



## Potencial *in vitro* de óleos essenciais de plantas da família Lamiaceae em ovos e larvas de *Toxocara* spp.

[*In vitro* potential of essential oils from plants of the Lamiaceae family in eggs and larvae of *Toxocara* spp.]

### "Artigo Científico/Scientific Article"

Gabriela de Almeida **Capella**<sup>1\*</sup>, Micaele Quintana de **Moura**<sup>1</sup>, Soliane Carra **Perera**<sup>2</sup>, Natalia Berne **Pinheiro**<sup>3</sup>, Rogerio Antonio **Freitag**<sup>4</sup>, Karina Affeldt **Guterres**<sup>2</sup>, Cristine Cioato da **Silva**<sup>2</sup>, Wesley Douglas da Silva **Terto**<sup>1</sup>, Adriane Leites **Strothmann**<sup>5</sup>, Alexsander **Ferraz**<sup>6</sup>, Marlete Brum **Cleff**<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Microbiologia e Parasitologia (PPGMPAR), Universidade Federal de Pelotas (UFPE), Pelotas-RS, Brasil.

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPE), Pelotas-RS, Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Parasitologia, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia-MG, Brasil.

<sup>4</sup>Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), Universidade Federal de Pelotas (UFPE), Pelotas-RS, Brasil.

<sup>5</sup>Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec), Universidade Federal de Pelotas (UFPE), Pelotas-RS, Brasil.

<sup>6</sup>Departamento de Clínicas Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPE), Pelotas-RS, Brasil.

\*Autora para correspondência/Corresponding author: E-mail: [capellavet@gmail.com](mailto:capellavet@gmail.com)

### Resumo

Parasitas do gênero *Toxocara*, em especial *Toxocara canis*, destacam-se pela sua elevada prevalência e potencial zoonótico. Em virtude das altas taxas de parasitismo, associada ao desenvolvimento de resistência aos antihelmínticos pelos parasitos intestinais de cães e gatos, torna-se necessária a descoberta de novas opções. Assim, o objetivo desse estudo foi verificar a composição química e a atividade antihelmíntica *in vitro* de óleo essencial de plantas da família Lamiaceae frente a ovos e larvas de *Toxocara* spp. Para isso, a análise da composição dos óleos foi realizada utilizando a técnica de cromatografia gasosa e para avaliação da atividade antihelmíntica foram realizados testes ovicidas e larvicidas com seis diferentes concentrações dos óleos essenciais. Nos testes ovicidas, o óleo essencial de *Origanum vulgare* apresentou eficácia superior a 98,45%, nas concentrações superiores ou igual a 0,37mg/mL, enquanto *Origanum majorana* nas concentrações de 6 a 0,37mg/mL mostrou eficácia de 100%. *Rosmarinus officinalis* nas concentrações avaliadas (6 a 0,18mg/mL) não apresentou eficácia (inferior a 71,47%). Na atividade larvicida o óleo essencial de *O. vulgare* (6 a 0,37mg/mL) e o de *O. majorana* (6 a 1,5mg/mL) apresentaram eficácia superior a 97,88%, enquanto o de *R. officinalis* apresentou eficácia superior a 95,13% somente nas concentrações de 6 a 3%. Os resultados demonstraram que os óleos essenciais de *O. vulgare*, *O. majorana* e *R. officinalis*, possuem atividade ovicida e larvicida frente a ovos e larvas de *Toxocara* spp., sendo assim uma possível alternativa futura para o controle deste parasito zoonótico, a partir de estudos do mecanismo de ação e de toxicidade desses óleos.

**Palavras-chave:** endoparasitos; toxocaríase; plantas medicinais; fitoterapia.

### Abstract

Parasites of the genus *Toxocara*, especially *Toxocara canis*, stand out for their high prevalence and zoonotic potential. Due to the high rates of parasitism, associated with the development of resistance to anthelmintics by intestinal parasites of dogs and cats, it becomes necessary to discover new options. Thus, the objective of this study was to verify the chemical composition and the *in vitro* anti-hemintic activity of essential oil from plants of the Lamiaceae family against eggs and larvae of *Toxocara* spp. For this, the analysis of the composition of the oils was performed using the gas chromatography technique and to evaluate the

Recebido 15 de setembro de 2022. Aceito 19 de dezembro de 2022.

