

## **AVALIAÇÃO DE MISTURA MICROENCAPSULADA DE ANETOL E CARVONA NO CONTROLE DE PARASITAS DE OVINOS NATURALMENTE INFESTADOS**

Evaluation of microencapsulated mixture of anethole and carvone do control parasites of  
naturally infested lambs

**ZIEGELMEYER, Luiza**

Faculdade Jaguariúna

**TANOBE, Aline Cristina**

Faculdade Jaguariúna

**JESUS, Aline Rodrigues de**

Faculdade Jaguariúna

**BOAS FILHO, David Vilas –**

Orientador

**Resumo:** Os anti-helmínticos têm apresentado eficiência reduzida devido à presença de cepas de helmintos multirresistentes. Óleos essenciais são compostos naturais com potencial anti-helmíntico promissor. Anetol (10%) e carvona (10%) foram microencapsulados em matriz sólida com o objetivo de facilitar a sua administração. Nossa pesquisa foi experimental, caso-controle, longitudinal, com amostra de 34 cordeiros da raça morada nova sem infestação parasitária prévia. A amostra do estudo foi dividida em dois tipos de tratamento: Controle (CTL) = animais receberam ração sem mistura microencapsulada e tratamento com Óleos Essenciais (OE) = OE na dose 100 mg/kg PV/dia misturado à ração durante todo o período experimental (6 meses) e os animais foram mantidos separados por tratamento em baía coletiva. Foram avaliados o peso, infestação parasitária (OPG) e hemograma completo. Nos 3 primeiros meses, os tratamentos CTL e OE mantiveram-se livres de parasitas. Nesse período ambos os tratamentos apresentaram ganho de peso semelhante (ganho aproximado de 1,15 kg a cada 15 dias) e ausência de infestação parasitária. Do 4º ao 6º mês, os animais foram levados ao pasto em dias intercalados para adquirirem infestação natural e, assim, avaliar a possível ação preventiva e curativa do OE. Ambos os tratamentos tiveram decréscimo no ganho de peso (ganho aproximado de 0,5 kg a cada 15 dias) devido à instalação da infestação, que foi similar entre tratamentos: OPG médio final de **CTL= 2859 e OE= 3673** ( $P > 0,05$ ); assim como os parâmetros do hemograma ( $P > 0,05$ ). Coproculturas do CTL e OE apresentaram resultados similares demonstrando infestação por cerca de 90% de *Haemonchus* spp. e cerca de 5% de *Trichostrongylus* spp. Concluímos que a administração de OE microencapsulado não foi eficaz para a prevenção e tratamento de infestação parasitária de ovinos.

**Palavras-chaves:** Anti-helmíntico; Óleo essencial; Ruminante.

**Abstract:** Anti-helminths have shown reduced efficiency due to the presence of multi-resistant helminth strains. Essential oils are natural compounds with promising anthelmintic potential. Anethole (10%) and carvone (10%) were microencapsulated in a solid matrix in order to facilitate its administration. Our research was experimental, case-control, longitudinal, with a sample of 34 lambs of the new breed, without previous parasitic infestation. The study sample was divided into two treatments: Control (CTL) = animals received basal feed and treatment Essential oils (OE) = animals received OE at the dose 100 mg / kg PV / day mixed to the feed throughout the period (6 months) and were kept separated by treatment in a collective per. Weight, parasitic infestation (FEC) and complete hemogram were evaluated. In the first 3 months, CTL and OE treatments remained free of parasites. During this period, both treatments presented similar weight gain (approximate gain of 1.15 kg every 15 days) and absence of parasitic infestation. From the 4th to the 6th month, the animals were taken to the pasture on intercalary days to acquire natural infestation and, thus, to evaluate the possible preventive and curative action of OE. Both treatments had lower weight gain (approximate gain of 0.5 kg every 15 days) due to infestation, which was similar between treatments: mean final FEC of CTL = 2859 and EO = 3673 ( $P > 0.05$ ) ; As well as the parameters of the hemogram ( $P > 0.05$ ). Coprocultures of CTL and OE presented similar results demonstrating infestation by about 90% of *Haemonchus* spp. About 5% *Trichostrongylus* spp. We conclude that the administration of microencapsulated OE was not effective for the prevention and treatment of parasitic infestation of sheep.

**Key-words:** Anthelmintic; Essential oil; Ruminant.

## 1.0 Introdução

A produção de caprinos e ovinos é uma atividade socioeconômica muito explorada no Brasil, principalmente na região Nordeste, representando uma importante fonte de renda monetária para a população, porém os nematóides gastrointestinais têm sido uma preocupação de saúde pública para a cadeia produtiva, causando perda produtiva e econômica (FONSECA et al, 2013). O parasitismo, especialmente por helmintos, prejudica a saúde dos animais, causando falta de apetite, diarreia, anemia e em alguns casos a morte (MACEDO et al., 2010).

