

**SAULO CARNEIRO CARDOSO**

**EFEITO ANTI-HELMÍNTICO DE UM *BLEND* DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO  
DESEMPNEHO DE OVELHAS EM LACTAÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Karina Costa Busato.

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

C268e  
2022  
Cardoso, Saulo Carneiro, 1995-  
Efeito anti-helmíntico de um blend de óleos essenciais no  
desempenho de ovelhas em lactação / Saulo Carneiro Cardoso. –  
Viçosa, MG, 2022.

1 dissertação eletrônica (61 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Karina Costa Busato.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Zootecnia, 2022.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.642>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Nematoda - Controle biológico. 2. Essências e óleos  
essenciais. 3. *Haemonchus contortus*. 4. Metabólitos. 5. Ovinos -  
Criação. I. Busato, Karina Costa, 1980-. II. Universidade Federal  
de Viçosa. Departamento de Zootecnia. Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 22. ed. 632.6257

Bibliotecário(a) responsável: Bruna Silva CRB-6/2552


**SAULO CARNEIRO CARDOSO**

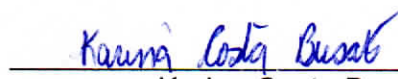
**EFEITO ANTI-HELMÍNTICO DE UM *BLEND* DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO  
DESEMPENHO DE OVELHAS EM LACTAÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 20 de julho de 2022.

Assentimento:

  
Saulo Carneiro Cardoso  
Autor

  
Karina Costa Busato  
Orientadora

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Viçosa, ao Departamento de Zootecnia e ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, pela excelência de ensino superior, pelos valores éticos e científicos proporcionados e pelo desenvolvimento das Ciências Agrárias no Brasil e no mundo, que contribuem para o bem da sociedade e para o avanço científico.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À professora Karina Costa Busato, pelos valiosos anos de orientação, que contribuíram para meu amadurecimento científico.

À banca examinadora, pelo apoio científico.

Aos colaboradores da Unidade de Ensino Pesquisa e Extensão em Ovinocultura, pelo apoio técnico.

Aos colaboradores do Laboratório de Parasitologia Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, pelo apoio técnico.

À minha família, pelo apoio proporcionado durante minha vida acadêmica.

À minha namorada, Judite Antunes, pelo inestimável amor, companheirismo e respeito.

À todos amigos e colegas, pelos valiosos laços firmados e por todos os copos brindados.

E, por último, mas não menos importante, às memórias de minha mãe.

“Eu sou uma ideia. E ideias não morrem”.  
(Luiz Inácio Lula da Silva, 2018)

## RESUMO

CARDOSO, Saulo Carneiro, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2022. **Desempenho produtivo e saúde de ovelhas em lactação alimentadas com óleos essenciais.** Orientadora: Karina Costa Busato.

Objetivou-se avaliar o efeito de um *blend* de óleos essenciais (OE, óleo do líquido da casca da castanha de caju, da mamona e da copaíba) sobre o controle de vermes, o consumo de matéria seca (CMS), a digestibilidade aparente dos nutrientes e o desempenho produtivo de ovelhas em lactação naturalmente infectadas por nematoides gastrintestinais. Foram utilizadas 60 ovelhas mestiças 1/2 Santa Inês × 1/2 Dorper, primíparas e múltiparas, com peso corporal médio de  $58,70 \pm 10,52$  kg, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, em quatro tratamentos. Os tratamentos consistiam em quatro níveis de inclusão (0, 4, 8 e 16 mg/kg PC) do *blend* de OE na porção concentrada da dieta. A ração concentrada foi à base de milho e farelo de soja, fornecida na proporção de 0,5% do peso vivo. Como volumoso, foi utilizado pastagem de capim braquiária (*Urochloa decumbens*). A dieta experimental foi fornecida a cada animal por 90 dias, iniciando-se logo após o parto. Para avaliar o nível de infestação das ovelhas por *Haemonchus contortus*, foram realizadas: a contagem de ovos por grama de fezes (OPG), a determinação do volume globular e a avaliação do grau de anemia, utilizando o método FAMACHA©. Os exames foram realizados quinzenalmente, em cada animal, durante 90 dias, iniciando-se logo após o parto. Para avaliar o desempenho produtivo as ovelhas foram pesadas, assim como suas crias, e o peso corporal inicial e o peso ao nascimento foram registrados, respectivamente. Ao final do período experimental, foi o peso corporal final e peso ao desmame das ovelhas e dos borregos, respectivamente, bem como o ganho médio diário foi determinado para. Um ensaio de digestibilidade foi conduzido para estimar o CMS e o coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes. Para condução, do ensaio foram utilizadas oito ovelhas por tratamento, com aproximadamente  $45 \pm 7,16$  dias pós-parto. Nenhum dos níveis de inclusão do *blend* de OE utilizado foi eficiente para reduzir o OPG das ovelhas. A inclusão dos OE também não afetou o hematócrito, o grau FAMACHA©, o CMS, a digestibilidade aparente dos nutrientes e o desempenho nos diferentes tratamentos. Até a dosagem de 16 mg/kg MS, a inclusão do *blend* de OE à dieta de ovelhas em lactação naturalmente infectadas por nematoides

gastrointestinais não melhora o desempenho dos animais e nem é eficiente para tratar e prevenir verminoses.

Palavras-chave: Extratos vegetais. *Haemonchus contortus*. Hemoncose. Metabólitos secundários. Ovinocultura.

## ABSTRACT

CARDOSO, Saulo Carneiro, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2022. **Anti-helminthic effect of a blend of essential oils on the performance of lactating ewes.** Adviser: Karina Costa Busato.

The objective was to evaluate the effect of a blend of essential oils (EO, cashew nut shell liquid oil, castor bean and copaiba) on worm control, dry matter intake (DMI), apparent digestibility of nutrients and productive performance of lactating ewes naturally infected by gastrointestinal nematodes. Sixty 1/2 Santa Inês × 1/2 Dorper crossbred ewes, primiparous and multiparous, with average body weight of  $58.70 \pm 10.52$  kg, distributed in a completely randomized design, in four treatments were used. The treatments consisted of four levels of inclusion (0, 4, 8 and 16 mg/kg BW) of the EO blend in the concentrated portion of the diet. The concentrate ration was based on corn and soybean meal, supplied in the proportion of 0.5% of live weight. As forage, signal grass pasture (*Urochloa decumbens*) was used. The experimental diet was provided to each animal for 90 days, starting soon after parturition. To assess the level of infestation in sheep by *Haemonchus contortus*, the following were performed: counting eggs per gram of feces (EGF), determination of globular volume and assessment of the degree of anemia, using the FAMACHA® method. The examinations were performed fortnightly, in each animal, for 90 days, starting soon after parturition. To evaluate the productive performance, the ewes were weighed, as well as their offspring, and the initial body weight and birth weight were recorded, respectively. At the end of the experimental period, the final body weight and weaning weight of the ewes and lambs, respectively, as well as the average daily gain were determined for. A digestibility trial was conducted to estimate the DMI and the apparent digestibility coefficient of nutrients. To conduct the trial, eight ewes were used per treatment, with approximately  $45 \pm 7.16$  days postpartum. None of the inclusion levels of the EO blend used was efficient to reduce the EGF of the sheep. The inclusion of the EO also did not affect the hematocrit, the FAMACHA® degree, the DMI, the apparent digestibility of the nutrients and the performance in the different treatments. Up to the dosage of 16 mg/kg DM, the inclusion of the EO blend in the diet of lactating ewes naturally infected by gastrointestinal nematodes does not improve the animals' performance and is not efficient to treat and prevent worms.



Keywords: *Haemonchus contortus*. Hemochosis. Plant extracts. Secondary metabolites. Sheep.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL .....	10
REFERÊNCIAS .....	12
2. CAPÍTULO 1 .....	16
3 REVISÃO DE LITERATURA .....	16
3.1 O <i>Haemonchus contortus</i> .....	16
3.2 Sinais clínicos de hemoncose .....	19
3.3 Alterações gastrintestinais .....	19
3.4 Efeito anti-helmíntico dos OE: <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> .....	20
3.5 Mecanismo de ação dos OE contra NGI .....	22
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	23
REFERÊNCIAS .....	24
5 CAPÍTULO 2 .....	30
6 INTRODUÇÃO .....	30
7 MATERIAL E MÉTODOS .....	31
7.1 Local .....	31
7.2 Animais, tratamentos e manejo.....	31
7.3 Óleos essenciais .....	33
7.4 Manejo das crias .....	33
7.5 Exames laboratoriais e FAMACHA®.....	34
7.5.1 OPG .....	34
7.5.2 Hematócrito.....	35
7.5.3 Método FAMACHA®.....	35
7.6 Protocolo sanitário contra hemoncose .....	35
7.7 Desempenho .....	36
7.8 Ensaio de digestibilidade.....	36
7.10 Análises químicas .....	38
7.11 Análise estatística .....	39
8 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
9 CONCLUSÃO.....	50
REFERÊNCIAS.....	51

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Óleos essenciais (OE) são soluções heterogêneas, compostas por substâncias voláteis, obtidas por destilação de uma variedade de espécies vegetais. Sua utilização data da idade média, quando eram utilizados empiricamente devido às suas propriedades boticárias (ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA, 2019). Atualmente, os OE são utilizados em uma diversidade de produtos farmacêuticos, sanitizantes, cosméticos, agrícolas e alimentícios (BAKKALI *et al.*, 2008; BOURGAUD *et al.*, 2001). O OE leva o nome da planta da qual é extraído e representa a essência do seu sabor ou odor (ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA, 2019), não devendo ser confundidos com outros homônimos, como, por exemplo, aminoácidos essenciais ou ácidos graxos essenciais.

Com o avanço da química e da botânica, entre os séculos XIX e XX, os componentes químicos dos OE foram caracterizados como metabólitos secundários de vegetais (ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA, 2019). As plantas produzem uma variedade de substâncias orgânicas, que estão direta ou indiretamente relacionadas ao seu desenvolvimento. Os metabólitos primários desempenham funções metabólicas essenciais e evidentes, como os fitoesteróis, acil lipídeos, nucleotídeos, aminoácidos e ácidos orgânicos (CROTEAU; KUTCHAN; LEWIS, 2000). Já os secundários, são moléculas importantes para os mecanismos de defesa da planta contra herbívoros, insetos, fungos e nematoides (BENNETT; WALLSGROVE, 1994).

Os metabólitos secundários são divididos em três grupos: terpenoides, alcaloides e compostos fenólicos (CROTEAU; KUTCHAN; LEWIS, 2000). De modo geral, os OE são formados por cerca de 20 a 60 substâncias distintas, em concentrações variadas, e dois ou três estão presentes em maior quantidade, variando de 20 a 70%, os quais, geralmente, determinam as propriedades bioativas do óleo (BAKKALI *et al.*, 2008).

Nos últimos 50 anos, houve um aumento dos estudos com OE (BOURGAUD *et al.*, 2001) e muitos foram caracterizados como: antimicrobianos (HAMMER; CARSON; RILEY, 1999; WALLACE, 2004), nutracêuticos (BOURGAUD *et al.*, 2001; PANDEY; RIZVI, 2009), antioxidantes (AMORATI; FOTI; VALGIMIGLI, 2013; BARATTA *et al.*, 1998; NIETO *et al.*, 2010), anti-inflamatórios (DA SILVEIRA E SÁ *et al.*, 2014; MIGUEL, 2010; PEANA *et al.*, 2002), analgésicos (SILVA *et al.*, 2003), anticancerígenos (BAYALA *et al.*, 2014; BHALLA; GUPTA; JAITAK, 2013; GAUTAM;

MANTHA; MITTAL, 2014), inseticidas (ENAN, 2001), além do uso como aditivos na alimentação animal (KARÁSKOVÁ; SUCHÝ; STRAKOVÁ, 2015).

Como aditivos, inicialmente, os OE foram utilizados como moduladores da fermentação ruminal (CALSAMIGLIA *et al.*, 2007; OH *et al.*, 1967). No entanto, após a proibição do uso de antibióticos promotores de crescimento pela União Europeia (UE 1831/2003, 2003), as pesquisas com OE aumentaram, uma vez que eles poderiam representar uma alternativa natural, segura e ética (MARTIN; KADOKAWA, 2006) para incrementar a produção (KOTSAMPASI *et al.*, 2018; NEWBOLD *et al.*, 2006).

Alguns OE também apresentaram atividade anti-helmíntica promissora (BENCHAAR *et al.*, 2008; ORTU *et al.*, 2017; SQUIRES *et al.*, 2010). Essa propriedade, em especial, é de extrema importância para o desenvolvimento sustentável da ovinocaprinocultura (HOSTE *et al.*, 2006), pois o uso indiscriminado de anti-helmínticos sintéticos tem levado à ocorrência de resistência parasitária às diversas bases químicas disponíveis no mercado (MELO *et al.*, 2003; RODRIGUES *et al.*, 2007).

## REFERÊNCIAS

- AMORATI, R.; FOTI, M. C.; VALGIMIGLI, L. Antioxidant activity of essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 46, p. 10835–10847, 2013.
- BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008.
- BARATTA, M. T. *et al.* Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 13, n. 4, p. 235–244, 1998.
- BAYALA, B. *et al.* Anticancer activity of essential oils and their chemical components - A review. **American Journal of Cancer Research**, v. 4, n. 6, p. 591–607, 2014.
- BENCHAAR, C. *et al.* A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, n. 1–4, p. 209–228, 2008.
- BENNETT, R. N.; WALLSGROVE, R. M. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. **New Phytologist**, v. 127, n. 4, p. 617–633, 1994.
- BHALLA, Y.; GUPTA, V. K.; JAITAK, V. Anticancer activity of essential oils: A review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 15, p. 3643–3653, 2013.
- BOURGAUD, F. *et al.* Production of plant secondary metabolites: A historical perspective. **Plant Science**, v. 161, n. 5, p. 839–851, 2001.
- CALSAMIGLIA, S. *et al.* Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 6, p. 2580–2595, 2007.
- CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. **Natural Products (Secondary Metabolites)**. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (Eds.). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. 1. ed. [s.l.] Wiley Blackwell, 2000. p. 1250–1318.