DOI: <https://doi.org/10.26605/medvet-v16n4-5227>



anthelmintic activity, ovicidal and larvicidal tests were performed with six different concentrations of essential oils. In the ovicidal tests, the essential oil of *Origanum vulgare* was more than 98.45% effective at concentrations greater than or equal to 0.37mg/mL, while *Origanum majorana* at concentrations from 6 to 0.37mg/mL was 100% effective. *Rosmarinus officinalis* concentrations in the evaluations (6 to 0.18mg/mL) did not show efficacy (less than 71.47%). In the larvicidal activity, the essential oil of *O. vulgare* (6 to 0.37mg/mL) and that of *O. majorana* (6 to 1.5mg/mL) showed efficacy greater than 97.88%, while *R. officinalis* showed efficacy greater than 95.13% only in concentrations of 6 to 3%. The results demonstrated that the essential oils of *O. vulgare*, *O. majorana* and *R. officinalis* showed ovicidal and larvicidal activity against eggs and larvae of *Toxocara* spp. Thus, a possible future alternative for the control of this zoonotic parasite, based on studies of the mechanism of action and toxicity of these oils.

**Keywords:** endoparasites; toxocaríasis; medicinal plants; phytotherapy.

## Introdução

Os parasitos são os agentes infecciosos mais frequentes em humanos nos países em desenvolvimento (Hotez et al., 2008), sendo os responsáveis por algumas das doenças mais importantes transmitidas dos animais de companhia aos humanos (Baneth et al., 2016). Dentre os parasitos, destaca-se *Toxocara canis* (*T. canis*) e *Toxocara cati* (*T. cati*), em virtude de serem importantes agentes zoonóticos (Schwartz et al., 2022).

Os parasitos *T. canis* e *T. cati* apresentam distribuição mundial (Fakhri et al., 2018; Rostami et al., 2020). Os cães e gatos são os hospedeiros definitivos, sendo os filhotes os mais susceptíveis e mais importantes na disseminação de ovos do parasito no ambiente (Fan et al., 2013; Rostami et al., 2020). Humanos se infectam de forma acidental, desenvolvendo a enfermidade por meio da ingestão de ovos embrionados do parasito que podem estar presentes em solo ou alimentos contaminados ou através da ingestão de carne crua ou mal cozida de hospedeiros paratênicos, como roedores, aves e bovinos, contendo larva de terceiro estágio (Strube et al., 2013; Fan et al., 2013; Macpherson, 2013).

O controle da toxocaríase em humanos e animais é baseado no uso de antihelmínticos. No entanto, não existe um consenso quanto à eficácia dos fármacos no tratamento desta enfermidade (Wiśniewska-Ligier et al., 2012; Magnaval et al., 2022). Em cães e gatos a utilização indiscriminada pode estar contribuindo para o estabelecimento de resistência dos parasitos aos fármacos disponíveis (Samson-Himmelstjerna et al., 2021), assim como já descrito em parasitos gastrintestinais de animais de produção (Oliveira e Lestingi, 2011). Nesse contexto, estudos vêm sendo desenvolvidos com *T. canis* e *T. cati* objetivando obter novas formas de controle da parasitose em humanos e animais, dentre elas destaca-se a avaliação do efeito plantas

medicinais (Moudgil et al., 2015; Ramos et al., 2015; Ediriweera e Ratnasooriya, 2020; Hussein e Shukur, 2020).

Dentre as plantas da família Lamiaceae, as espécies *Origanum vulgare* (*O. vulgare*), *Origanum majorana* (*O. majorana*) e *Rosmarinus officinalis* (*R. officinalis*) se destacam por apresentarem um amplo espectro de atividades biológicas, seja na forma de óleos essenciais ou extratos (Gayathiri et al., 2016). Estudos com plantas dessa família já foram realizados visando demonstrar o potencial antihelmíntico (Force et al., 2000; Castro et al., 2013; Albani et al., 2014; Pensel et al., 2014; Pinto et al., 2019). Entretanto, não existem trabalhos descrevendo a utilização dessas plantas contra *Toxocara* spp. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi determinar a composição química e avaliar a atividade ovicida e larvicida dos óleos essenciais de *O. vulgare*, *O. majorana* e *R. officinalis* frente ao parasito do gênero *Toxocara*.

## Material e Métodos

### *Produção e avaliação dos óleos essenciais*

As plantas *Origanum vulgare* (orégano), *Origanum majorana* (manjerona) e *Rosmarinus officinalis* (alecrim) utilizadas no estudo foram obtidas de distribuidor comercial (Luar Sul®) com certificação de qualidade e origem. Para a obtenção dos óleos essenciais as plantas foram submetidas à extração com arraste de vapor em aparelho do tipo Clevenger, de acordo com Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 1988). Após a extração, os óleos obtidos foram secos com sulfato de sódio anidro e armazenados em frascos âmbar.