O tratamento dos helmintos, em geral, é feito com anti-helmínticos sintéticos. Contudo, os anti-helmínticos fabricados têm desvantagens, tais como custo e risco de uso indevido da resistência aos medicamentos, poluição ambiental e resíduos alimentares. Esses problemas estimularam a pesquisar novas alternativas, tais como plantas medicinais (MAGGIORE et al., 2011).

Óleos essenciais são substâncias encontradas nas flores, frutas, folhas e raízes de certas plantas. A extração destes compostos odoríferos das plantas tem sido uma importante ocupação por mais de dois mil anos. Óleos voláteis (ou óleos essenciais) são destilado de diferentes partes de plantas e muito importante para os processos vitais da planta, não estão envolvidos na germinação de sementes e crescimento precoce, suas moléculas são relativamente pequenas construídas a partir de anéis e cadeias curtas, são voláteis e aromáticos, não apodrece, tem atividade anti-séptico, anti-parasitário, anti-viral, anti-fúngicos e anti-bacterianos. Portanto, diferencia dos óleos fixos (ou ácidos graxos) que são pressionados a partir de sementes, não são tão importantes para os processos de vida da planta, embora seja necessário para as sementes germinarem. Suas moléculas são relativamente grandes com tamanhos construídos de cadeias longas de carboidratos, não são voláteis e aromáticos, não tem atividade anti-séptica, anti-parasitária, anti-viral, antifúngico e funções anti-bacterianas (FOX et al., 2011).

Anetol (1-metoxi-4-benzeno- [1-propenil]) é um fenilpropanóide que é obtido principalmente a partir do óleo essencial Anis estrelado (*Illicium verum*), anis (*Pimpinella anisum*) e de anis doce (*Foeniculum vulgare*) e compreende mais de 90% do óleo essencial destas plantas. O anetol parece ser o responsável pela propriedade antioxidante, anticarcinogênica, anti-inflamatória, anti-parasitária, entre outras (RITTER et al., 2014).

Já o carvona que é composto por cetonas monocíclicas ocorre nas suas formas (+) -, (-) - e ( $\pm$ ), é o principal constituinte dos óleos de alcaravia e de *Mentha arvensis* (FOX et al., 2011 & PANDEY; SINGH; TRIPATHI; 2014).

A microencapsulação permite a imobilização, a proteção, a libertação e a funcionalização de ingredientes. O uso de microcápsulas em alimentos ou pesticidas são geralmente uma das principais aplicações na indústria, uma vez que o objetivo principal da microencapsulação é capturar ingredientes sensíveis, tais como voláteis e sabores em veículos sólidos para aumentar a sua proteção, reduzir a evaporação, promover uma manipulação mais fácil e controlar a sua libertação durante o armazenamento e aplicações (LÓPEZ; PASCUAL-VILLALOBOS, 2010).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade anti-helmíntica dos óleos essenciais Anetol e Carvona em ovinos naturalmente infestados com nematóides gastrointestinais.

## **2.0 Materiais e Métodos**

**2.1 Local:** Instituto de Zootecnia de Nova Odessa - SP, Rua Heitor Penteado, nº56, Centro, no período de maio a novembro de 2015.

**2.2 Óleos essenciais:** Anetol e Carvona fornecido pela empresa GRASP Ind. e Com. Ltda, Curitiba-PR, Brasil.

**2.3 Amostra do estudo:** Trinta e quatro cordeiros com 6 meses de idade, machos, da raça Morada Nova livres de infestação parasitária, foram divididos em dois tratamentos: Óleos essenciais (OE) receberam 100 mg/kg.PV/dia de óleo essencial misturado à ração (arraçoamento coletivo, dosagem do óleo baseado no peso total de animais do tratamento) mais sal mineral e água "*ad libitum*", recebendo o produto durante todo o período experimental (6 meses); Controle (CTL)- receberam ração sem óleo essencial. Durante os 3 primeiros meses, OE e CTL foram mantidos separados por tratamento em baia coletiva. O estudo foi conduzido de acordo com os princípios éticos na experimentação animal, aprovado pela Comissão de Ética (CEUA-IZ), recebendo protocolo número: 2012/153.

**2.4 Infecção:** A partir do 4º mês até o 6º mês, os animais foram levados ao pasto em dias intercalados para adquirirem infestação natural e também avaliar a possível ação preventiva do óleo essencial microencapsulado. Os animais permaneciam no pasto, que continha capim nativo e água "*ad libitum*", durante oito horas. Após esse período retornavam para as suas respectivas baias para receber a dieta pré-estabelecida.

