI, V. R. M. Contaminação ambiental por ovos e larvas de helmintos em fezes de cães na área central do Balneário Cassino, Rio Grande do Sul. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.36, p.617-619, set-out. 2003.

SOARES E SILVA, L. S.; SILVA, L. S.; BRUMANO, L.; STRINGHETA, P. C.; PINTO, M. A. O.; DIAS, L. O. M.; MULLER, C. S. M.; SCIO, E.; FABRI, R. L.; CASTRO, H. C.; AMARAL, M. P. H. Preparation of dry extract of *Mikania glomerata* Sprengel (Guaco) and determination of its coumarin levels by spectrophotometry and HPLC-UV. **Molecules**. v.17, n.9, p.10344-54,29 aug. 2012.

SOUSA, R.G.; FALCÃO, H. S.; BARBOSA FILHO, J. M.; MELO, M. F. F. D.; BATISTA, L. M. Atividade anti-helmíntica de plantas nativas do continente americano: uma revisão. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.15, n.2, p.287-292, 2013.

STEPEK, G.; BEHNKE, J. M.; BUTTLE, D. J.; DUCE, I. R. Natural plant cysteine proteinases as anthelmintics? **Trends. Parasitol.**, v.20, n. 7, p. 322-7. jul.2004.

TAGBOTO, S.; TOWNSON, S. Antiparasitic properties of medicinal plants and other naturally occurring products. **Adv. Parasitol.**, v. 50, p.199-295, 2001.

TASDEMIR, D.; KAISER, M.; BRUN, R.; YARDLEY, V.; SCHMIDT, T.J.; TOSUN, F.; RUEDI, P. Antitrypanosomal and Antileishmanial Activities of Flavonoids and Their Analogues: In Vitro, In Vivo, Structure – Activity Relationship and Quantitative Structure – Activity Relationship Studies. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 50, n. 4, p. 1352-1364, apr. 2006.

TAYLOR, M.A.; COOP, R.L.; WALL, R.L. **Parasitologia veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S/A, 2010. 742p

UPENDRA, Y.; MAHAJAN, V. K.; MEHTA, K. S.; CHAUHAN, P. S. CHANDER, B. Cutaneous larva migrans. **Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.** v. 79, n. 3, p.418-9, may-jun. 2013.

URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; DUNN, A. M.; JENNINGS, F. W. **Parasitologia Veterinária**. 2. ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 1998; 273 p.

VASCONCELOS, I. A. B.; OLIVEIRA, J. W.; CABRAL, F. R. F.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A. Prevalência de parasitoses intestinais entre crianças de 4-12 anos no Crato, Estado do Ceará: um problema recorrente de saúde pública. **Acta. Sci. Biol. Sci.**, Maringá, v. 33, n. 1, p. 35-41, 2011.

VELHO, P. N.F. FARIA, A. V.; CINTRA, M. L.; SOUZA, E. M.; MORAES, A. M. Larva Migrans: a case report and review. **Rev. Inst. Med. Trop**, São Paulo, v. 45, n. 3, p. 167-171, 2003.

VENEZIANI, R. C. S.; OLIVEIRA, D. C. R. Constituents of *Mikania glomerata* Sprengel. **Biochem. Sys. Ecol.**, v. 27, p. 99-102, 1999.

VERALLO, O. Diagnostic aspects and retinal imaging in ocular toxocariasis: a case report from Italy. **Case Rep Med**, v. 2012, p. 984512. 2012.

VEROCAI, G. G.; TAVARES, P. V.; RIBEIRO, F. A.; CORREIA, T. R.; SCOTT, F. B. T. Effects of disinfectants on *Toxocara canis* embryogenesis and larval establishment in mice tissues. **Zoonoses Public Health**, v. 57, n.7-8. p.e213-6, dec. 2010.

VIEIRA, S.H.; TAKAHASHI, J.A.; OLIVEIRA, A.B.; CHIARI, E.; BOAVENTURA, M.A.; Novel derivatives of kaurenoic acid: Preparation and evaluation of their trypanocidal activity. **J. Braz. Chem. Soc.** v. 13, p. 151-157. 2002.

VIEIRA, M. A.; ALVARENGA, F. R.; SANTOS, E. C. P. M. M.; OLIVEIRA, J. A. Avaliação da eficácia do albendazol sobre a Larva migrans visceral murina experimental por *Toxocara canis*. **Rev. Pat. Trop.** v. 25, n. 1, p. 23-29, jan/jun. 1996.

WALKER, N.I.; CROESE, J.; CLOUSTON, A.D.; PARRY, M.; LOUKAS, A.; PROCIV, P. Eosinophilic enteritis in northeastern Australia. Pathology, association with *Ancylostoma caninum*, and implications. **Am. J. Surg. Pathol.**, v. 19, n. 3, p. 328-37. Mar. 1995.

WANG, Z.; ABUBUCKER, S.; MARTIN, J.; WILSON, R. K; HAWDON, J.; MITREVA, M. Characterizing *Ancylostoma caninum* transcriptome and exploring nematode parasitic adaptation. **BMC Genomics**, v. 14, n.11:307. may. 2010.

WEISS, L. M.; MA, Y. F.; TAKVORIAN, P. M.; TANOWITZ, H. B.; WITTNER, M. Bradyzoite development in *Toxoplasma gondii* and the hsp70 estresse response. **Infection and Immunity**, v. 66, n. 7, p. 3295-3302, 1998.

WINK, M. Medicinal plants: a source of anti-parasitic secondary metabolites. **Molecules**, v. 17, n. 11, p.12771-91. 31 oct. 2012.

WOLFE, A.; WRIGHT, I. P. Human toxocariasis and direct contact with dogs. **Vet. Rec.**, v. 152, n. 14, p. 419-22, 5 apr. 2003.