Os óleos essenciais obtidos foram submetidos à análise cromatográfica em um equipamento GC/MF (Schimadzu, QP 2010) contendo uma coluna capilar Rtx-5MS Restek (30 mx 0,25 mm x 0,25 microns) A composição

fitoquímica e os compostos majoritários de *O. vulgare*, *O. majorana* e *R. officinalis* foram identificados através da comparação entre o tempo de retenção dos padrões e das amostras, usando o NIST08 biblioteca de GC / MS.

#### *Obtenção de ovos e larvas de Toxocara spp.*

Fêmeas adultas de *T. canis* foram obtidas após administração de Febantel (0,014g/ml) e Pamoato de Pirantel (0,015mg/ml) na dose de 1ml/Kg a filhotes naturalmente infectados. Nas fêmeas adultas foram realizadas histerectomias para a recuperação dos ovos. Os ovos foram lavados em tampão PBS e incubados em solução de formalina a 2%, com temperatura de 28°C e 80% de umidade, sob aerações diárias, durante 30 dias.

As larvas de terceiro estágio de *T. canis* foram obtidas conforme Savigny (1975) e foram cultivadas em meio RPMI-1640 suplementado com HEPES 25mM, glicose a 1%, penicilina 100 UI/mL, estreptomicina 100 µg/mL e fungizona 50 µg/mL, em estufa a 37 °C com 5% de tensão de CO<sub>2</sub>.

#### *Teste de inibição da eclodibilidade*

Os testes de inibição de eclodibilidade, foram realizados de acordo com a metodologia proposta por Coles et al. (1992), com modificações, utilizando aproximadamente 100 ovos em placas de polietileno de 24 poços. O teste envolveu a formação de quatro grupos: Grupo 1: seis concentrações de *O. vulgare*, *O. majorana* e *R. officinalis* (6mg/mL, 3 mg/mL, 1,5 mg/mL, 0,75mg/mL, 0,37 mg/mL, 0,18 mg/mL); Grupo 2: Controle negativo com água destilada e óleo mineral; Grupo 3: Controle positivo com tiabendazol 0,025 mg/mL e Grupo 5: com Tween 80 a 0,05%. Todos os ensaios, que envolveram incubação por 30 dias a 28 °C e 80% de umidade relativa (UR), foram realizados em quadruplicata. Após esse período, as leituras foram realizadas em microscópio invertido, contando a quantidade de ovos embrionados contidos em cada poço. A inibição média de embrionamento de cada tratamento foi determinada de acordo com a equação: % de inibição do embrionamento =  $n^{\circ}$  de ovos não embrionados x no total de ovos<sup>-1</sup> x 100.

#### *Teste de viabilidade larval*

Os testes de atividade larvicida foram realizados em placas de microcultivo de 96 poços, onde foram distribuídas a suspensão contendo 150 larvas de *Toxocara* spp. juntamente com as

soluções dos óleos essenciais nas diferentes concentrações (6mg/mL, 3 mg/mL, 1,5 mg/mL, 0,75mg/mL, 0,37 mg/mL, 0,18 mg/mL e 0,09mg/mL. Ambas as soluções foram dissolvidas em meio de cultivo RPMI-1640 e emulsificadas em Tween 0.5%. Os testes foram acompanhados de três controles de atividade contendo RPMI, Tween 0,5% e óleo mineral. Além de dois controles positivos com Cloridrato de Tiabendazole (0.025mg/ml) e com larvas congeladas.

Para a realização do controle de larvas congeladas, 100 larvas foram mantidas por 12 horas na temperatura de -4°C e após foram incubadas nas mesmas condições do restante dos tratamentos. Este controle foi realizado para verificar o efeito do indicador de viabilidade larval (Corante Azul de Tripán 0.4%). Os testes foram realizados em triplicatas e as placas incubadas por 48 horas em estufa a 37°C, em tensão de CO<sub>2</sub> de 5%. Após esse período, foi adicionado o indicador de viabilidade larval (Corante Azul de Tripán 0,4%). A avaliação da viabilidade larval foi realizada por observação em microscópio óptico no aumento de 400x. As larvas que foram impregnadas pelo corante foram consideradas não viáveis e as que não foram impregnadas foram consideradas viáveis.