**2.5 Exames realizados:** Durante seis meses os animais dos tratamentos OE e CTL foram acompanhados a cada quinze dias, através de pesagem, e mensalmente pelo exame parasitológico de fezes (OPG) e hemograma completo. No final do experimento foi realizado a coprocultura, para determinar quais nematóides estavam presentes no ambiente.

**2.5.1 Avaliação do Ganho de Peso:** Os animais foram pesados no tronco de contenção para ovinos com balança digital acoplada.

**2.5.2 Exame Parasitológico de Fezes (OPG):** Cerca de 2 g de fezes foram coletadas diretamente do reto e homogeneizadas com 28 ml de solução saturada. Uma alíquota homogeneizada foi retirada com pipeta Pasteur da solução e aplicada com cuidado em cada um dos compartimentos da câmara de McMaster. A câmara permaneceu em descanso por 2 minutos e depois analisada ao microscópio com aumento de 40X. A contagem de ovos foi realizada em ambos os lados da câmara e multiplicado por 50 para obter o resultado final. (UENO; GONÇALVES, 1994)

**2.5.3 Hemograma:** O sangue foi coletado mensalmente em tubos contendo EDTA, e foi analisado por meio do aparelho para exames hematológicos automáticos Pouch - 100iV Diff. Hematócrito (HCT), glóbulos brancos (WBC), glóbulos vermelho (RBC) e hemoglobina (HGB) foram avaliadas individualmente. Para o esfregaço sanguíneo, uma gota de sangue foi espalhada sobre a lâmina, com uma lamina extensora formando um ângulo entre 30 a 45°, e com um movimento rápido, firme e uniforme. As lâminas foram coradas com corante panótico e foi realizado o diferencial dos leucócitos (bastonetes, neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos), ao microscópio ótico com aumento de 100X.

**2.5.4 Coprocultura:** Aproximadamente 25 g de fezes frescas foram coletadas diretamente do reto de cada animal experimental e as fezes foram misturadas homogeneamente formando uma amostra única por tratamento. Em potes de vidro, a vermiculita foi misturada com as fezes, na proporção 2:1 e adicionou-se água, até atingir consistência úmida. Os potes foram cobertos com papéis filme perfurados para entrada de ar e levadas à estufa à temperatura de 27°C durante sete dias. As larvas infectantes foram recuperadas enchendo o frasco do cultivo com água destilada e tampando com uma placa de Petri, invertendo bruscamente sobre a placa. Colocou cerca de 5 a 10 ml na parte externa da placa de Petri; transcorridas de 3 a 4 horas, transferiu com o auxílio de uma pipeta o conteúdo da placa de Petri para um tubo de ensaio. O tubo de ensaio repousou em geladeira por 2 a 3 horas. Logo após, desprezou o sobrenadante e procedeu à identificação/contagem das larvas, examinando-as, entre lâminas/lamínulas com adição de lugol, ao microscópio com aumento de 40X. As larvas foram contadas e identificadas até atingirem cem unidades. (UENO; GONÇALVES, 1994)

### 3.0 Resultados e Discussão

O peso dos animais de CTL e OE, que vinham aumentando progressivamente sem a infestação, apresentou um decréscimo devido à instalação da infestação observada pelo aumento do OPG (Figura 1).