DA SILVEIRA E SÁ, R. D. C. *et al.* A review on anti-inflammatory activity of phenylpropanoids found in essential oils. **Molecules**, v. 19, n. 2, p. 1459–1480, 2014.

ENAN, E. Insecticidal activity of essential oils: Octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, v. 130, n. 3, p. 325–337, 2001.

ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA. **Essential oil**. Disponível em: <<https://www.britannica.com/topic/essential-oil>>. Acesso em: 12 nov. 2019.

GAUTAM, N.; MANTHA, A. K.; MITTAL, S. Essential oils and their constituents as anticancer agents: A mechanistic view. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

HAMMER, K. A.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. **Journal of Applied Microbiology**, v. 86, n. 6, p. 985–990, 1999.

HOSTE, H. *et al.* The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. **Trends in Parasitology**, v. 22, n. 6, p. 253–261, 2006.

KARÁSKOVÁ, K.; SUCHÝ, P.; STRAKOVÁ, E. Current use of phytogetic feed additives in animal nutrition: A review. **Czech Journal of Animal Science**, v. 60, n. 12, p. 521–530, 2015.

KOTSAMPASI, B. *et al.* Effects of dietary orange peel essential oil supplementation on milk yield and composition, and blood and milk antioxidant status of dairy ewes. **Animal Feed Science and Technology**, v. 245, n. August, p. 20–31, 2018.

MARTIN, G. B.; KADOKAWA, H. “Clean, green and ethical” animal production. Case study: Reproductive efficiency in small ruminants. **Journal of Reproduction and Development**, v. 52, n. 1, p. 145–152, 2006.

MELO, A. C. F. L. *et al.* Nematódeos resistentes a anti-helmíntico em rebanhos de ovinos e caprinos do estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, v. 33, n. 2, p. 339–344, 2003.

MIGUEL, M. G. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short review. **Molecules**, v. 15, n. 12, p. 9252–9287, 2010.

NEWBOLD, C. J. *et al.* **New feed additives for ruminants - a European perspective**. Proc. Pac. NW Anim. Nutr. Conf., n. December 2015, p. 77–86, 2006.

NIETO, G. *et al.* Dietary administration of ewe diets with a distillate from rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis* L.): Influence on lamb meat quality. **Meat Science**, v. 84, n. 1, p. 23–29, 2010.

OH, H. K. *et al.* Effect of various essential oils isolated from Douglas fir needles upon sheep and deer rumen microbial activity. **Applied microbiology**, v. 15, n. 4, p. 777–784, 1967.

ORTU, E. *et al.* *In vitro* anthelmintic activity of active compounds of the fringed rue *Ruta chalepensis* against dairy ewe gastrointestinal nematodes. **Journal of Helminthology**, v. 91, n. 4, p. 447–453, 2017.

PANDEY, K. B.; RIZVI, S. I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2, n. 5, p. 270–278, 2009.

PEANA, A. T. *et al.* Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. **Phytomedicine**, v. 9, n. 8, p. 721–726, 2002.

RODRIGUES, A. B. *et al.* Sensibilidade dos nematódeos gastrintestinais de caprinos a anti-helmínticos na mesorregião do Sertão Paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n. 4, p. 162–166, 2007.

SILVA, J. *et al.* Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of Eucalyptus. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 89, n. 2–3, p. 277–283, 2003.

SQUIRES, J. M. *et al.* Efficacy of an orange oil emulsion as an anthelmintic against *Haemonchus contortus* in gerbils (*Meriones unguiculatus*) and in sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 172, n. 1–2, p. 95–99, 2010.

UE 1831/2003. Regulamento (CE) n.o 1831/2003 - Relativo aos aditivos destinados à alimentação animal. **Jornal Oficial da União Europeia**, v. 268, p. 29–43, 2003.

WALLACE, R. J. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. Proceedings of the **Nutrition Society**, v. 63, n. 4, p. 621–629, 2004.



## 2. CAPÍTULO 1

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 O *Haemonchus contortus*

O *H. contortus* é considerado o nematoide gastrointestinal (NGI) mais prevalente e patogênico dos pequenos ruminantes, causando anemia severa, devido ao seu hábito alimentar hematófago (EMERY *et al.*, 2016). Segundo um levantamento realizado por Patil *et al.* (2019), ele é o principal parasita modelo de estudo utilizado para avaliar o efeito anti-helmíntico dos OE.

Originário do continente africano, o *H. contortus* foi disseminado durante o período de comercialização marítima de escravos e durante a colonização da Austrália (SALLÉ *et al.*, 2019) ocorrendo, atualmente em todas as regiões onde há produção ovinos e caprinos, em especial, nos trópicos, demonstrando-se amplamente adaptado a uma diversidade de ambientes (BESIER *et al.*, 2016; PETER; CHANDRAWATHANI, 2005).

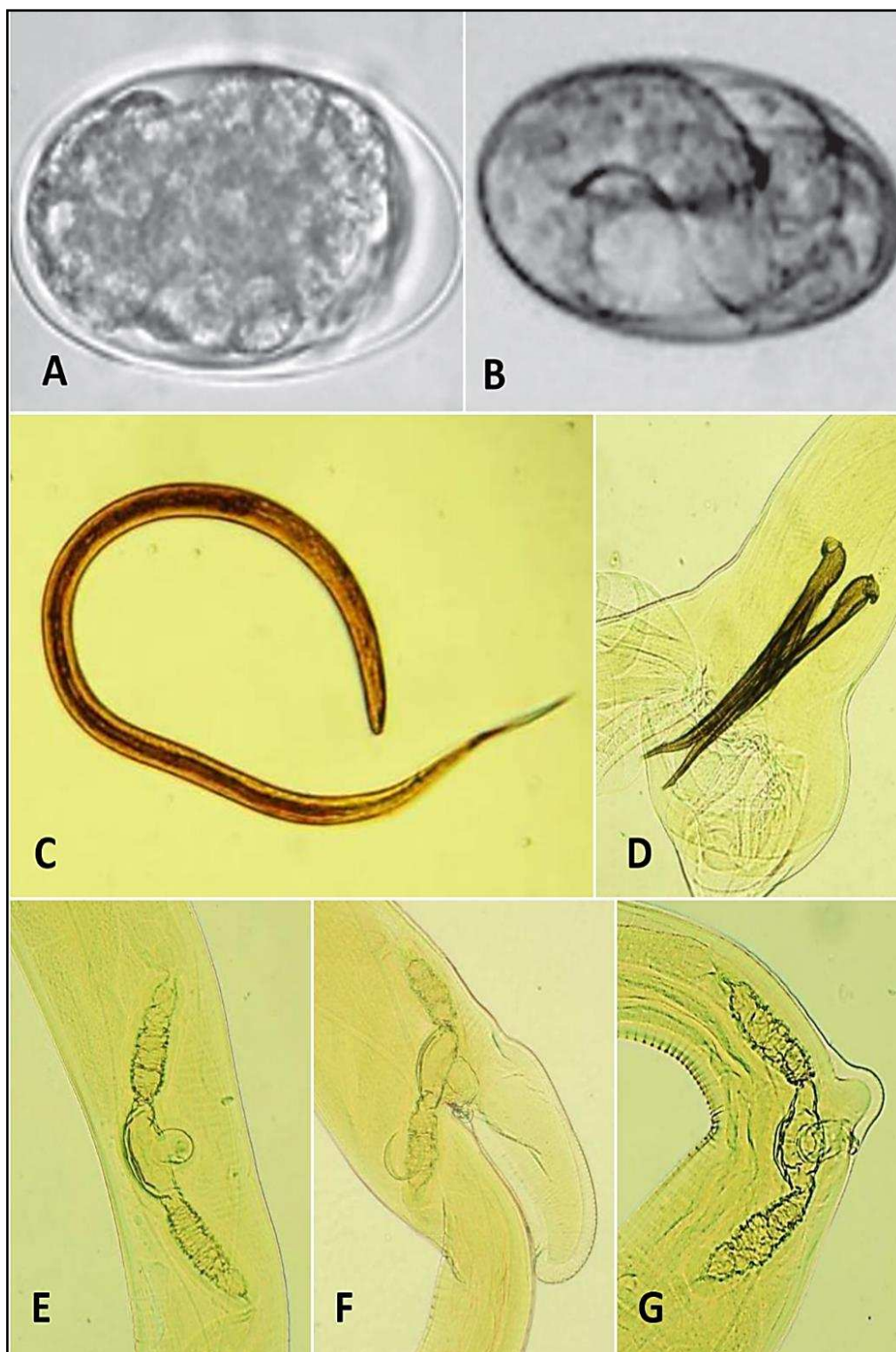
Seu ciclo de vida (FIGURA 1) é dividido em cinco estágios de desenvolvimento e duas fases de vida: uma livre e outra parasitária (AMARANTE, 2014). As formas adultas infestam o abomaso dos pequenos ruminantes, onde copulam, e, quando os animais defecam, os ovos do nematoide são eliminados juntamente com as fezes, contaminando o ambiente. Em média, uma fêmea adulta produz de 5.000 a 10.000 ovos por dia (UENO; GONÇALVES, 1998). Durante a fase de vida livre, dos ovos eclodem larvas de primeiro estágio (L1). Em seguida, as L1 atingem o segundo estágio (L2) e, posteriormente, dão origem às larvas infectantes (L3) em, aproximadamente, sete dias. As L3 migram das fezes para a forragem, onde permanecem estáticas, conservando energia, até serem casualmente ingeridas pelo hospedeiro (FENTON; RANDS, 2004). A chuva e a umidade do orvalho favorecem seu deslocamento ao topo da planta, independente do horário do dia (SANTOS; SILVA; AMARANTE, 2012; SILVA *et al.*, 2008).

Após eclodirem, as larvas L1 e L2 alimentam-se de matéria orgânica e de microrganismos presentes nas fezes, enquanto as L3 são totalmente dependentes do hospedeiro e sobrevivem, basicamente, das reservas corporais obtidas durante seus estágios anteriores (FITTERS *et al.*, 1997). Em condições favoráveis (temperatura

entre 15 e 30 °C; umidade relativa > 20), as larvas infectantes podem sobreviver de 36 a 52 semanas e em condições desfavoráveis (temperatura > 35 °C; umidade relativa < 20), sobrevivem de poucos dias a nove semanas (BESIER *et al.*, 2016). Mesmo em um ambiente propício, apenas um pequeno percentual de larvas atinge o estágio infectante, quantidade suficiente para provocar infecções severas (AMARANTE, 2014).

A fase parasitária inicia-se no trato gastrintestinal do hospedeiro. Após ingeridas, as larvas L3 penetram a mucosa do abomaso e iniciam um desenvolvimento histotrófico (AMARANTE, 2014). Cinco dias após a infecção, os nematoides emergem da mucosa e o quarto estágio de desenvolvimento (L4) é o primeiro a se alimentar de sangue (HARDER, 2016). Em seguida, o parasita torna-se sexualmente maduro no quinto estágio (L5) e seu ciclo de vida reinicia-se com a ovoposição. Em média, o período pré-patente para infecções provocadas por *H. contortus* é de 21 dias (UENO; GONÇALVES, 1998).

Figura 1 – Ciclos de vida e diferenciação sexual do *Haemonchus contortus*.



A, ovo em estágio inicial de desenvolvimento, logo após a eliminação nas fezes; B, ovo larvado; C, larva adulta; D, larva macho, em destaque espículos; E, F e G, larva fêmea. Em destaque ovojetor e apêndice vulvar tipo liso, linguiforme e botão, respectivamente.

Fonte: Adaptado de Amarante (2014) e Andrade Junior (2013).

### 3.2 Sinais clínicos de hemoncose

O principal sinal clínico da hemoncose, patologia provocada pelo *H. contortus*, é a anemia. Em média, uma larva L5 pode remover 30 µL de sangue por dia, podendo causar anemia ou até mesmo morte em infestações superiores a 500 vermes (EMERY; HUNT e LE JAMBRE, 2016).

Inicialmente, a hemoncose tende a se manifestar na forma crônica. Nesta fase, a contagem de OPG apresenta valores inferiores a 2.000. Com a ingestão contínua de larvas, a forma crônica evolui para o estágio agudo, no qual a anemia persiste por algumas semanas, e valores de até 50.000 OPG podem ser observados, até que ocorra a morte do hospedeiro (BESIER *et al.*, 2016).

A hemoncose aguda é dividida em três estágios (DARGIE; ALLONBY, 1975). O primeiro, ocorre durante as três primeiras semanas após a infecção e é caracterizado pela redução drástica do volume globular (VG), devido à hematofagia das larvas L4 e L5 e à latência do sistema eritropoiético. Este está inversamente correlacionado à contagem de OPG (VANIMISSETTI *et al.*, 2004), ou seja, quanto maior a carga parasitária do animal, menor será o volume de eritrócitos.

Na segunda etapa, os animais apresentam uma melhora aparente da anemia devido ao estímulo da eritropoiese. No estágio final, o hematócrito cai drasticamente devido ao fim das reservas de ferro e a morte do hospedeiro ocorre de seis a oito semanas após a infecção. Cerca de 20% das mortes de pequenos ruminantes são atribuídas ao *H. contortus* (VALENTINE; CEBRA; TAYLOR, 2007). Raramente, alguns animais manifestam hemoncose hiperaguda (>50.000 OPG) e morrem subitamente antes que qualquer sinal clínico seja detectado (BESIER *et al.*, 2016).

Alguns sinais clínicos incluem mucosa conjuntiva pálida, letargia, apatia, pelos ou lã eriçados, secos e frágeis, hipoproteïnemia, hemorragia abomasal, edema ventral e submandibular. Normalmente, em infecções simples, provocadas apenas por *H. contortus*, as fezes do hospedeiro são firmes, enquanto em infecções mistas, com mais de uma espécie de nematóide, podem ocorrer diarreia (AMARANTE, 2014; BESIER *et al.*, 2016).

### 3.3 Alterações gastrintestinais

As formas adultas de *H. contortus* liberam produtos que inibem a secreção de ácido gástrico, aumentando o pH do abomaso para 4,5 (LI *et al.*, 2016; SIMPSON *et al.*, 1997). Nesta faixa de pH, as fêmeas atingem a postura máxima (106%) e diminuem os danos à cutícula e aos seus órgãos internos (HONDE, BUENO, 1982; SIMPSON, 2000).