Os testes larvicidas foram expressos pelo percentual de atividade larvicida, sendo a eficácia determinado conforme a equação % de eficácia larvicida =  $n^{\circ}$  de larvas coradas x  $n^{\circ}$  total de larvas<sup>-1</sup> x 100.

#### *Análise de dados*

Para a realização da análise estatística foi utilizado o software Statistix 9.0, ANOVA e comparação de médias entre os tratamentos foi feita pelo teste de Tukey (P≤0,05). A concentração inibitória 50% (CI50) para larvas foi determinada a partir da curva dose-resposta. Com intervalo de confiança de 95%, utilizando o programa *GraphPadPrism* para Windows, versão 7.0.

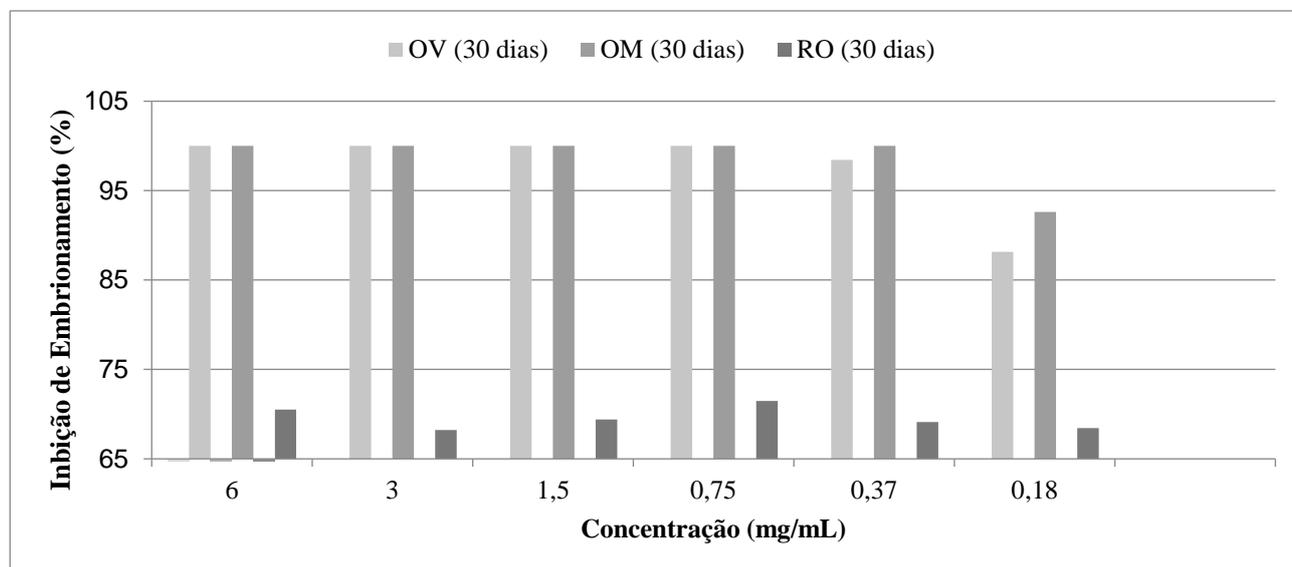
#### **Resultados e discussão**

Na análise cromatográfica do óleo essencial de *O. vulgare* foram identificados 24 compostos, sendo os componentes majoritários o 4-Terpineno (20,9%), gama-Terpinene (14,16%), cis-Sabinenehydrate (10,45%), alpha-terpineno (8,63%) e thymol (8,42%), o que está de acordo com outros estudos (Santin et al., 2014). Assim como também já foram identificados carvacrol (73,9%) γ-terpineno (3,6%) e thymol (3%) como os

compostos majoritários (Waller et al., 2016). No óleo essencial de *O. majorana* foram identificados 23 compostos através da análise cromatográfica, destacando-se 4-Terpineol (34,9%), gama-Terpinene (14,28%), alpha-Terpineno (9,60%), cis-Sabinenehydrate (6,81%) e alpha-Terpineol (5,86%), diferente de estudos anteriores onde foram evidenciados como majoritários o 1,8-cineole (20,9%), seguido por 4-terpineol (20,4%) e  $\gamma$ -terpinene (8,5%) (Waller et al., 2016), assim como cis-sabineno hidratado (22,2%), o 4-terpineol (14,1%) e o gama-terpineno (8,9%) (Silva et al., 2021). No óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* foram identificados 16 compostos, sendo o cineole (47,91),  $\alpha$ -Pinene (11,52%), camfor (17,92%), isoborneol (5,43%) e alpha-Terpineol (4,08%) os majoritários, semelhante aos

compostos identificados por outros autores (Waller et al., 2016).