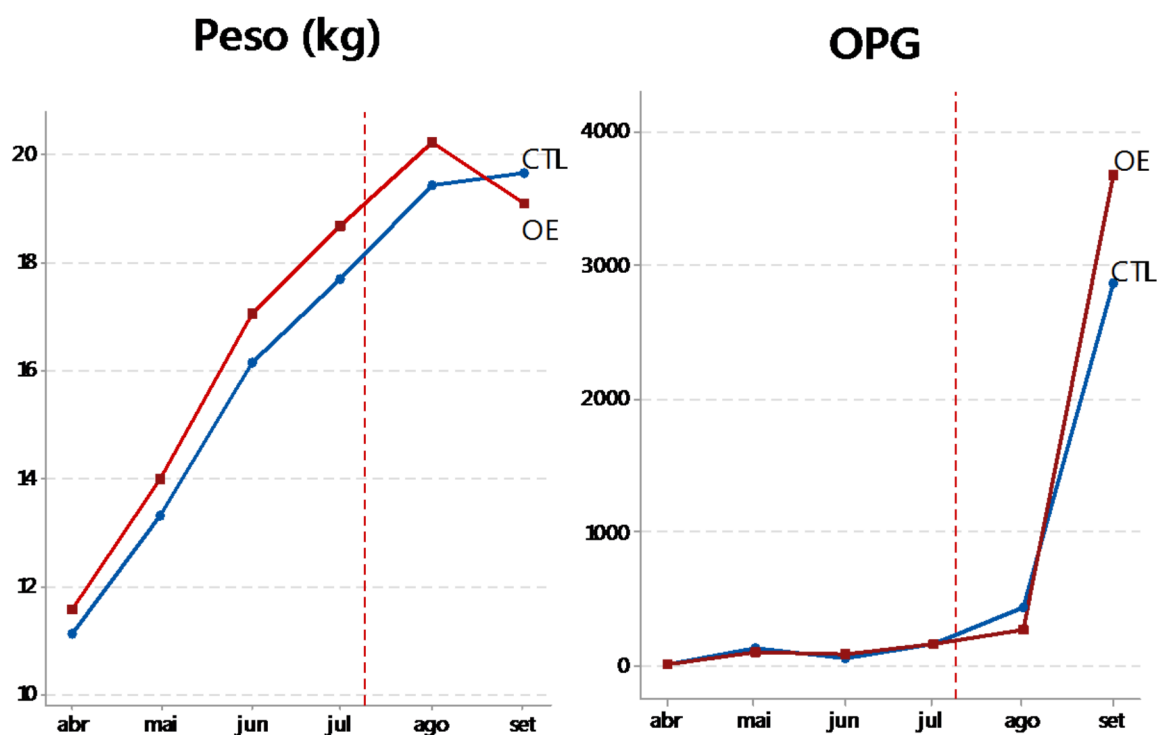


FIGURA 1. Valores médios de peso (Kg) e OPG dos animais de OE e CTL.

Os gráficos do hemograma apresentados na Figura 2 e 3 evidenciam um declínio mais acentuado nos últimos meses, em OE em comparação com CTL, nas variantes hematócrito (HCT), hemácias (RBC) e hemoglobina (HGB). Em contrapartida, os glóbulos brancos (WBC) tiveram um aumento. Neutrófilo, linfócito e basófilos demonstraram o mesmo comportamento em ambos os grupos durante todo o experimento. Monócito e eosinófilo apresentaram uma variável a partir de julho, mês em que os animais foram levados ao pasto para a infestação natural.

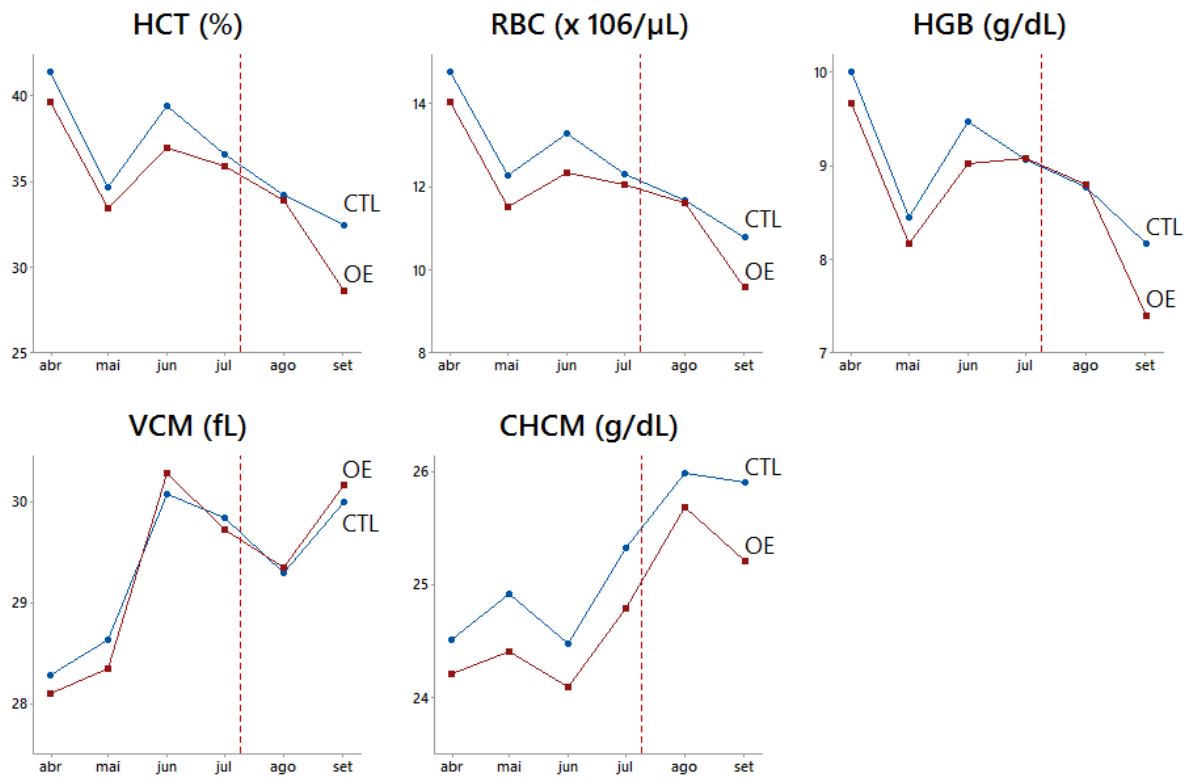


FIGURA 2. Média dos valores de hematócrito (HCT) valor de referência: 24-50%, de hemácias (RBC) valor de referência: 8-16 x 10<sup>6</sup>/ UL, de hemoglobina (HBC) valor de referência: 8-16 g/dL, de volume corpuscular médio (VCM) valor de referência: 23-48 e de concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) valor de referência: 29-45 de OE e CTL durante todo o experimento (MEYER; HARVEY, 2004).