As larvas L3 penetram a mucosa do abomaso e, durante seu desenvolvimento, distendem as glândulas gástricas progressivamente, provocando alterações hiperplásicas e metaplásicas em células epiteliais e em glândulas adjacentes ao parasita (DURHAM; ELLIOTT, 1976). Quando emergem na mucosa, liberam produtos inflamatórios, que inibem a secreção de somatostatina, histamina e ácido clorídrico, permitindo a liberação descontrolada de gastrina (SIMPSON, 2000). Comumente, animais infectados por NGI apresentam hipergastrinemia e hiperpepsinogenemia (LAWTON *et al.*, 1996; SIMPSON *et al.*, 1997).

A gastrina aumenta a secreção de pepsinogênio, que é convertido em pepsina em meio ácido. Esta, por sua vez, inicia a digestão da proteína dietética no estômago, atuando em pH ideal de 1,8 a 3,5 (ARGENZIO, 2014). Com a menor concentração de íons H<sup>+</sup> no lúmen gástrico, a pepsina falha em iniciar a digestão da proteína, prejudicando a nutrição do animal (SIMPSON, 2000).

Ainda, quando as larvas emergem, descamam a barreira da mucosa gástrica e provocam edemas submucosos, que extravasam os fluidos extracelulares para o lúmen estomacal (DURHAM; ELLIOTT, 1976). Isso permite que o ácido gástrico do suco gástrico lesione os capilares sanguíneos e provoque hemorragia. Normalmente, as fezes dos animais infectados por *H. contortus* são escuras, devido à digestão do sangue e estas são denominadas de melenas.

### **3.4 Efeito anti-helmíntico dos OE: *in vitro* e *in vivo***

O efeito anti-helmíntico *in vitro* dos OE é avaliado, principalmente, em ensaios ovocidas e larvicidas. Estes consistem em: teste de eclosão de ovos (TEO) e teste de desenvolvimento larval (TDL), que avaliam a capacidade dos óleos de inibirem o desenvolvimento dos estágios de vida embrionário ao larval e deste ao de larva infectante, respectivamente (ANDRÉ *et al.*, 2018).

Durante a condução dos ensaios *in vitro*, a dose letal mediana (DL50, concentração de OE necessária para inibir 50% do desenvolvimento embrionário e

larval), é determinada, e a composição do OE é o principal fator que pode alterar a DL50. Por exemplo, o OE obtido a partir de sementes de *Carapa guianensis* não foi eficiente para inibir a eclosão de ovos e o desenvolvimento larval de *H. contortus*, pois seus principais constituintes eram ácidos graxos (85,8%, CARVALHO *et al.*, 2012).

Além disso, observa-se que a DL50 dos OE é maior do que a dos anti-helmínticos sintéticos, ou seja, eles são menos tóxicos. Por exemplo, em um ensaio larvicida, a DL50 do OE de *Ruta chalepensis* foi 1194 vezes maior do que a dose do levamisole (1,91 vs 0,0016 mg/mL, respectivamente, ORTU *et al.*, 2017), enquanto em outro teste, a inibição de 100% das larvas de *H. contortus* foi obtida com 2,5 e 0,025 mg/mL de OE de *Hura crepitans* e albendazol, respectivamente (CARVALHO *et al.*, 2012).

*In vivo*, o efeito anti-helmíntico dos OE é avaliado em roedores e em pequenos ruminantes, administrando-os em doses únicas por via oral (KATIKI *et al.*, 2012; MACEDO *et al.*, 2010; RIBERIO *et al.*, 2013; SQUIRE *et al.*, 2010). A utilização de 1200 mg/kg de OE de laranja mostrou-se efetivo contra NGI, reduzindo significativamente o OPG em cordeiros. Macedo *et al.* (2010) administraram 500 mg/kg de OE de *Eucalypto staigeriana* e 0,2 mg/kg de Ivermectina em caprinos e observaram que a redução do OPG não diferiu entre os tratamentos.

Apesar de resultados positivos, alguns OE não são eficientes para tratar e prevenir infecções provocadas por NGI. Katiki *et al.* (2012) não observaram redução do OPG em ovinos suplementados com 180 e 360 mg/kg de OE de *Cymbopogon schoenanthus* e, além disso, as doses fornecidas intoxicaram os animais, provocando apatia, letargia e anorexia.

O fornecimento de OE em concentrações menores e diárias é uma estratégia que se tem mostrado vantajosa em relação à dosagem única, pois ela previne intoxicações e permite que o óleo seja facilmente misturado à ração sem mudar sua palatabilidade. Isso dispensa a necessidade de conter os animais e permite avaliar o efeito anti-helmíntico do OE durante todo o ciclo produtivo da ovinocultura. Nesse contexto, Katiki *et al.* (2019) forneceram para cordeiros 50 mg/kg/dia de um blend de OE à base de anentol e carvona, durante 45 dias, e observaram redução significativa do OPG. Entretanto, quando utilizaram 20 mg/kg/dia do OE por cinco meses, constataram que esta dose não foi eficiente para tratar e prevenir infecções provocadas por NGI.

### 3.5 Mecanismo de ação dos OE contra NGI

O modo de ação dos OE contra NGI ainda não está completamente elucidado, mas alguns processos foram descritos. Os compostos fenólicos alteram a síntese de energia dos nematoides ao desacoplar a fosforilação oxidativa (MARTIN, 1997). Um agente desacoplador colapsa a cadeia transportadora de elétrons ao dissipar o gradiente de prótons do espaço intermembranoso da mitocôndria antes que a ATPsintase utilize a força protomotriz para gerar ATP a partir de ADP e fosfato inorgânico (KESSLER; TYSON; GREEN, 1976).

Possivelmente, os alcaloides agem no sistema nervoso central do parasita, paralisando-o e provocando sua morte ou inibindo a fosfodiesterase que hidrolisa a AMPc (CROTEAU; KUTCHAN; LEWIS, 2000; ROY *et al.*, 2010).

Os taninos, indiretamente, melhoram a resposta imunológica do hospedeiro ao se complexarem às proteínas dietéticas, protegendo-as da degradação ruminal e aumentando a fração de proteína não-degradada no rúmen (ATHANASIADOU, *et al.*, 2001). Outra possibilidade é que os taninos se liguem à cutícula das larvas, que é rica em glicoproteína e causem sua morte (THOMPSON; GEARY, 1995).

Os terpenos provocam lesões internas no parasita ao aumentar a permeabilidade da sua camada de cutícula (ANDRÉ *et al.*, 2017). O colágeno é o principal constituinte da cutícula dos NGI e estudos demonstraram que os terpenoides aumentaram a permeação de algumas drogas através da pele (HARDER, 2016; JAIN; THOMAS; PANCHAGNULA, 2002; NARISHETTY; PANCHAGNULA, 2004; WILLIAMS; BARRY, 1991).

Estudos *in vivo* indicam que os OE reduzem a fertilidade das larvas adultas por mecanismos ainda não elucidados, associados à menor contagem de OPG (KATIKI *et al.*, 2019). Já experimentos *in vitro* demonstram que os extratos vegetais provocam lesões externas, principalmente na região cefálica, no sistema reprodutor e na cutícula, que afetam a nutrição, a reprodução e a motilidade do nematoide (MARTÍNEZ-ORTÍZ-DE-MONTELLANO *et al.*, 2013), respectivamente, e microlesões internas, como alteração na hipoderme, camada celular localizada logo abaixo da cutícula, e lise das células musculares e intestinais (BRUNET; FOURQUAUX; HOSTE, 2011).

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de OE no controle de NGI tem se destacado como uma alternativa importante para o desenvolvimento sustentável da ovinocaprinocultura. A associação de OE e anti-helmínticos sintéticos pode ser uma estratégia viável para reduzir a seleção de nematoide resistentes às mais diversas bases químicas disponíveis no mercado, além de reduzir o risco de poluição ambiental e os resíduos desses fármacos na carne e no leite. Como perspectiva, mais estudos *in vivo*, utilizando pequenos ruminantes como animais modelo devem ser realizados.



## REFERÊNCIAS

AMARANTE, A. F. T. DO. **Os parasitas de ovinos**. 1. ed. São Paulo: Editora UNESP, 2014.

ANDRÉ, W. P. P. *et al.* Anthelmintic effect of thymol and thymol acetate on sheep gastrointestinal nematodes and their toxicity in mice. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 26, n. 3, p. 323–330, 2017.

ANDRÉ, W. P. P. *et al.* Essential oils and their bioactive compounds in the control of gastrointestinal nematodes of small ruminants. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 46, n. 1, p. 1–14, 2018.

ARGENZIO, R. A. Secreções do estômago e das glândulas acessórias. In: REECE, W. O. (Ed.). **Dukes, fisiologia dos animais domésticos**. – [Reimpr.]. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. p. 375-386.

ATHANASIADOU, S. *et al.* Direct anthelmintic effects of condensed tannis towards diferente gastrointestinal nematodes of sheep: In vitro and *in vivo* studies. **Veterinary Parasitology**, v. 99, n.3, p. 205-219, 2001.

BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils - A review. Food and **Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008.

BENCHAAR, C. *et al.* A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, n. 1–4, p. 209–228, 2008.

BESIER, R. B. *et al.* The Pathophysiology, Ecology and Epidemiology of Haemonchus contortus Infection in **Small Ruminants**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2016. v. 93

BRUNET, S.; FOURQUAUX, I.; HOSTE, H. Ultrastructural changes in the third-stage, infective larvae of ruminant nematodes treated with sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) extract. **Parasitology International**, v. 60, n. 4, p. 419–424, 2011.

CARVALHO, C. O. *et al.* The anthelmintic effect of plant extracts on *Haemonchus contortus* and *Strongyloides venezuelensis*. **Veterinary Parasitology**, v. 183, n. 3–4, p. 260–268, 2012.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. **Natural Products (Secondary Metabolites)**. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (Eds.). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. 1. ed. [s.l.] Wiley Blackwell, 2000. p. 1250–1318.

DARGIE, J. D.; ALLONBY, E. W. Pathophysiology of single and challenge infections of *Haemonchus contortus* in Merino sheep: Studies on red cell kinetics and the “self-cure” phenomenon. **International Journal for Parasitology**, v. 5, n. 2, p. 147–157, 1975.

DURHAM, P. J. K.; ELLIOTT, D. C. Experimental *Ostertagia* spp. infection of sheep: development of worm populations and lesions resulting from different dose-levels of larvae. **Veterinary Parasitology**, v. 2, n. 2, p. 157–166, 1976.

EMERY, D. L.; HUNT, P. W.; LE JAMBRE, L. F. *Haemonchus contortus*: the then and now, and where to from here? **International Journal for Parasitology**, v. 46, n. 12, p. 755–769, 2016.

FENTON, A.; RANDS, S. A. Optimal parasite infection strategies: A state-dependent approach. **International Journal for Parasitology**, v. 34, n. 7, p. 813–821, 2004.

FITTERS, P. F. L. *et al.* Estimation of Lipid Reserves in Unstained Living and Dead Nematodes by Image Analysis. **Journal of Nematology**, v. 29, n. 2, p. 160–167, 1997.

HARDER, A. *The Biochemistry of Haemonchus contortus and Other Parasitic Nematodes*. [s.l.] Elsevier Ltd, 2016. v. 93

HONDE, C.; BUENO, L. *Haemonchus contortus*: Egg laying influenced by abomasal pH in lambs. **Experimental Parasitology**, v. 54, n. 3, p. 371–378, 1982.

HOSTE, H. *et al.* The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. **Trends in Parasitology**, v. 22, n. 6, p. 253–261, 2006.

JAIN, A. K.; THOMAS, N. S.; PANCHAGNULA, R. Transdermal drug delivery of imipramine hydrochloride. I. Effect of terpenes. **Journal of Controlled Release**, v. 79, n. 1–3, p. 93–101, 2002.

KARÁSKOVÁ, K.; SUCHÝ, P.; STRAKOVÁ, E. Current use of phytogetic feed additives in animal nutrition: A review. **Czech Journal of Animal Science**, v. 60, n. 12, p. 521–530, 2015.

KATIKI, L. M. *et al.* Evaluation of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil in lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v. 186, n. 3–4, p. 312–318, 2012.

KATIKI, L. M. *et al.* Evaluation of encapsulated anethole and carvone in lambs artificially- and naturally-infected with *Haemonchus contortus*. **Experimental Parasitology**, v. 197, p. 36–42, 2019.

KESSLER, R. J.; TYSON, C. A.; GREEN, D. E. Mechanism of uncoupling in mitochondria: uncouplers as ionophores for cycling cations and protons. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 73, n. 9, p. 3141–3145, 1976.

LAWTON, D. *et al.* Infection of sheep with adult and larval *Ostertagia circumcincta*: effects on abomasal pH and serum gastrin and pepsinogen. **Int Journal Parasitol**, v. 26, n. 10, p. 1063–1074, 1996.

LI, R. W. *et al.* The effect of helminth infection on the microbial composition and structure of the caprine abomasal microbiome. **Scientific Reports**, v. 6, n. May 2015, p. 1–10, 2016.

- MACEDO, I. T. F. *et al.* Anthelmintic effect of *Eucalyptus staigeriana* essential oil against goat gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 173, n. 1–2, p. 93–98, 2010.
- MARTIN, R. J. Modes of action of anthelmintic drug. **The Veterinary Journal**, v. 154, n. 1, p. 11–34, 1997.
- MARTÍNEZ-ORTÍZ-DE-MONTELLANO, C. *et al.* Scanning electron microscopy of *Haemonchus contortus* exposed to tannin-rich plants under *in vivo* and *in vitro* conditions. **Experimental Parasitology**, v. 133, n. 3, p. 281–286, 2013.
- MELO, A. C. F. L. *et al.* Nematódeos resistentes a anti-helmíntico em rebanhos de ovinos e caprinos do estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, v. 33, n. 2, p. 339–344, 2003.
- NARISHETTY, S. T. K.; PANCHAGNULA, R. Transdermal delivery of zidovudine: Effect of terpenes and their mechanism of action. **Journal of Controlled Release**, v. 95, n. 3, p. 367–379, 2004.
- ORTU, E. *et al.* *In vitro* anthelmintic activity of active compounds of the fringed rue *Ruta chalepensis* against dairy ewe gastrointestinal nematodes. **Journal of Helminthology**, v. 91, n. 4, p. 447–453, 2017.
- PATIL, K. D. *et al.* Potential of herbal constituents as new natural leads against helminthiasis: A neglected tropical disease. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 12, n. 7, p. 291–299, 2019.
- PETER, J. W.; CHANDRAWATHANI, P. *Haemonchus contortus*: parasite problem No. 1 from tropics - Polar Circle. Problems and prospects for control based on epidemiology. **Tropical biomedicine**, v. 22, n. 2, p. 131–137, 2005.