Nos testes de atividade ovicida (Figura 1) o óleo essencial de *O. vulgare* apresentou eficácia superior a 90% em todas as concentrações testadas. Nas concentrações superiores ou igual a 0,37mg/mL apresentou 100% de inibição de embrionamento e na menor testada (0,18mg/mL) foi observado 92,63%. O óleo essencial de *O. majorana* (Figura 1) nas concentrações de 6 a 0,37mg/mL mostrou inibição de embrionamento superior a 98%, enquanto a menor concentração testada (0,18mg/mL) apresentou 88,15% de inibição de embrionamento. A proporção de inibição de embrionamento dessas plantas acompanhou a diminuição da concentração do óleo essencial.



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

O óleo essencial de *R. officinalis* apresentou menor proporção de inibição de embrionamento (igual ou inferior a 71,47%) nas diferentes concentrações analisadas quando comparado aos óleos de *O. vulgare* e *O. majorana*. Em todos os tratamentos, a porcentagem de embrionamento dos ovos não apresentou muita variação após os 30 dias de incubação. O controle de água destilada apresentou 63,47% de embrionamento e o controle de Tween 0,05% o percentual ficou em 68%, enquanto tiabendazol demonstrou 100% de inibição de embrionamento após 30 dias de incubação.

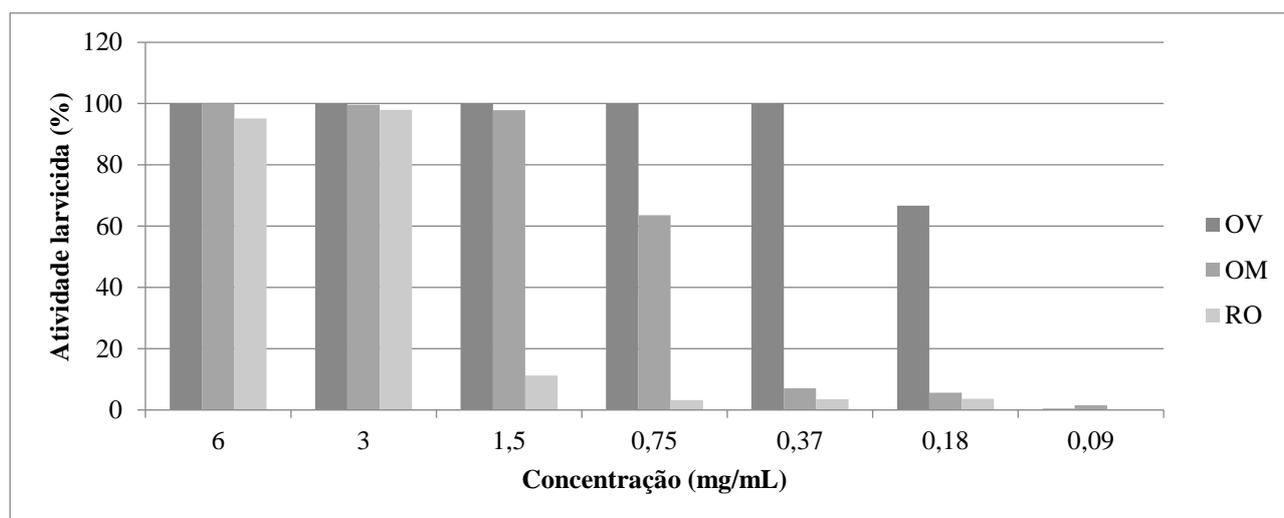
Com relação aos testes de atividade larvicida (Figura 2) o óleo essencial de *O. vulgare* destacou-se com 100% de atividade (6mg/mL a 0,37mg/mL)

seguido de *O. majorana* (6mg/mL a 1,5mg/mL) que apresentou eficácia superior a 97,88% de atividade, não diferindo do controle com larvas congeladas. O óleo essencial de *R. officinalis*, nas concentrações de 6 e 3mg/mL apresentou atividade larvicida entre 95,13 e 97,97%, sendo menor que *O. vulgare* e *O. majorana*, e a partir da concentração de 1,5 mg/mL foi ineficaz. A concentração capaz de inibir 50% das larvas (CI50) foi de 0,1749mg/mL (*O. vulgare*), 1,04mg/mL (*O. Majorana*) e 1,902. (*R. officinalis*).