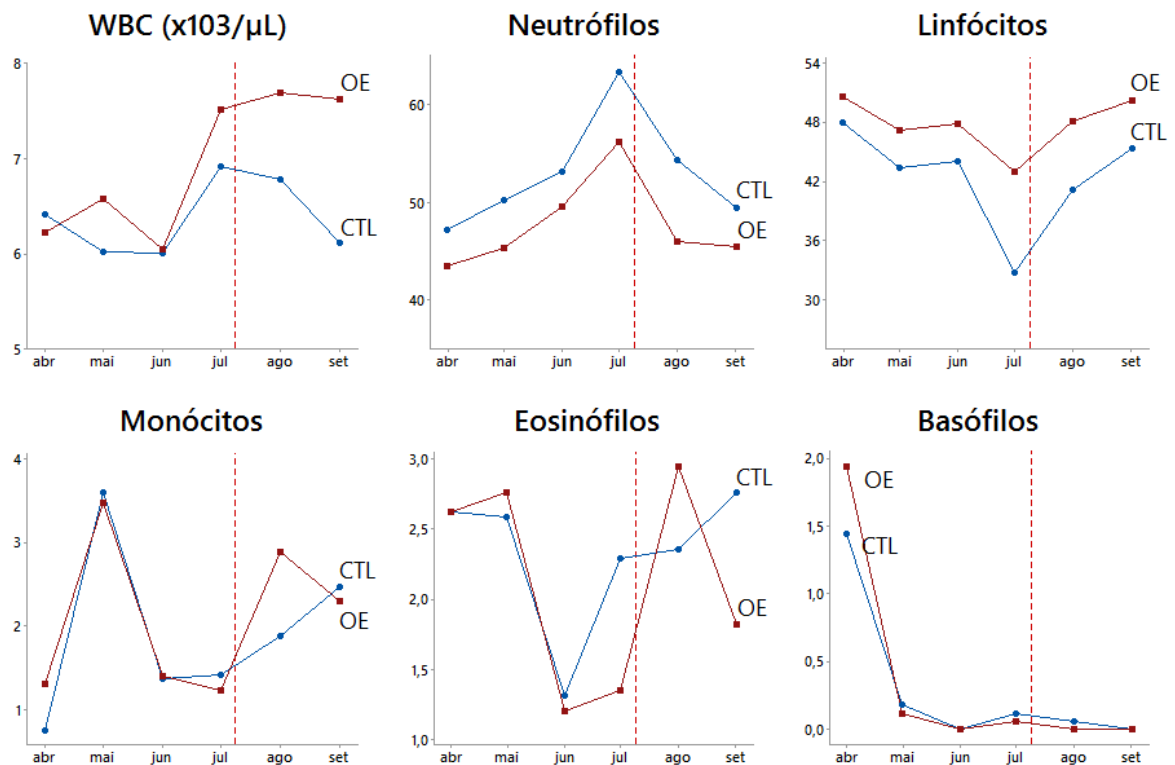


FIGURA 3. Média dos valores de Gl3f3bulos branco (WBC) valor de refer3f3ncia: 4-12%, de neutr3f3filo valor de refer3f3ncia: 10-50%, de linf3f3cito valor de refer3f3ncia: 40-75%, de mon3f3cito valor de refer3f3ncia: 1-6%, de eosin3f3filo valor de refer3f3ncia: 1-10 % e de bas3f3filos valor de refer3f3ncia: 0-3% de OE e CTL durante todo o experimento (MEYER; HARVEY, 2004).

A m3f3dia dos valores do hemat3f3crito (HCT) e das hem3f3cias (RBC) estavam dentro do padr3f3o de refer3f3ncia durante todo o periodo experimental para os dois tratamentos. No entanto, a hemoglobina do grupo OE na ultima avalia3f3o apresento menor teor em rela3f3o aos valores de refer3f3ncia, demonstrando que o tratamento n3f3o foi eficiente para o controle da hemoncose, pois os animais desenvolveram anemia normoc3f3tica hipocr3f3mica, um dos principais sinais cl3f3nicos. CTL apresentou contagem de neutr3f3filos superior aos valores de refer3f3ncia durante todo o tratamento, al3f3m disso, os linf3f3citos sempre apresentaram menores contagens no decorrer do tratamento em compara3f3o ao tratamento OE, sendo inferiores aos valores de refer3f3ncia na quarta observa3f3o. Esse padr3f3o de neutrofilia e linfopenia foi observado por Birgel et al. (2014), em infesta3f3es por *Haemonchus contortus*. Mon3f3cito, eosin3f3filo e bas3f3filos, estavam dentro dos valores de refer3f3ncia.