- RIBEIRO, W. L. C. *et al.* Activity of chitosan-encapsulated *Eucalyptus staigeriana* essential oil on *Haemonchus contortus*. **Experimental Parasitology**, v. 135, n. 1, p. 24–29, 2013.
- RODRIGUES, A. B. *et al.* Sensibilidade dos nematóides gastrintestinais de caprinos a anti-helmínticos na mesorregião do Sertão Paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n. 4, p. 162–166, 2007.
- ROY, H. *et al.* Preliminary phytochemical investigation and anthelmintic activity of *Acanthospermum hispidum* DC. **Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v. 2, n. 5, p. 217–221, 2010.
- SALLÉ, G. *et al.* The global diversity of *Haemonchus contortus* is shaped by human intervention and climate. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 1–14, 2019.
- SANTOS, M. C.; SILVA, B. F.; AMARANTE, A. F. T. Environmental factors influencing the transmission of *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v. 188, n. 3–4, p. 277–284, 2012.
- SILVA, B. F. *et al.* Vertical migration of *Haemonchus contortus* third stage larvae on *Brachiaria decumbens* grass. **Veterinary Parasitology**, v. 158, n. 1–2, p. 85–92, 2008.
- SIMPSON, H. V. *et al.* Effects of adult and larval *Haemonchus contortus* on abomasal secretion. **International Journal for Parasitology**, v. 27, n. 7, p. 825–831, 1997.
- SIMPSON, H. V. Pathophysiology of Abomasal Parasitism: Is the Host or Parasite Responsible? **Veterinary Journal**, v. 160, n. 3, p. 177–191, 2000.
- SQUIRES, J. M. *et al.* Efficacy of an orange oil emulsion as an anthelmintic against *Haemonchus contortus* in gerbils (*Meriones unguiculatus*) and in sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 172, n. 1–2, p. 95–99, 2010.

THOMPSON, D. P.; GEARY, T. G. The structure and function of helminth surfaces. In: M., M. (Ed.). **Biochemistry and Molecular Biology of Parasites**. 1. ed. New York: Academic Press, 1995. p. 203–232.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 4. ed. Tokyo: Japan International Cooperation Agency, 1998.

VALENTINE, B. A.; CEBRA, C. K.; TAYLOR, G. H. Fatal gastrointestinal parasitism in goats: 31 cases (2001-2006). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 231, n. 7, p. 1098–1103, 2007.

VANIMISSETTI, H. B. *et al.* Inheritance of fecal egg count and packed cell volume and their relationship with production traits in sheep infected with *Haemonchus contortus*. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 6, p. 1602–1611, 2004.

WILLIAMS, A. C.; BARRY, B. W. Terpenes and the Lipid–Protein–Partitioning Theory of Skin Penetration Enhancement. **Pharmaceutical Research**, v. 7, p. 17–24, 1991.

## 5 CAPÍTULO 2

### 6 INTRODUÇÃO

Os nematoides gastrintestinais (NGI) são os principais responsáveis por prejuízos econômicos na ovinocaprinocultura em todo o mundo, acarretando atraso no crescimento, diminuição da produção de leite, perda de peso e mortalidade (GASBARRE *et al.*, 2001; GITHIGIA *et al.*, 2001). As categorias mais susceptíveis às infestações por NGI são os cordeiros, as ovelhas em terço final de gestação e as em lactação (O'SULLIVAN e DONALD, 1973), sendo o *Haemonchus contortus* considerado o parasita mais prevalente e patogênico dos pequenos ruminantes, causando anemia severa, devido ao seu hábito alimentar hematófago (EMERY *et al.*, 2016).

Embora existam ferramentas que permitem o tratamento seletivo apenas dos animais/lotos que realmente necessitam, como a contagem de ovos por grama de fezes (GONDO e WHITLOC, 1939; OPG, RAYNAUD, 1970), o volume de células vermelhas no sangue (VANIMISETTI *et al.*, 2004) e o método FAMACHA® (VAN WIK e BATH, 2002), o controle dos NGI, muitas vezes, ainda se baseia no uso indiscriminado de anti-helmínticos em todo o rebanho. Essa prática tem levado à ocorrência de resistência parasitária às diversas bases disponíveis no mercado (MELO *et al.*, 2003; RODRIGUES *et al.*, 2007), além de apresentar elevado custo, pode representar um problema ambiental (HAMMOND *et al.*, 1997) e, ainda, levar ao acúmulo de resíduos químicos na carne e no leite (WALLER, 2006).

Com a crescente preocupação dos consumidores em relação à presença de resíduos químicos em produtos alimentícios, tem-se aumentado o interesse no potencial de substituição dos anti-helmínticos tradicionais por produtos naturais (JOUANY; MORGAVI, 2007; KARÁSKOVÁ *et al.*, 2015). Nesse contexto, os óleos essenciais (OE), metabólitos secundários obtidos a partir do extrato vegetal de plantas (BAKKALI *et al.*, 2008), têm ganhado destaque para o desenvolvimento sustentável da ovinocaprinocultura (HOSTE *et al.*, 2006). Os OE possuem diferentes funções no organismo, dentre elas, atividade anti-helmíntica (BENCHAAR *et al.*, 2008).

Estudos *in vitro* demonstram que os OE apresentam atividade anti-helmíntica eficaz contra NGI (CARVALHO *et al.*, 2012; ORTU *et al.*, 2017; PESSOA *et al.* 2002), e que seu efeito depende da concentração de seus constituintes ativos

(BAKKALI *et al.*, 2008). *In vivo*, a atividade dos óleos está associada à capacidade dos mesmos de permanecerem ativos após a passagem pelo rúmen (BENCHAAR *et al.*, 2008), sendo que uma fração dos compostos bioativos ainda pode permanecer ativa no abomaso e agir contra NGI (DUDKO *et al.*, 2017).

Poucos estudos foram realizados *in vivo* (KATIKI *et al.*, 2012; MACEDO *et al.*, 2010; SQUIRES *et al.*, 2010). De forma geral, esses estudos foram conduzidos utilizando pequenos ruminantes artificialmente infectados por cepas de larvas infectantes de *H. contortus*. Essas infecções foram realizadas de forma controlada e administradas uma única vez. Em contrapartida, o efeito anti-helmíntico dos OE, em infecções naturais, ainda permanece aquém daquele obtido artificialmente. Segundo Katiki *et al* (2019), a inclusão de a 20 mg OE/kg PC não foi suficiente para prevenir ou tratar ovinos naturalmente infectados.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar o efeito de um blend de três OE (óleo do líquido da casca da castanha de caju, de mamona e de copaíba) sobre o controle de vermes, o consumo de matéria seca e nutrientes, a digestibilidade aparente dos nutrientes e o desempenho produtivo de ovelhas em lactação naturalmente infectadas por NGI.

## **7 MATERIAL E MÉTODOS**

Todos os procedimentos envolvendo animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa (UFV); protocolo n.º 04/2020.

### **7.1 Local**

O estudo foi realizado na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Ovinocultura (UEPE-OVINO) do Departamento de Zootecnia da UFV. Durante o experimento, a temperatura média foi de 20,17 °C, variando de 6,65 a 31,85 °C, com umidade relativa média de 85,59% e precipitação total de 980,00 mm (Instituto Nacional de Meteorologia).

### **7.2 Animais, tratamentos e manejo**



Foram utilizadas 60 ovelhas mestiças 1/2 Santa Inês × 1/2 Dorper, primíparas e múltíparas, com peso corporal médio de  $58,70 \pm 10,52$  kg, distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e 15 repetições cada. Os tratamentos consistiram em quatro níveis de inclusão (0, 4, 8 e 16 mg/kg PC) de um blend de óleos essenciais na porção concentrada da dieta. O blend continha 24% de óleo de líquido da casca da castanha de caju (LCC), 12% de óleo de mamona, 4% de óleo de copaíba e 60% de uma matriz de algas marinhas calcárias e sílica, enquanto o concentrado foi à base de milho e farelo de soja (TABELA 1), fornecido na proporção de 0,5% do peso vivo. Como volumoso, foi utilizado pastagem de capim braquiária (*Urochloa decumbens*) (TABELA 1), providas de áreas de sombreamento e bebedouros, totalizando 7,5 ha. O método de pastejo utilizado foi o contínuo com taxa de lotação de oito animais/ha.

Tabela 1 – Composição percentual e química da dieta basal.

<b>Ingredientes</b>	<b>% MN<sup>1</sup></b>	
Minho grão moído	72	
Farelo de soja	21	
Ureia/sulfato de amônia	2	
Fosfato bicálcico	2,5	
Sal	2,48	
<i>Premix mineral</i> <sup>2</sup>	0,02	
<b>Composição química</b>	<b>Ração concentrada</b>	<b>Capim braquiária</b>
MS (%)	87,69	25,34
MO (% MS)	91,85	92,48
MM (% MS)	8,15	7,52
PB (% MS)	21,64	8,29
EE (% MS)	2,24	1,81
FDNcp (% MS)	4,80	61,32
CNF (% MS)	63,17	21,06

<sup>1</sup>MN, matéria natural.

<sup>2</sup>Cálcio 22,5% a 21,5%; fósforo 4,0%; enxofre 1,5%; sódio 5,0%; magnésio 1,0%; cobalto 11,00 ppm; iodo 34 ppm; manganês 1800 ppm; selênio 10,00 ppm; zinco 2000 ppm; ferro 1250 ppm; cobre 120 ppm; flúor 400,00 ppm; vitamina A 37,5 ppm; vitamina D3 0,5 ppm e vitamina E 800 ppm.

<sup>3</sup>MS, matéria seca; MO, matéria orgânica, MM, matéria mineral, PB, proteína bruta; EE, extrato etéreo; FDN<sub>cp</sub>, fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína e CNF, carboidratos não fibrosos.

Fonte: Cardoso (2022).

As ovelhas foram suplementadas em baias individuais (1,0 x 1,5 m), providas de comedouro, uma vez ao dia, às 7h00. Após o consumo do concentrado, os animais eram soltos, todos juntos, no pasto. O tempo de pastejo foi de, aproximadamente, sete horas, iniciando logo após o arraçoamento e finalizando às 17h00, quando os animais eram conduzidos ao aprisco, na qual pernoitavam em uma área de descanso coletivo (8 m<sup>2</sup>/animal), com piso de alvenaria e cama de maravalha. O aprisco era coberto com telha de fibrocimento, telado nas laterais (tela de arame galvanizado com malha de 50 mm). A infecção dos animais por NGI por consumo de pastagem contaminada previamente.

Durante o período de adaptação, que iniciou duas semanas antes da data prevista para o parto, as ovelhas foram identificadas, pesadas e condicionadas ao arraçoamento nas baias individuais.

A dieta experimental foi fornecida a cada animal por 90 dias, iniciando-se logo após o parto, sendo que, a cada 15 dias, as ovelhas eram pesadas para ajustar o fornecimento da ração concentrada e do OE. O período experimental total foi de 142 dias, compreendendo os meses de janeiro a junho de 2020.

### **7.3 Óleos essenciais**

O blend de óleos essenciais (OE) continha 24% de óleo de líquido da casca da castanha de caju (LCC), 12% de óleo de mamona, 4% de óleo de copaíba e 60% de uma matriz de algas marinhas calcárias e sílica.

### **7.4 Manejo das crias**

Os nascimentos concentraram-se entre os meses de janeiro e março de 2020. Logo após o parto, as crias foram identificadas e a cura do umbigo foi feita com uma solução *spray* antisséptica a base de fipronil e sulfadiazina de prata, aplicada

diariamente até a queda do cordão. Permitiu-se que as ovelhas criassem seus cordeiros até o desmame, aos 90 dias de idade.

Durante o arraçoamento, os cordeiros permaneceram com suas mães nas baias. Após demonstrarem interesse em consumir alimentos sólidos, foram, então, separados das ovelhas e alimentados ad libitum, em cocho coletivo, com a mesma ração concentrada das mães, sem inclusão de OE.

## 7.5 Exames laboratoriais e FAMACHA©

Para avaliar o nível de infestação das ovelhas por *H. contortus*, foram realizadas: a contagem de ovos por grama de fezes (OPG), a determinação do volume globular e a avaliação do grau de anemia, utilizando o método FAMACHA©. Os exames foram realizados, quinzenalmente, em todos os animais, durante 90 dias, iniciando-se logo após o parto.

### 7.5.1 OPG

Para a análise de OPG, amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal das ovelhas, às 7h00, identificadas e mantidas em caixa térmica (4 °C) até serem processadas no Laboratório de Parasitologia Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da UFV. O exame de OPG foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Gordon e Whitlock (1939), modificada por Ueno; Gonçalves, (1998). Dois gramas de fezes foram subamostrados e macerados em um Becker de 100 mL com o auxílio de um bastão de vidro. Em seguida, 58 mL de uma solução supersaturada de cloreto de sódio (40 g NaCl/100 g água destilada) foram adicionados. Uma tamis de 80 malhas por polegada foi utilizada para filtrar a solução e o filtrado foi homogeneizado usando uma pipeta de Pasteur. Logo após, uma alíquota da suspensão foi retirada para preencher uma câmara de McMaster e aguardou-se cerca de dois minutos para realização da contagem. A leitura foi realizada em microscopia óptica (ocular de 5x e objetiva de 10x).

O OPG foi calculado utilizando a seguinte equação:

$$OPG = \frac{x \times \frac{Vt}{F}}{Vc} \quad (1);$$

em que: OPG, ovos por grama de fezes (unidade); x, número de ovos contados; Vt, volume total da solução (mL); F, fezes (g); Vc, volume total da câmara de McMaster (mL).