A coprocultura de CTL e OE apresentaram resultados aproximados, demonstrando que os sinais clínicos observados estavam de acordo com a hemoncose (Tabela 1).

HELMINTOS	CTL (%)	OE (%)
<i>Haemonchus</i> spp	91	90
<i>Trichostrongylus</i> spp	5	6
<i>Cooperia</i> spp	3	3
<i>Oesophagostomum</i> spp	1	1

TABELA 1. Valores da coprocultura realizada no final do experimento dos animais de OE e CTL.

O produto microencapsulado contendo anetol e carvona oferecido aos animais (tratamento OE) deste experimento foi previamente avaliado em testes *in vitro* de eclodibilidade demonstrando elevada eficácia em comparação com outras formulações. Todo produto que teve um efeito anti-helmíntico *in vitro* deve obrigatoriamente ser testado *in vivo* para que a eficácia seja calculada. Nem sempre o resultado obtido *in vitro* se repete em testes *in vivo* (KATIKI et al., 2015). Sendo assim, a mistura microencapsulada avaliada na dosagem de 100 mg/kg não apresentou a ação anti-helmíntica esperada.

De acordo com o MAPA (1997), o anti-helmíntico é classificado como altamente efetivo > 98%, efetivo 90-98%, moderadamente efetivo 80-89%, Insuficientemente ativo < 80% (não registrável), aplicando a seguinte fórmula: % de eficácia = (média OPG controle – média OPG dos animais tratados)/ (média OPG controle) x 100. Na última avaliação da infecção parasitária, o tratamento OE apresentou média de OPG superior ao CTL, demonstrando a sua total ineficácia, inclusive com maior perda produtiva (menor peso) quando comparado aos animais não tratados. Buzzulini (2010), afirma que o parasitismo por *H. contortus* leva a variações no pH, pois estes lesionam as células parietais, produzindo aumento no pH do abomaso (2-3 para 6-7), alterando a digestão de proteína, a disponibilidade de aminoácidos para absorção e, conseqüentemente, alterando a ingestão de alimentos e perda de peso.

A ocorrência de anemia macrocítica ou de anemia normocítica e normocrômica foi relatada em associação com a infestação de ovinos por

*Haemonchus contortus* (FARIA JUNIOR et al., 2002). Em um estudo realizado em caprinos, observaram as seguintes características morfológicas das anemias decorrentes da verminose gastrointestinal: 72% dos casos do tipo macrocítico, 23% dos casos do tipo normocítico e 78% casos normocrômicas e 18% dos casos hipocrômicas (GARCIA, 1983 *apud* BIRGEL, 2014).

Apesar dos mecanismos de imunidade do hospedeiro frente ao parasitismo por *H. contortus* ainda não estarem completamente elucidados, pesquisas tem demonstrado o envolvimento dos linfócitos Th2 CD4+ na resposta imune a infestações parasitárias por nematoides (AMARANTE; AMARANTE, 2003). Estudos realizados com a sondagem do abomaso demonstraram a participação de linfócitos agindo diretamente na mucosa afetada. Há significativa correlação inversa entre a contagem de linfócitos T na mucosa abomasal e a fecundidade, tamanho e a sobrevivência da fêmea adulta de *H. contortus* (ROWE et al., 2008). Esses fatos permitem supor que a diminuição do número de linfócitos circulantes seria consequência da sua provável migração para a mucosa abomasal. Desta forma explica-se a leucocitemia acompanhada de neutrofilia e linfopenia observada nas anemias verminóticas. Acredita-se que a neutrofilia seja decorrente do processo inflamatório na mucosa do abomaso determinado pelos parasitas gastrintestinais (BIRGEL et al., 2014). Os valores de neutrófilos e linfócitos de OE e CTL apresentaram-se dentro dos valores de referência, no entanto, observa-se que após a infestação parasitária houve um aumento de neutrófilos e um decréscimo de linfócitos circulantes em ambos os tratamentos, porém com maior ênfase para o tratamento OE, conforme Figura 3. O anetol oferecido na alimentação do tratamento OE pode ter influenciado esse padrão. Segundo Ritter et al. (2014) a administração de anetol via oral em animais experimentais apresentou elevado efeito analgésico e anti-inflamatório. Alguns destes efeitos têm sido relacionados com a inibição do efeito de anetol na produção ou liberação de mediadores, tais como prostaglandinas, óxido nítrico, interleucina-1 (IL-1) e factor de necrose tumoral.

De acordo com Birgel (2013), o parasitismo pode causar uma eosinopenia, que aumenta conforme a intensidade do processo anêmico (parasitário) e que os eosinófilos podem apresentar-se menor nos animais infestados. Em nosso estudo, não foi observado uma eosinopenia, mas sim, uma elevação da contagem de eosinófilos após a exposição aos parasitas, indicando possivelmente uma depleção de eosinófilos circulantes para o tecido infectado, pois a observação dos parâmetros

ocorreu agudamente ao processo de infestação parasitária. Além do fator parasitário, a eosinopenia pode ocorrer por causas clínicas relacionadas à ação dos corticosteroides, estresse, infecção aguda e tratamento com corticóides (KERR, 2003). Em ruminantes hígidos, os basófilos são encontrados normalmente em pequenas quantidades, porém, em situações onde existam processos alérgicos ou inflamatórios a basofilia é comumente detectada (LEPHERD et al., 2009). No início do experimento, ambos os tratamentos apresentaram maiores contagens de basófilos. No decorrer do experimento, essas células foram pouco detectadas.

O fornecimento de plantas ricas em compostos secundários aos animais pode ser difícil sem uma prévia adaptação devido ao sabor e odor específicos desses compostos e que podem inibir a ingestão pelo animal. De fato, os animais são atraídos ou tem repulsa antes mesmo de se aproximarem da alimentação. Os animais são fortemente influenciados pelo aroma que o alimento emana (MANCA, 2013). Os complexos de inclusão de  $\beta$ -ciclodextrina que são compostos muito utilizados para encapsular os óleos essenciais. Óleos essenciais têm sido encapsulados com essa matriz que apresenta característica de prevenção da oxidação e retenção de substâncias voláteis, no mascaramento de sabores e odores indesejados e na solubilização de substâncias insolúveis em água (LÓPEZ; PASCUAL-VILLALOBOS, 2010). Os animais do tratamento OE receberam 100 mg/kg de OE microencapsulado misturado na dieta e todos aceitaram a dieta. A dosagem oferecida não propiciou a prevenção nem a diminuição da infecção parasitária, no entanto, também não apresentou rejeição pelo odor nem toxicidade. Concordando com a toxicidade, Ritter et al. (2014) demonstrou que o anetol não alterou os níveis plasmáticos de transaminases (aspartato transaminase e alanina transaminase, i.e., marcadores de lesões hepáticas) ou perfis morfológicos e histológicos do tecido hepático, quando administrado durante 7 dias.

### **Considerações Finais**

A não existência do efeito significativo para as características avaliadas sugere que o CTL e o OE apresentaram respostas similares, indicando que a administração da mistura dos óleos anetol e carvona microencapsulada não foi eficaz para a prevenção e tratamento de infestação parasitária de ovinos.

#### 4.0 Referências

AMARANTE, A.F.T.; AMARANTE, M.R.V. 2003. Breeding sheep for resistance to nematode infections. **Journal of Animal and Veterinary Advances** 2, v. 3, p. 147-16, 2003. Disponível em: <<http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/javaa/2003/147-161.pdf>>. Acesso em: 08 jun. 2016.

BIRGEL, D. B. **Estudo da anemia em ovinos decorrente à verminose gastrointestinal**. 2013. 118 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013. Disponível em: <[file:///C:/Users/AlineTanobe/Downloads/DANIELA\\_BECKER\\_BIRGEL\\_Original.pdf](file:///C:/Users/AlineTanobe/Downloads/DANIELA_BECKER_BIRGEL_Original.pdf)>. Acesso em: 08 jun. 2016.

BIRGEL, D. B.; MULLER, A. F.; FATINATO-NETO, P.; STORILLO, V. M.; BENESI, F. J.; BIRGEL JUNIOR, E. H. **Avaliação do quadro eritrocitário e da repercussão do estado anêmico no leucograma de caprinos com verminose gastrointestinal**. 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v34n3/01.pdf>>. Acesso em: 08 jun. 2016.

BUZZULINI, C. **Efeito do genótipo e do teor proteico da dieta na resistência de cordeiros à hemoncose experimental**. 2010. 91 f. Tese (Doutorado) - Curso de Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "julio de Mesquita Filho" Faculdade de Ciências e Veterinárias Câmpus de Jaboticabal, Jaboticabal, 2010.

FARIA Jr, S.P.; SILVA M.M.; SCHEIBEL, M.; MARTINS, M.F.; RABELLO, P.; BERTAGNON, H.G.; GARCIA, M. 2002. **Uso da contagem fecal de ovos de nematóides para estimar a condição clínica em caprinos**. Ciênc. Vet. Tróp. 5:86-92.