### 7.5.2 Hematócrito

Amostras de sangue foram coletadas por venopunção da veia jugular, utilizando tubos *vacutainer* com anticoagulante EDTA, para determinar o volume globular. As amostras foram identificadas e transportadas em caixa térmica (4 °C) ao Laboratório Clínico Veterinário do Departamento de Medicina Veterinária da UFV. O sangue foi transferido para tubos capilares, preenchendo aproximadamente dois terços do volume total. Em seguida, os tubos foram vedados e centrifugados, em centrífuga para microhematócrito, por cinco minutos a 10.000 RPM. O hematócrito foi determinado pela relação entre o volume de eritrócitos e o volume total de sangue.

### 7.5.3 Método FAMACHA©

O grau de anemia foi avaliado utilizando o método FAMACHA© (BATH; VAN WYK, 2001). Para isso, mucosa ocular dos animais foi exposta, sob luz natural, e a coloração da porção mediana da conjuntiva inferior foi comparada visualmente com os escores do guia de anemia.

## 7.6 Protocolo sanitário contra hemoncose

Um protocolo sanitário contra hemoncose foi elaborado previamente para garantir a saúde dos animais durante o estudo. Nele, foram estabelecidos os níveis críticos de infecção por *H. contortus* e as intervenções clínicas necessárias.

O hematócrito (MALAN; VAN WYK; WESSELS, 2001) e o OPG foram utilizados para definir os pontos críticos da carga parasitária e as intervenções clínicas consistiram em:

a) volume globular  $\leq 22\%$ : aplicar um anti-helmíntico comercial à base de nitroxinil, de acordo com as recomendações do fabricante, ferro dextrano e vitaminas do complexo B (B1, B6 e B12) durante e três dias;

b) reinfecção (volume globular  $\leq 22\%$  e OPG  $\geq$  OPG anterior): repetir os procedimentos descritos no item “a” 21 dias após a data da última intervenção.

## 7.7 Desempenho

Logo após o parto, as ovelhas foram pesadas, assim como suas crias, e o peso corporal inicial (PCi) e o peso ao nascimento (PN) foram registrados, respectivamente. Ao final do período experimental, os animais foram pesados para obtenção do peso corporal final (PCf) e peso ao desmame (PD).

O ganho médio diário (GMD) foi calculado pela diferença entre o PCf e PCi, dividido pelos dias de suplementação com a ração experimental, e pela diferença entre o PD e PN, dividido pela idade ao desmame (dias), para ovelhas e borregos, respectivamente.

A conversão alimentar foi determinada pela razão entre o consumo de matéria seca total (CMSt) das ovelhas e o GMD dos cordeiros (GMDc) e a eficiência alimentar foi obtida pela razão entre o GMDc e o CMSt.

## 7.8 Ensaio de digestibilidade

Um ensaio de digestibilidade com nove dias de duração, sendo cinco dias para adaptação ao marcador externo e quatro dias para coletas, foi conduzido para estimar o CMSt e o coeficiente de digestibilidade dos nutrientes (CD). Para condução do ensaio foram utilizadas oito ovelhas por tratamento, com aproximadamente  $45 \pm 7,16$  dias pós-parto.

Uma dose diária de 2 g de dióxido de titânio por animal foi utilizada como indicador externo para estimar a excreção fecal (EF). O indicador foi embalado em papel *kraft* e com auxílio de uma sonda oral de metal, depositado no esôfago das ovelhas do primeiro ao oitavo dia do ensaio, às 12h00. A fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) foi utilizada como indicador interno para determinar o CMSt. Amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal dos animais, do sexto ao nono dia, às 18h00, 14h00, 10h00 e 6h00, respectivamente. Em seguida, as amostras foram identificadas, pré-secadas em estufa com circulação forçada de ar a 55 °C, por 72 horas. As amostras foram proporcionalmente subamostradas, para

formar uma amostra composta por animal, e armazenadas para posteriores análises químicas.

No quinto dia do ensaio de digestibilidade, amostras dos ingredientes do concentrado e uma amostra representativa da pastagem, obtida por simulação manual do pastejo, foram utilizadas para estimar o CMSt e o CD. A amostragem do pasto foi realizada após uma observação da preferência das ovelhas, colhendo-se porções da forragem semelhantes às aquelas selecionadas pelos animais. A amostra de volumoso foi pré-secada em estufa com circulação forçada de ar a 55 °C, por 72 horas, e armazenada até posteriores análises químicas.

A excreção fecal e o CMSt foram calculados pelas equações (2), (3) e (4):

$$EF = \frac{If}{Ie} \quad (2);$$

em que; EF, excreção fecal (g MS/dia); If, concentração de TiO<sub>2</sub> fornecido (mg/dia), Ie, concentração de TiO<sub>2</sub> nas fezes (mg/g MS).

$$CMSv = \frac{(EF \times I_{ifecal}) - (CMS[ ] \times Ii[ ])}{Iiv} \quad (3);$$

$$CMSt = CMSv + CMS[ ] \quad (4);$$

em que: CMSv, é o consumo de matéria seca do volumoso (g MS/dia); lifecal, a concentração de FDNi nas fezes (mg/g MS); CMS[ ], o consumo de matéria seca de concentrado (g MS/dia), li[ ], a concentração de FDNi na ração concentrada (mg/g MS), liv, a concentração de FDNi no volumoso (mg/g MS) e CMSt, o consumo de matéria seca total (g MS/dia).

O CD foi dado pela seguinte equação:

$$CD = \frac{N_I - N_E}{N_I} \times 100 \quad (5);$$

em que: CD, é o coeficiente de digestibilidade (%); NI, a concentração de nutriente ingerido (g/dia); NE, a concentração de nutriente excretado (g/dia).

Durante o período experimental, o consumo de sal mineral não foi estimado e os valores de CD da matéria mineral foram desprezados.

### 7.10 Análises químicas

As amostras de fezes, pastejo simulado, ingredientes do concentrado e da estimativa de forragem disponível foram pré-secadas em estufa com circulação forçada de ar a 55 °C por 72 horas, e, em seguida, moídas em moinho de faca, utilizando uma peneira com porosidade de 2 mm. Uma alíquota foi retirada de cada amostra e armazenada para posterior análise do teor de FDN indigestível (FDNi) por incubação *in situ* por 288 horas utilizando-se sacos F57 (Ankom®), conforme descrito por Valente *et al.* (2011). O restante do material foi reprocessado em moinho de faca, com peneira de crivo de 1 mm e armazenado para posterior análise química, conforme os métodos preconizados pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal – INCTCA (DETMANN *et al.*, 2012). As análises realizadas foram: MS (método INCTCA G-003/1), matéria mineral e matéria orgânica (MM, MO; método INCTCA M-001/1), proteína bruta (PB; método INCTCA N-001/1), extrato etéreo (EE; método INCTCA G-005/1), fibra insolúvel em detergente neutro (FDN; método INCTCA F-002/1), proteína insolúvel em detergente neutro (PDIN; método INCTCA N-004/1), cinzas insolúveis em detergente neutro, FDN corrigida para cinzas e proteína (CIDN, FDN<sub>cp</sub>; método INCTCA M-002/1) e carboidratos não fibrosos (CNF; DETMANN; VALADARES FILHO, 2010).

A concentração de dióxido de titânio em amostras fecais foi determinada de acordo com o método INCTCA M-007/1 (DETMANN *et al.*, 2012).

O teor de nutrientes digestíveis totais foi calculado pela seguinte equação:

$$NDT = PBd + FDN_{cpd} + CNFd + (2,25 \times EEd) \quad (6);$$

em que: NDT, são os nutrientes digestíveis totais (g); PBd, o teor de proteína bruta aparentemente digestível (g), FDN<sub>cpd</sub>, o teor de fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteínas digestível (g); CNFd, o teor de carboidratos não fibrosos digestíveis; EEd, o teor de extrato etéreo aparentemente digestível (g).

## 7.11 Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente causalizado. O modelo matemático foi  $Y_{ijk} = \mu + T_i + cov(\text{peso inicial})_j + e_{eijk}$ ; em que: Y é a observação;  $\mu$  é uma constante;  $T_i$  são efeitos fixos de tratamento; cov é a covariável de peso inicial e  $e_{eijk}$  é o erro aleatório.

A remoção dos *outliers* foi baseada no resíduo estudentizado fora do intervalo de  $\pm 1,5$ , de acordo com Shwertman *et al.* (2004), usando a ferramenta de boxplot do software R. Antes das análises, os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e de Bartlett para verificar a homocedasticidade. Assumindo o modelo matemático, foi realizada análise de regressão com a decomposição em efeitos lineares e quadráticos, considerando 5% de significância.

Para as medidas repetidas no tempo, o modelo adotado foi  $Y_{ijkl} = \mu + T_i + D_j + (T * D)_{ij} + ANIM(D)_k + e_{eijkl}$ ; em que: Y é a observação;  $\mu$  é uma constante;  $T_i$  são efeitos fixos de tratamento; D é o efeito fixo de dia;  $T * D$  é a interação tratamento dia;  $ANIM(D)_k$  é o efeito aleatório de animal dia e e é o erro aleatório. Os modelos foram ajustados e as estruturas de covariância autorregressiva, simetria composta, simples e não-estruturada testadas, selecionando o modelo pelo método de Akaike. Assumindo o modelo matemático, quando os efeitos foram significativos, foram realizadas análises de regressão, com a decomposição em efeitos lineares e quadráticos, considerando 5% de significância. Todas as análises foram realizadas no software R.

## 8 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período experimental 68,42% dos animais necessitaram de intervenções (TABELA 2).

Tabela 2 – Parâmetros descritivos do número de intervenções clínicas realizadas em ovelhas suplementadas com um *blend* de óleos essenciais, submetidas a infecção natural por *Haemonchus contortus*.

Quantidade	Nível de inclusão de OE (mg/kg PC)
------------	---------------------------------------



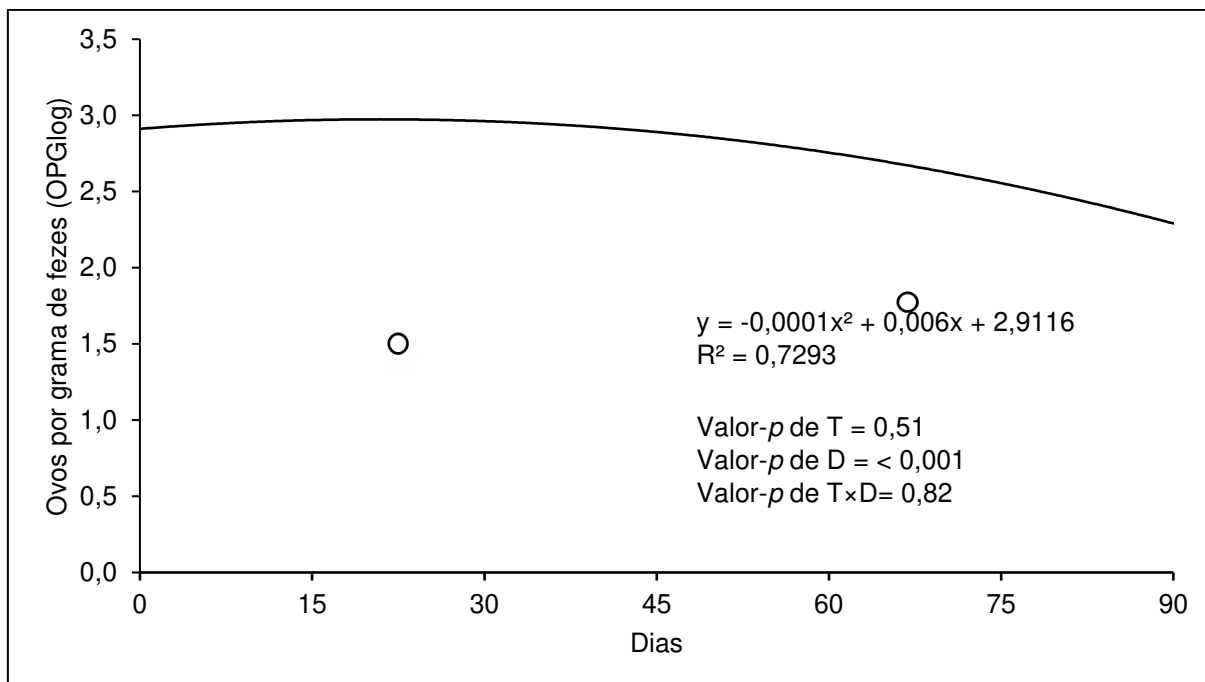
	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>8</b>	<b>16</b>
Animais intervindos	12	9	9	9
Animais com reinfecção	11	8	9	10
Total de intervenções	23	17	18	19
Animais removidos do estudo	1	1	0	1

Fonte: Cardoso (2022).

A covariável quantidade de intervenções não influenciou o OPGlog, o hematócrito nem o grau FAMACHA® nos diferentes tratamentos ( $p = 1$ ) ao longo dos dias ( $p = 0,51$ ) e nem na interação entre tratamento e dias ( $p = 0,76$ ).

Nenhum dos níveis de inclusão do blend utilizado foi eficiente em reduzir a carga parasitária das ovelhas, sendo que o OPGlog apresentou efeito quadrático crescente ( $p < 0,05$ ), atingindo valor máximo estimado de 3,001 aos 30 dias, com posterior redução (FIGURA 2). Ovelhas em terço final de gestação e em lactação são mais susceptíveis às infecções provocadas por NGI devido à quebra periparturiente da imunidade (TAYLOR, 1935), na qual o organismo transloca nutrientes de modo a priorizar funções reprodutivas, como a lactação, em detrimento das funções imunológicas (COOP; KYRIAZAKIS, 1999), o que incapacita, temporariamente, o sistema imune do hospedeiro de responder contra os nematoides (O'SULLIVAN; DONALD, 1973, 1970), justificando a carga parasitária inicial alta observada no estudo.

Figura 2 – Efeito da inclusão de um *blend* de óleos essenciais sobre a contagem de ovos por grama de fezes aos 0, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias de ovelhas naturalmente infectadas por larvas de *Haemonchus contortus*.



T, efeito fixo de tratamento; D, efeito fixo de dia; TxD, efeito fixo da interação entre tratamento e dia. OPGlog, log<sub>10</sub> (OPG + 1). Nível de significância valor- $p$  < 0,05.

Fonte: Cardoso (2022).

No entanto, à medida que os cordeiros crescem e atingem a idade de desmame, a imunidade das ovelhas se restabelece, e, por meio de mecanismos que, provavelmente, estão relacionados à redução da fecundidade das larvas, leva à queda da postura de ovos (AMARANTE *et al.*, 1992; GUO *et al.*, 2016). Corroborando com isso, observou-se que a contagem média de OPGlog reduziu para 2,6416 aos 90 dias (FIGURA 2).

Embora nenhum dos níveis de inclusão do blend testado tenha sido eficiente em reduzir a carga parasitária das ovelhas neste estudo, o LCC mostrou atividade anti-helmíntica *in vitro*, quando na dose de 0,5 mg/mL, induzindo 100% de inibição da eclosão de ovos de *H. contortus* ( $p < 0,001$ ), paralisia de 100% das larvas com 6 mg/mL ( $p < 0,01$ ) e inibição completa da motilidade dos parasitas adultos após uma hora de exposição a 6 mg/mL, e após quatro horas de exposição a 2 mg/mL ( $p < 0,01$ , DAVULURI *et al.*, 2020). O extrato obtido das folhas de duas espécies de cajueiro também demonstrou potencial atividade contra NGI *in vitro*. Na dose de 80 mg/mL, o extrato de *Anarcadium humile* inibiu o desenvolvimento larval em 99,6% ( $p < 0,05$ ), com DL50 (dose letal mediana, concentração de OE necessária para inibir 50% do desenvolvimento embrionário ou larval) de 23,24 mg/mL (NERY *et al.*, 2010), enquanto para o extrato de *A. occidentale* L., a DL50 foi de 0,311 e 1,72 mg/mL para

os ensaios de eclodibilidade e desenvolvimento larval, respectivamente (ADEMOLA; ELOFF, 2001).

De modo geral, os OE são formados por uma diversidade de substâncias, sendo que duas ou três estão presentes em maior quantidade e, geralmente, determinam as propriedades bioativas do óleo (BAKKALI *et al.*, 2008). Enquanto o extrato obtido das folhas *A. humile* é rico em flavonóides e taninos (NERY *et al.*, 2010), o OE de LCC é composto, principalmente, por ácidos fenólicos, como o cardanol, o cardol e o ácido anacárdico (TREVISAN *et al.*, 2006; TYMAN; WILCZYNSKI; KASHANI, 1978; VOIRIN *et al.*, 2014).

O OE de mamona também mostrou atividade anti-helmíntica *in vitro* sobre a eclodibilidade de ovos de *H. contortus* (aproximadamente 75% de inibição) bem como atividade larvicida (SALLES *et al.*, 2014). O extrato de *Ricinus communis* é constituído por moléculas bioativas de baixo peso molecular, como fenóis (61%), terpenos (5%), alcaloides (0,2%) e um coquetel de substâncias tóxicas que podem estar relacionadas ao seu efeito contra NGI (AMEERA *et al.*, 2015; SALLES *et al.*, 2014).

Já o OE de copaíba é constituído por uma diversidade de sesquiterpenos e diterpenos cujas concentrações variam de 50 a 97% e de 3 a 50%, respectivamente (SOUSA *et al.*, 2011; XAVIER-JUNIOR *et al.*, 2017), mas sua eficácia contra *H. contortus* não foi comprovada *in vitro*, sendo que 20 mg/mL induziram apenas 6,7% de inibição da eclosão de ovos e somente 5% das larvas tiveram seu desenvolvimento inibido após uma hora de exposição a 1,2 mg/mL do óleo (ALVES DE AZEVEDO *et al.*, 2017).

Mesmo quando é observado efeito anti-helmíntico *in vitro*, alguns OE podem não apresentar atividade *in vivo*, pois ele depende da capacidade de seus compostos permanecerem ativos após a passagem pelo rúmen (BENCHAAR *et al.*, 2008). Os terpenos, por exemplo, são extensamente degradados e apenas uma fração pequena escapa da fermentação ruminal (MALECKY; BROUDISCOU; SCHMIDELY, 2009). Além disso, a mistura de diferentes componentes bioativos pode ter efeito tanto sinérgico quanto antagônico contra os NGI (KATIKI *et al.*, 2017). Assim, esses fatores também poderiam estar relacionados à ausência de efeitos observada nesse estudo.

A dose administrada é outro fator que pode influenciar no efeito obtido. Alguns OE (ou componentes bioativos purificados deles), mostraram efeito anti-

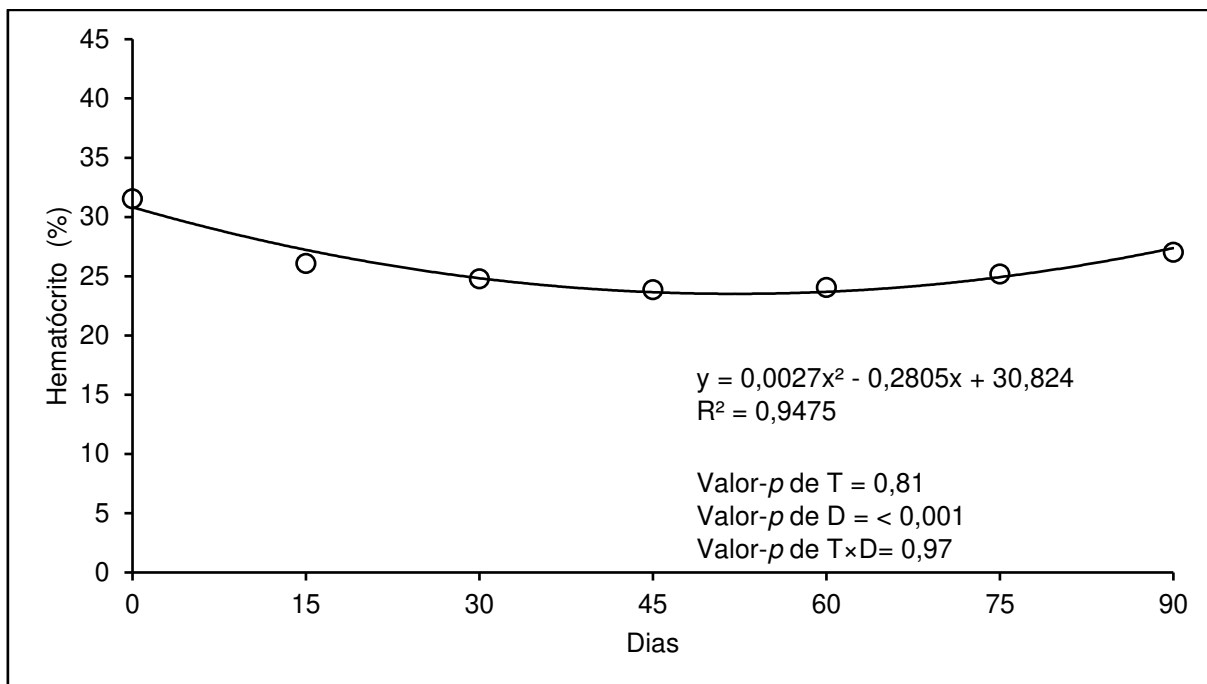
helmíntico quando ministrados em dosagens únicas elevadas. Squires *et al.* (2010), utilizando uma emulsão de óleo de laranja em cordeiros (1200 mg/kg PV), obtiveram 97,4% de redução na contagem de ovos de *H. contortus* nas fezes. Já Macedo *et al.* (2010) forneceram o OE de *Eucalyptus staigeriana* a caprinos (500 mg/kg PV) e observaram uma redução de 76% na contagem de ovos de *Trychostrongylus spp.*, enquanto André *et al.* (2017) testaram o efeito do timol e do acetato de timolila (250 mg/kg PV) na contagem de OPG de ovinos, e conseguiram reduções de 59,8% e 76,2%, respectivamente.

Por outro lado, estudos avaliando efeito anti-helmíntico de OE fornecidos em dosagens baixas e de forma contínua são escassos. Katiki *et al.* (2019) trataram cordeiros com 50 mg/kg PC de uma mistura de anetol e carvona por 45 dias e observaram redução da contagem de OPG ( $p < 0,05$ ). Mas quando utilizaram 20 mg/kg PC da mesma mistura por cinco meses, ela não foi eficiente em prevenir ou tratar a infestação por NGI em cordeiros.

As doses utilizadas neste experimento foram baseadas na indicação preconizada pelo fabricante, de 200 mg/kg MS por dia. Considerando-se um CMS de 4% do PC e o PCi das ovelhas, as doses experimentais de 0, 4, 8 e 16 mg/kg PC por dia foram estabelecidas, sendo, comparativamente, inferiores às utilizadas por Katiki *et al.* (2019), e assim, também poderiam justificar a ausência de efeito anti-helmíntico do blend de OE.

A inclusão dos OE também não afetou o hematócrito nem o grau FAMACHA® nos diferentes tratamentos. O volume globular teve efeito quadrático ( $p < 0,05$ ) decrescente, atingindo valor mínimo estimado de 23,5% aos 52 dias com posterior aumento (FIGURA 3), enquanto o grau de anemia estimado pelo sistema FAMACHA® também apresentou comportamento quadrático crescente ( $p < 0,05$ ), atingindo valor máximo de 3,3 aos 46 dias, com posterior redução (FIGURA 4).

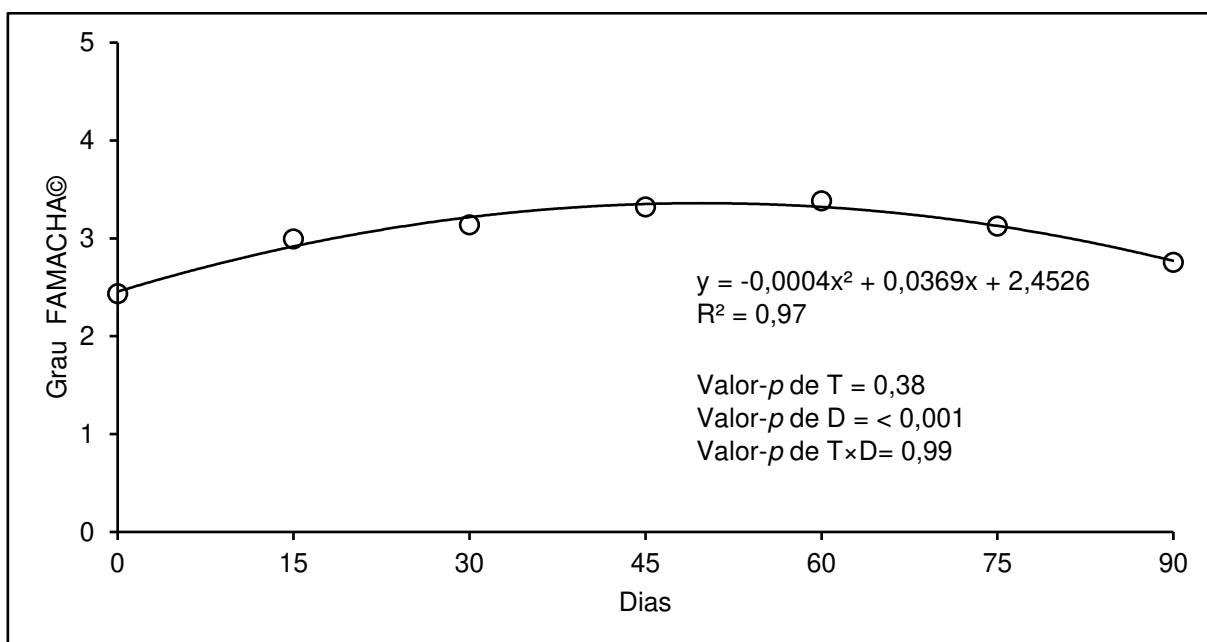
Figura 3 – Efeito da inclusão de um *blend* de óleos essenciais sobre o hematócrito (%) aos 0, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias de ovelhas naturalmente infectadas por larvas de *Haemonchus contortus*.



T, efeito fixo de tratamento; D, efeito fixo de dia; T×D, efeito fixo da interação entre tratamento e dia. Nível de significância valor- $p < 0,05$ . Valor referência: 24-44% (Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da UFV).

Fonte: Cardoso (2022).

Figura 4 – Efeito da inclusão de um *blend* de óleos essenciais sobre o grau de anemia utilizando o método FAMACHA® aos 0, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias de ovelhas naturalmente infectadas por larvas de *Haemonchus contortus*.



T, efeito fixo de tratamento; D, efeito fixo de dia; T×D, efeito fixo de interação entre tratamento e dia. Nível de significância valor- $p < 0,05$ .

Fonte: Cardoso (2022).

Segundo Dargie e Allonby (1975), a hemoncose é caracterizada pela redução do volume globular, devido à hematofagia do *H. contortus* e à latência do sistema eritropoiético, seguida de um aumento provocado pela síntese de eritrócitos, podendo atingir níveis fatais, com a redução das concentrações séricas de ferro, de seis a oito semanas após a infecção. Entretanto, observou-se que, a partir da sexta e sétima semanas, o grau de anemia melhorou, provavelmente, à medida que a imunidade das ovelhas se restabeleceu, de forma que o hematócrito e o FAMACHA® apresentaram valores de 27,45 % e 2,53, respectivamente, aos 90 dias.

Não houve efeito dos tratamentos sobre o CMS e consumo de nutrientes (TABELA 3).

Tabela 3 – Efeito da inclusão de um *blend* de óleos essenciais sobre o consumo de matéria seca, de nutrientes e de nutrientes digestíveis totais em ovelhas naturalmente infectadas por larvas de *Haemonchus contortus*.

Consumo <sup>1</sup>	Níveis de inclusão de OE				EPM <sup>2</sup>	Valor- <i>p</i> <sup>3</sup>	
	(mg/kg PC)					L	Q
	0	4	8	16			
MS (g/dia)	722	717	734	783	0,03	0,89	0,56
MO (g/kg MS)	666	662	677	723	0,03	0,35	0,72
MM (g/kg MS)	56	55	56	60	< 0,01	0,36	0,68
PB (g/kg MS)	90	85	85	92	< 0,01	0,58	0,23
EE (g/kg MS)	14	14	14	15	< 0,01	0,38	0,61
FDNcp (g/kg MS)	316	333	347	366	0,02	0,25	0,87
CNF (g/kg MS)	246	231	231	250	0,01	0,62	0,17
NDT (g/dia)	383	394	362	394	13,17	0,91	0,59

<sup>1</sup>MS, matéria seca; MO, matéria orgânica; MM, matéria mineral; PB, proteína bruta; EE, extrato etéreo; FDNcp, fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteínas; CNF, carboidratos não-fibrosos e NDT, nutrientes digestíveis totais.