FONSECA, Z. A. A. de S.; COELHO, W. A. C.; ANDRE, W. P. P.; RIBEIRO, W. L. C.; BESSA, E. N.; GALINDO, V. R.; PEREIRA, J. S.; AHID, S. M. M. Use of herbal medicines in control of gastrointestinal nematodes of small ruminants: efficacies and prospects. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, [s.l.], v. 7, n. 2, p.233-249, 2013. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20130021>.

FOX, L.T; GERBER, M; PLESSIS, J. D; HAMMAN, J. H. **Transdermal Drug Delivery Enhancement by Compounds of Natural Origin**. Molecules. Switzerland, p. 10507-10540. dez. 2011.

KATIKI, L. M; VERÍSSIMO, C. J.; COSTA, R. L. D.; BUENO, M. S.; GOMES, A. C. P.; CANOVA, E. B.; RODRIGUES, L.; GUTMANIS, G.; ARAÚJO, R. C.; LOUVANDINI, H.; AMARANTE, A. F. T. Encapsulated essential oils for the control of sheep gastrointestinal nematodes. In: THE 19TH INTERNATIONAL CONGRESS PHYTOPHARM, 19., 2015, Bonn. **Proceedings....** Bonn: Supplement, 2015. v. 13, p. 40 - 51.

KERR, M.G. **Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2003, p. 61-80.

LEPHERD, M.L.; CANFIELD, P. J.; HUNT, G. B.; BOSWARD K. L. Haematological, biochemical and selected acute phase protein reference intervals for weaned female Merino lambs. **Australian Veterinary Journal**, v. 87, p. 5 – 11, 2009.

LÓPEZ, M.d.; PASCUAL-VILLALOBOS, M.j.. Analysis of monoterpenoids in inclusion complexes with  $\beta$ -cyclodextrin and study on ratio effect in these microcapsules. **International Working Conference On Stored Product Protection**, [s.l.], p.705-709, 2010. Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Quedlinburg. <http://dx.doi.org/10.5073/jka.2010.425.220>.

MACEDO, I. T.F; BEVILAQUA, C. M. L.; OLIVEIRA, L. M. B.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; VIEIRA, L. da S.; OLIVEIRA, F. R.; QUEIROZ-JUNIOR, E. M.; TOMÉ, A. da R.; NASCIMENTO, N. R. F. Anthelmintic effect of Eucalyptus staigeriana essential oil against goat gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, [s.l.], v. 173, n. 1-2, p.93-98, out. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.06.004>.

MAGGIORE, M. A.; ALBANESE, A. A.; GENDE, L. B.; EGUARAS, M. J.; DENEGRÍ, G. M.; ELISSONDO, M. C. Anthelmintic effect of Mentha spp. essential oils on Echinococcus granulosus protoscoleces and metacestodes. **Parasitology Research**, [s.l.], v. 110, n. 3, p.1103-1112, 16 ago. 2011. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-011-2595-x>.

MANCA, R. **Nutritional value and utilization of plants with antimicrobial properties as components of the diet of dairy sheep**. 2013. 171 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências e Biotecnologia Dei Sistemas Agrários e Florestais e Delle Produzioni Alimentari, Indirizzo In Scienze e Tecnologie Zootecniche, Università Degli Studi di Sassari, Sassari, 2013.

MEYER, D. J.; HARVEY, J. W. **Veterinary laboratory medicine**: 3 rd ed. London: WB. Saunders Co; pp 17-24, 63-65, 163. 2004.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **PORTARIA Nº 48**, de 12 de maio de 1997: Regulamento técnico para licenciamento e/ou renovação de licença de produtos antiparasitários de uso veterinário. Brasil: Binagri/sislegis, 1997. 16 p.

PANDEY, A. K; SINGH, P; TRIPATHI, N. N. **Chemistry and bioactivities of essential oils of some Ocimum species: an overview**. Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicine. Asian, p. 682-694. jul. 2014.

RITTER, A. M. V.; AMES, F. Q.; OTANI, F.; OLIVEIRA, R. M. W. de; CUMAN, R. K. N.; BERSANI-AMADO, C. A. Effects of Anethole in Nociception Experimental Models. **Evidence-based Complementary And Alternative Medicine**, [s.l.], v. 2014, p.1-7, 2014. Hindawi Publishing Corporation. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/345829>.

ROWE, A.; GONDRO, C.; EMERY, D.; SANGSTER, N. Genomic analyses of Haemonchus contortus infection in sheep: abomasal fistulation and two Haemonchus

strains do not substantially confound host genes expression in microarrays. **Veterinary Parasitology**, v. 154, p.71-81, 2008.

UENO, H.; GOLÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 3º Edição. Japan international cooperation agency. Tokyo, japan, 1994. p. 1 – 166.