<sup>2</sup>EPM, erro padrão da média.

<sup>3</sup>Nível de significância valor-*p* <0,05. L, efeito linear e Q, efeito quadrático.

Fonte: Cardoso (2022).

Recentemente, a partir de uma meta-análise, Torres *et al.* (2020) não encontraram efeito significativo da inclusão de OE sobre o consumo de MS e

nutrientes em ovinos. Da mesma forma, bovinos recebendo 3 g de um blend de OE de LCC com OE de mamona (CRUZ *et al.*, 2014) não apresentaram alteração do CMS ( $p = 0,84$ ). Semelhantemente, Moura *et al.* (2017) e Oliveira *et al.* (2020) também não observaram diferença no CMS, quando ambos forneceram 1,5 g/kg MS de OE de copaíba para cordeiros.

Paralelamente, o CMS médio das ovelhas foi considerado baixo, 38,43% menor do que o preconizado pelo National Research Council (NRC, 2007) de 1.200 g MS/dia (TABELA 3), o que pode ter sido ocasionado pela própria infecção por NGI, que chega a causar reduções de 10 a 30% no CMS (VAN HOUTERT; SYKES, 1996). Essa redução do consumo pode ser decorrente de alterações na função gástrica, provocadas pelos próprios nematoides, como hipergastrinemia e hiperpepsinogenemia (LAWTON *et al.*, 1996; SIMPSON *et al.*, 1997) ou pela redução da motilidade do abomaso devido às ulcerações causadas pelos *H. contortus* adultos ao se fixarem à mucosa abomasal (LEEK, 2014; SIMPSON *et al.*, 1997).

Outro fator que pode afetar o CMS é o teor de proteína dietética. Quando ovelhas em lactação, infectadas por *Trichostrongylus colubriformis*, foram alimentadas com dois níveis de proteína metabolizável (47,1 vs 79,5 g PM/kg MS), a dieta de baixa qualidade deprimiu o CMS dos animais em relação à dieta de alta qualidade ( $p < 0,001$ , 946 vs 1.577 g MS/dia, respectivamente, BEASLEY; KAHN; WINDON, 2012). Durante o estudo, o consumo médio de PB foi de 88 g/dia (TABELA 4), 31,25% menor do que o valor recomendado pelo NRC (2007, 128 g/dia). Segundo Coop e Kyriazakis (2001), se a proteína for escassa, um incremento de proteína metabolizável melhora a resiliência dos animais infectados. Dessa forma, a baixa ingestão de proteína, associada à quebra periparturiente da imunidade podem ter inibido a resiliência das ovelhas (COOP e KYRIAZAKIS, 2001), agravando o quadro da infecção provocada pelos NGI, deprimindo, assim, o CMS.

Não houve efeito dos tratamentos sobre a digestibilidade aparente dos nutrientes (TABELA 4).

Tabela 4 – Efeito da inclusão de um *blend* de óleos essenciais sobre a digestibilidade aparente da matéria seca e dos nutrientes em ovelhas naturalmente infectadas por larvas de *Haemonchus contortus*.

Coeficiente de	Níveis de inclusão de OE	EPM <sup>2</sup>	Valor- <i>p</i> <sup>3</sup>
----------------	--------------------------	------------------	------------------------------

digestibilidade aparente (%) <sup>1</sup>	(mg/Kg PC)				L	Q	
	0	4	8	16			
MS	52,9	55,8	49,5	50,1	0,90	0,08	0,92
MO	57,2	60,0	53,6	54,6	0,88	0,08	0,81
PB	53,5	55,8	49,7	50,2	1,17	0,15	0,83
EE	4,5	6,8	1,4	2,9	1,03	0,25	0,78
FDN <sub>cp</sub>	44,3	50,3	41,4	44,2	1,16	0,06	0,96
CNF	78,3	78,7	76,0	75,6	0,64	0,62	0,85

<sup>1</sup>MS, matéria seca; MO, matéria orgânica; PB, proteína bruta; EE, extrato etéreo; FDN<sub>cp</sub>, fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteínas e CNF, carboidratos não-fibrosos.

<sup>2</sup>EPM, erro padrão da média.

<sup>3</sup>Nível de significância valor-*p* <0,05. L, efeito linear e Q, efeito quadrático.

Fonte: Cardoso (2022).

Com relação à digestibilidade aparente dos nutrientes, ovinos (DAMO, 2015; MICHAÏLOFF, 2017) e bovinos (CONEGLIAN *et al.* 2019) recebendo 6 e 8 g/dia, respectivamente, de um blend de OE de LCC com OE de mamona também não apresentaram alterações significativas. Paralelamente, o coeficiente de digestibilidade da MS também não foi afetado quando cordeiros criados em confinamento (OLIVEIRA *et al.*, 2020) e bovinos em pasto (LIMA *et al.*, 2018) foram suplementados, ambos, com 1,5 g/kg MS de OE de copaíba. Recentemente, a partir de uma meta-análise, observou-se que a adição de OE à dieta de ovinos não afetou (*p* >0,05) a digestão da MS, MO e FDN e diminuiu a digestibilidade da PB (*p* =0,05, TORRES *et al.*, 2020).

A ausência de influência do blend de OE utilizado sobre a digestibilidade pode estar relacionada à habilidade que a microbiota ruminal tem de se adaptar ou degradar metabólitos secundários quando exposta a estes durante longos períodos (BENCHAAAR; GREATHEAD, 2011; BENCHAAAR *et al.*, 2008). Ensaios *in vitro*, com sistemas de cultura contínua de fluxo duplo (BUSQUET *et al.*, 2005; CASTILLEJOS *et al.*, 2007; CARDOZO *et al.*, 2004), e *in vivo*, com ovinos canulados no rúmen (SOLTAN *et al.* 2018), indicaram que essa adaptação ocorre de uma a três semanas após a incubação, respectivamente. De fato, durante a condução do ensaio de digestibilidade, realizado neste estudo, foram utilizadas ovelhas com aproximadamente 45 dias pós-parto e, possivelmente, neste período, os microrganismos ruminais já se encontravam adaptados.



Ainda, a falta de efeito sobre a digestibilidade da MO e do FDN pode indicar que a inclusão do *blend* de OE não melhorou a fermentação ruminal (não avaliada neste estudo) e, conseqüentemente, a produção de ácidos graxos voláteis (AGV, BENCHAAAR *et al.*, 2008; KLEVENHUSEN *et al.*, 2011). Um incremento de AGV é fundamental para promover um melhor desempenho, uma vez que suprem de 60 a 80% da energia dietética dos ruminantes (FURLAN; MACARI; FARIA FILHO, 2011).

Em consonância com a ausência de efeitos observados sobre o CMS e a digestibilidade, o desempenho das ovelhas não foi afetado em nenhum dos níveis de inclusão de OE testados (TABELA 5). Da mesma forma, 3 g/animal de OE à base de LCC e mamona (CRUZ *et al.*, 2014) e 1,5 g/kg MS de OE de copaíba (MOURA *et al.*, 2017) não melhoraram a produtividade de bovinos e cordeiros, respectivamente. Segundo Torres *et al.* (2020), doses superiores a 100 mg/kg de MS de OE podem afetar negativamente o GMD ( $p < .0001$ ) e o peso ao abate de ovinos ( $p = 0,02$ ).

Tabela 5 – Efeito da inclusão de um *blend* de óleos essenciais sobre o desempenho de ovelhas naturalmente infectadas por larvas de *Haemonchus contortus*.

Variáveis <sup>1</sup>	Nível de inclusão de OE				EPM <sup>2</sup>	Valor- <i>p</i>	
	(mg/kg MS)					L	Q
	0	4	8	16			
PCi	58,8	57,1	56,2	59,0	2,88	0,44	0,44
PCf	45,5	44,7	43,3	41,4	1,10	0,98	0,64
GMD	-142	-142	-153	-188	0,01	0,98	0,64
PN	3,77	4,00	4,27	4,13	0,28	0,42	0,52
PD	16,7	16,9	16,5	16,7	1,60	0,98	0,99
GMDc	137	141	140	134	0,01	0,98	0,99
EA	19,37	24,04	19,83	17,63	3,02	0,35	0,29
CA	5,89	5,53	5,26	6,60	0,84	0,36	0,30

<sup>1</sup>PCi, peso corporal inicial (kg); PCf, peso corporal final (kg); GMD, ganho médio diário (g/dia); PN, peso ao nascimento (kg); PD, peso ao desmame (kg); GMDc, ganho médio diário dos cordeiros (g/dia), eficiência alimentar e CA, conversão alimentar.

<sup>2</sup>EPM, erro padrão da média.

<sup>3</sup>Nível de significância valor-*p* <0,05. L, efeito linear e Q, efeito quadrático.

Fonte: Cardoso (2022).

O PD e o GMDc (TABELA 5) foram consideravelmente menores do que aqueles reportados na literatura (16,7 vs 28 kg, FRESCURA *et al.*, 2005; e 138 vs 300 g/dia, CARVALHO, 2004), o que também pode ter sido decorrente da infecção por NGI, já que estas chegam a reduzir o volume de leite produzido pelas ovelhas em até 22% (MAVROT; HERTZBERG; TORGERSON, 2015). Beasley; Kahn; Windon (2012) observaram que ovelhas infectadas por *T. colubriformis* produziram 54,55% a menos de litros de leite. Possivelmente, o déficit nutricional provocado pela menor ingestão de leite associado ao sistema imune imaturo (COOP; KYRIAZAKIS, 2001) afetaram negativamente o desempenho dos cordeiros neste estudo.

## 9 CONCLUSÃO

Até a dosagem de 16 mg/kg MS, a inclusão do blend de óleo essencial à base de óleo de líquido da casca da castanha de caju, óleo de mamona e óleo de copaíba à dieta de ovelhas em lactação naturalmente infectadas por nematoides gastrintestinais não melhora o desempenho dos animais e nem é eficiente para tratar e prevenir verminoses.

## REFERÊNCIAS

- ADEMOLA, I. O.; ELOFF, J. N. Anthelmintic efficacy of cashew (*Anarcadium occidentale* L.) on *in vitro* susceptibility of the ova and larvae of *Haemonchus contortus*. **African Journal Of Biotechnology**, v. 10, n. 47, p. 9700–9705, 2011.
- ALVES DE AZEVEDO, S. *et al.* ATIVIDADE *IN VITRO* DE *Carapa guianensis* Aublet, *Copaifera officinalis* Jacquin Linnaeus e *Psidium guajava* Linnaeus SOBRE *Haemonchus contortus*. **Revista Veterinária Em Foco**, v. 14, n. 2, p. 36–47, 2017.
- AMARANTE, A. F. T. *et al.* Efeito da administração de oxfendazol, ivermectina e levamisol sobre os exames coproparasitológicos de ovinos. **Brazilian Journal of Animal Science**, v. 29, n. 1, p. 31-38, 1992.
- AMEERA, O. H. *et al.* Determination of alkaloid compounds of *Ricinus communis* by using gas chromatography- mass spectroscopy (GC-MS). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 9, n. 10, p. 349–359, 2015.
- ANDRADE JUNIOR, A. L. F. **Parâmetros parasitológicos e desempenho produtivo de ovinos naturalmente infectados com nematoides gastrointestinais mantidos em diferentes pastagens tropicais**. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Macaíba, p. 84, 2013.
- ANDRADE, T. D. J. A. D. S. *et al.* Antioxidant properties and chemical composition of technical Cashew Nut Shell Liquid (tCNSL). **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1044–1048, 2011.
- ANDRÉ, W. P. P. *et al.* Anthelmintic effect of thymol and thymol acetate on sheep gastrointestinal nematodes and their toxicity in mice. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 26, n. 3, p. 323–330, 2017.
- BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BATH, G.F.; VAN WYK, J.A. Using the Famacha system on commercial sheep farms in South Africa. In: INTERNATIONAL SHEEP VETERINARY CONGRESS, 1., 1992, Cidade do Cabo, África do Sul. **Anais...** Cidade do Cabo: University of Pretoria, 2001. p. 3.

BEASLEY, A. M.; KAHN, L. P.; WINDON, R. G. The influence of reproductive physiology and nutrient supply on the periparturient relaxation of immunity to the gastrointestinal nematode *Trichostrongylus columbriformis* in Merino ewes. **Veterinary Parasitology**, v. 188, n. 3-4, p. 306-324, 2012.

BENCHAAR, C. *et al.* A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, n. 1-4, p. 209-228, 2008.

BENCHAARA, C.; GREATHEAD, H. Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 166-167, n. June, p. 338-355, 2011.

BUSQUET, M. *et al.* Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 7, p. 2508-2516, 2005.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F. *et al.* Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. **Veterinary Parasitology**, v. 148, n. 3-4, p. 288-294, 2007.

CARDOZO, P. W. *et al.* Effects of natural plant extracts on ruminal protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 11. p. 3230-3236, 2004.

CARVALHO, C. O. *et al.* The anthelmintic effect of plant extracts on *Haemonchus contortus* and *Strongyloides venezuelensis*. **Veterinary Parasitology**, v. 183, n. 3-4, p. 260-268, 2012.

CASTILLEJO, L. *et al.* Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, v. 132, n. 3, p. 186-201

COOP, R. L.; KYRIAZAKIS, I. Influence os host nutrition on the development and consequences of nematode parasitism in ruminants. **Trends in Parasitology**, v. 17, n. 7, p. 325-330, 2001.

COOP, R. L.; KYRIAZAKIS, I. Nutricion-parasite interaction. **Veterinary Parasitology**, v. 84, n. 3-3, p. 187-204, 1999.

CRUZ, O. T. B. *et al.* Effect of glycerine and essential oils (anacardium occidentale and ricinus communis) on animal performance, feed efficiency and carcass characteristics of crossbred bulls finished in a feedlot system. **Italian Journal of Animal Science**, v. 13, n. 4, p. 790-797, 2014.

DAMO, B. **Inclusão de óleos funcionais da mamona e do caju na dieta de ovinos**. Monografia (Curso de Zootecnia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, p. 25, 2015.

DARGIE, J. D.; ALLONBY, E. W. Pathophysiology of single and challenge infections od *Faemonchus contorturs* in Merino sheep: Studies on red cell kinetics and the “self-cure” phenomenon. **International Journal for Parasitology**, v. 5, n. 2, p. 147-157, 1975.

DAVULURI, T. *et al.* *In Vitro* Anthelmintic Activity of Three Tropical Plant Extracts on *Haemonchus contortus*. **Acta Parasitologica**, v. 65, n. 1, p. 11-18, 2020.

DETMANN, E. *et al.* **Métodos para análise de alimentos - Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal**. 1. ed. Visconde do Rio Branco: Suprema Gráfica, 2012.

DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e**

**Zootecnia**, v. 62, n. 4, p. 980–984, 2010.

DUDKO, P. *et al.* Effect of dietary supplementation with preparation comprising the blend of essential oil from *Origanum vulgare* (lamiaceae) and *Citrus spp.* (citraceae) on coccidia invasion and lamb growth. **Italian Journal of Animal Science**, v. 17, n. 1, p. 57–65, 2018.

EMERY, D. L.; HUNT, P. W.; LE JAMBRE, L. F. *Haemonchus contortus*: the then and now, and where to from here? **International Journal for Parasitology**, v. 46, n. 12, p. 755–769, 2016.

FRESCURA, R. B. M. *et al.* Sistemas de Alimentação na Produção de Cordeiros para Abate aos 28 kg. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 4, p. 1267-1277, 2005.

FURLAN, R.L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D.E. Anatomia e fisiologia do trato gastrintestinal. In: BERCHIELLI, T.T. (Ed.) **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 583.

GASBARRE, L. C.; LEIGHTON, E. A.; SONSTEGARD, T. Role of the bovine immune system na genome in resistance to gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 98, n. 1-3, p. 51-64, 2001.

GITHIGIA, S. M. *et al.* Impacto f gastrointestinal helminths on production in goats in Kenya. **Small Rmuminant Research**, v. 42, n. 1, p. 21-29,2001

GONEGLIAN, S. M. *et al.* Effects of essential oils of Cashew and Castor on intake, digestibility, ruminal fermentation and purine derivatives in beef cattle fed high grain diets. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 5, p. 2057-2070, 2019.

GONZÁLEZ-GARDUÑO, R. *et al.* Influence of the physiological stage of Blackbelly sheep on immunological behaviour against gastrointestinal nematodes. **Experimental Parasitology**, v. 193, p. 20–26, 2018.

GORDON, H. M.; WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**, v. 12, n. 1, p. 50–52, 1939.

GUO, Z. *et al.* Possible mechanisms of host resistance to *Haemonchus contortus* infection in sheep breeds native to the Canary Islands. **Scientific Reports**, v. 6, n. October 2015, p. 1-14, 2016.

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

HANSTEIN, W. G. Uncoupling of oxidative phosphorylation. **BBA Reviews On Bioenergetics**, v. 456, n. 2, p. 129–148, 1976.

HOSTE, H. *et al.* The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. **Trends in Parasitology**, v. 22, n. 6, p. 253–261, 2006.

JOUANY, J. P.; MORGAVI, D. P. Use of “natural” products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. **Animal**, v. 1, n. 10, p. 1443–1466, 2007.

JUNKUSZEW, A. *et al.* Effect of various antiparasitic treatments on lamb growth and mortality. **Small Ruminant Research**, v. 123, n. 2–3, p. 306–313, 2015.

KARÁSKOVÁ, K.; SUCHÝ, P.; STRAKOVÁ, E. Current use of phytogenic feed additives in animal nutrition: A review. **Czech Journal of Animal Science**, v. 60, n. 12, p. 521–530, 2015.

KATIKI, L. M. *et al.* Evaluation of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil in lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v. 186, n. 3–4, p. 312–318, 2012.

KATIKI, L. M. *et al.* Evaluation of encapsulated anethole and carvone in lambs artificially- and naturally-infected with *Haemonchus contortus*. **Experimental**



**Parasitology**, v. 197, p. 36–42, 2019.

KATIKI, L. M. *et al.* Synergistic interaction of ten essential oils against *Haemonchus contortus* *in vitro*. **Veterinary Parasitology**, v. 243, n. June, p. 47–51, 2017.

KESSLER, R. J.; TYSON, C. A.; GREEN, D. E. Mechanism of uncoupling in mitochondria: uncouplers as ionophores for cycling cations and protons.

**Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 73, n. 9, p. 3141–3145, 1976.

KLEVENHUSEN, F. *et al.* Garlic oil and its principal component diallyl disulfide fail to mitigate methane, but improve digestibility in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v.166-167, p. 356-363, 2011.

LAWTON, D. *et al.* Infection of sheep with adult and larval *Ostertagia circumcincta*: Effects on abomasal pH and serum gastrin and pepsinogen. **International Journal for Parasitology**, v. 26, n. 7, p. 825-831, 1997.

LEEK, B. F. Digestão no estômago de ruminates. In: REECE, W. O. (Ed.). **Dukes, fisiologia dos animais domésticos**. – [Reimpr.]. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. p. 404-437.

LIMA, F. E. O. *et al.* Inclusão de óleo de copaíba (“*Copaifera* sp.”) como aditivo em suplementos para bovinos em pastagens. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 19, n. 2, p. 178-192, 2018.

LOPES, L. G. *et al.* The intake of dry cashew apple fiber reduced fecal egg counts in *Haemonchus contortus*-infected sheep. **Experimental Parasitology**, v. 195, n. October, p. 38–43, 2018.

MACEDO, I. T. F. *et al.* Anthelmintic effect of *Eucalyptus staigeriana* essential oil against goat gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 148, n. 3-3, p. 288-294, 2007.

MALAN, F. S.; VAN WYK, J. A.; WESSELS, C. D. Clinical evaluation of anaemia in sheep: Early trials. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 68, n. 3, p. 165–174, 2001.

MALECKY, M.; BROUDISCOU, L. P.; SCHMIDELY, P. Effects of two levels of monoterpene blend on rumen fermentation, terpene and nutrient flows in the duodenum and milk production in dairy goats. **Animal Feed Science and Technology**, v. 154, n. 1-1, p. 24-35, 2009.

MALI, R. G.; MEHTA, A. A. A review on anthelmintic plants. **Indian Journal of Natural Products and Resources**, v. 7, n. 5, p. 466–475, 2008.

MARINOV, V.; VALCHEVA-KUZMANOVA, S. Review on the pharmacological activities of anethole. **Scripta Scientifica Pharmaceutica**, v. 2, n. 2, p. 14–19, 2015.

MARTIN, R. J. Modes of action of anthelmintic drug. **The Veterinary Journal**, v. 154, n. 1, p. 11–34, 1997.

MAVROT, F.; HERTZBERG, H.; TORGERSON P. Effect of gastro-intestinal nematode infection on sheep performance: a systematic review and meta-analysis. **Parasites and Vectors**, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2015.

MELO, A. C. F. L. *et al.* Nematódeos resistentes a anti-helmíntico em rebanhos de ovinos e caprinos do estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, v. 33, n. 2, p. 339–344, 2003.

MICHALOFF, A. A. **Óleos funcionais a base de mamona e de casca de castanha de caju na dieta de ovinos**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, p. 101, 2017.

MOURA, L. V. Feed efficiency and carcass traits of feedlot lambs supplemented either monensin or increasing doses of copaiba (*Copaifera* spp.) essential oil. **Animal Feed Science and Technology**, v. 232, n. August, p. 110-118, 2017.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requeriments of Small Ruminants.**

1.ed. Washington, DC, USA: National Academy Press, 2007. p. 362.

NERY, P. S. *et al.* Effects of Anacardium humile leaf extracts on the development of gastrointestinal nematode larvae of sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 171, n. 3–4, p. 361–364, 2010.

O'SULLIVAN A. D.; DONALD, B. M. Responses To Infection With Contortus and Trichostrong Ylus Colubriformis in Ewes of Different. **International Journal for Parasitology**, v. 3, p. 521–530, 1973.

O'SULLIVAN, B. M.; DONALD, A. D. A field study of nematode parasite populations in the lactating ewe. **Parasitology**, v. 61, n. 2, p. 301–315, 1970.

OLIVEIRA, E. R. *et al.* Degradabilidade e digestibilidade de dietas para cordeiros confinados suplementados com níveis crescentes de óleo de copaíba (Copaiferasp.). **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 3, p. 2152-2164, 2020.

OLIVEIRA, L. *et al.* *In vivo* anthelmintic activity of Solanum lycocarpum leaves against Haemonchus contortus in sheep. **Planta Medica**, v. 78, n. 11, 2012.

ORTU, E. *et al.* *In vitro* anthelmintic activity of active compounds of the fringed rue Ruta chalepensis against dairy ewe gastrointestinal nematodes. **Journal of Helminthology**, v. 91, n. 4, p. 447–453, 2017.

PESSOA, L. M. *et al.* Anthelmintic activity of essential oil of Ocimum gratissimum Linn. and eugenol against Haemonchus contortus. **Veterinary Parasitology**, v. 109, n. 1–2, p. 59–63, 2002.

RAYNAUD, J. P. Etude de l'efficacite d'une technique de coproscopie quantitative pour le diagnostic de routine et le controle des infestations parasitaires des bovins, ovins, equines et porcins. **Annales de Parasitologie**, v. 45, n. 3, p. 321-342, 1970.

- RIBEIRO, W. L. C. *et al.* Activity of chitosan-encapsulated *Eucalyptus staigeriana* essential oil on *Haemonchus contortus*. **Experimental Parasitology**, v. 135, n. 1, p. 24–29, 2013.
- RODRIGUES, A. B. *et al.* Sensibilidade dos nematóides gastrintestinais de caprinos a anti-helmínticos na mesorregião do Sertão Paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n. 4, p. 162–166, 2007.
- ROY, H. *et al.* Preliminary phytochemical investigation and anthelmintic activity of *Acanthospermum hispidum*. **Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v. 2, n. 5, p. 217–221, 2010.
- SALLES, H. O. *et al.* Lectin, hemolysin and protease inhibitors in seed fractions with ovicidal activity against *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 2, p. 136–143, 2014.
- SCALERANDI, E. *et al.* Understanding synergistic toxicity of terpenes as insecticides: Contribution of metabolic detoxification in *Musca domestica*. **Frontiers in Plant Science**, v. 871, n. October, p. 1–9, 2018.
- SIMPSON, H. V. *et al.* Effects of adult and larval *Haemonchus contortus* on abomasal secretion. **International Journal for Parasitology**, v. 27, n. 7, p. 825–831, 1997.
- SOLTAN, Y. A. *et al.* Progressive adaptation of sheep to a microencapsulated blend of essential oils: Ruminal fermentation, methane emission, nutrient digestibility, and microbial protein synthesis. **Animal Feed Science and Technology**, v. 237, n. May 2017, p. 8–18, 2018.
- SOUSA, J. P. B. *et al.* Validation of a gas chromatographic method to quantify sesquiterpenes in copaiba oils. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 54, n. 4, p. 653–659, 2011.
- SQUIRES, J. M. *et al.* Efficacy of an orange oil emulsion as an anthelmintic against

Haemonchus contortus in gerbils (*Meriones unguiculatus*) and in sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 172, n. 1–2, p. 95–99, 2010.

STIRPE, F. Ribosome-inactivating proteins. **Toxicon**, v. 44, n. 4, p. 371–383, 2004.

TAYLOR, E. L. Seasonal fluctuation in the number of eggs of *Trichostrongylid* worms in the faeces of ewes. **The Journal of Parasitology**, v. 21, n. 3, p. 175-179, 1935.

THOMPSON, D. P.; GEARY, T. G. The structure and function of helminth surfaces. In: M., M. (Ed.). . **Biochemistry and Molecular Biology of Parasites**. 1. ed. NewYork: Academic Press, 1995. p. 203–232.

TOKARNIA, C. H. *et al.* **Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção**. 2. ed. Rio de Janeiro: Helianthus, 2012.

TORRES, R. N. S. *et al.* Meta-analysis of the effects of essential oils on ruminal fermentation and performance of sheep. **Small Ruminant Research**, v. 189, n. April, 2020.

TREVISAN, M. T. S. *et al.* Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 2, p. 188–197, 2006.

TYMAN, J. H. P.; WILCZYNSKI, D.; KASHANI, M. A. Compositional Studies on Technical Cashew Nutshell Liquid (CNSL) by Chromatography and Mass Spectroscopy. **JOURNAL OF THE AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY**, v. 55, n. 1, p. 663–668, 1978.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 4. ed. Tokyo: Japan International Cooperation Agency, 1998.

VALENTE, T. N. P. *et al.* Evaluation of ruminal degradation profiles of forages using bags made from different textiles. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 2565–2573, 2011.

VAN HOUTERT, M. F. J.; SYKES, A. R. Implications of nutrition for the ability of ruminants to withstand gastrointestinal nematode infections. **International Journal for Parasitology**, v. 26, n. 11, p. 1151-1167, 1996.

VAN WYK, J.A.; BATH, G.F. The FAMACHA© system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. **Veterinary Research**, v. 33, n. 5, p. 509-529, September/October 2002.

VANIMISETTI, H. B. *et al.* Inheritance of fecal egg count and packed cell volume and their relationship with production traits in sheep infected with *Haemonchus contortus*. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 6, p. 1602–1611, 2004.

VOIRIN, C. *et al.* Functionalization of cardanol: Towards biobased polymers and additives. **Polymer Chemistry**, v. 5, n. 9, p. 3142–3162, 2014.

WALLER P. J. Sustainable nematode parasite control strategies for ruminant livestock by grazing management and biological control. **Animal Feed Science and Technology**, v. 126, n. 3-4, p. 277-289, 2006.

XAVIER-JUNIOR, F. H. *et al.* Development of a Gas Chromatography Method for the Analysis of Copaiba Oil. **Journal of Chromatographic Science**, v. 55, n. 10, p. 969–978, 2017.