O controle negativo, contendo larvas em meio RPMI, apresentou 2,66% de atividade larvicida. O teste com óleo mineral não apresentou diferença estatística significativa do tratamento com o meio RPMI. Nos testes com antihelmíntico

somente foi observado atividade larvicida na maior concentração (0,1%), sendo que as concentrações

0,05% e 0,025% não diferiram do controle com RPMI.



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

Outros autores também observaram atividade antiparasitária utilizando óleos essenciais de plantas da família Lamiaceae frente a parasitos. Nesse contexto, foram realizados estudos *in vitro* com *O. vulgare* frente a protozoários como *Leishmania* spp. (Sanchez-Suarez et al., 2013) e *Cryptosporidium parvum* (Gaur et al., 2018), assim como a nematoides gastrintestinais de ovinos (Štrbac et al., 2021) e em protoescólex e cistos de *E. granulosus in vitro* e *in vivo* (Pensel et al., 2014) Assim como, estudos *in vivo* em parasitos entéricos humanos (*Blastocystis hominis*, *Entamoeba hartmanni* e *Endolimax nana*) (Force et al., 2000), foram desenvolvidos.

O óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* demonstrou eficácia *in vitro* frente a células larvais de *E. granulosus* (Albanese et al., 2009; Albani et al., 2014), frente a *Leishmania* spp. (Bouyahya et al., 2017; Shokri et al., 2017) e em nematoides gastrintestinais de ovinos (Pinto et al., 2019). Em relação ao óleo essencial de *Origanum majorana* estudos demonstraram potencial antiparasitário *in vitro* frente a *Toxoplasma gondii* (Elazab et al., 2021), *in vitro* e *in vivo* frente a *Haemonchus contortus* e *in vivo* frente a *Heligmosomoides polygyrus* (Abidi et al., 2020).

Diversos estudos vêm demonstrando que a atividade de uma planta medicinal está diretamente relacionada com a composição química e a interação entre os componentes presentes, sendo que alguns autores têm evidenciado a ação de compostos isolados e os mecanismos de ação destes (Sárközi et al., 2007; Santos et al., 2016).

Sárközi et al. (2007) demonstraram que o thymol, componente presente no óleo de *O. vulgare*, apresenta capacidade de inibir a atividade da acetilcolinesterase, assim como influencia na liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático dos miócitos afetando a excitação e contração muscular. Ainda, segundo Sárközi et al. (2007) a presença do 4-terpineol pode ter importante influencia na atividade observada, pois por ser um álcool terpênico apresenta hidroxilas polares capazes de fazerem ligações de hidrogênio, podendo atuar induzindo a deformações em membranas celulares, alterando consequentemente sua permeabilidade. Essa ação poderia ter ocorrido no caso das larvas, favorecendo a permeabilidade dos óleos essenciais na membrana e consequentemente levando a atividade larvicida dos óleos de *O. vulgare* e *O. majorana*.

O efeito ovicida e larvicida em *Haemonchus contortus* foi relacionado à alta concentração de 1,8-cineol associado a outros componentes presentes no óleo essencial de *Eucalyptus globulus*, justificando a ação devido ao composto ser altamente hidrofóbico, o que causaria danos na membrana celular (Macedo et al., 2009). Além disso, existe a possibilidade de os diferentes componentes do óleo essencial agirem em sinergismo e assim potencializar as suas propriedades terapêuticas (Hajlaoui et al., 2016; Nanni et al., 2020).

Em relação à atividade larvicida, estudos com outras plantas medicinais vêm sendo desenvolvidos, visando obter novas formas de

controle da parasitose em humanos e animais. No entanto, esses estudos não utilizaram óleo essencial, sendo demonstrado potencial antihelmíntico frente a larvas de *Toxocara* spp. os extratos de *Chenopodium ambrosioides*, *Curcuminae Argemone mexicana* e *Caricapapaya* (Reis et al., 2010; Caroccia et al., 2013; Ramos et al., 2015).

A conformação morfológica dos ovos de *Toxocara* spp. confere aos ovos extrema resistência a condições ambientais e aos agentes químicos (Morroondo et al., 2006). Dessa forma, os podem permanecer viáveis no ambiente por um longo período, aumentando as chances de infecção de hospedeiros suscetíveis e dificultando o controle parasitário (Traversa et al., 2014), sendo uma realidade conhecida a contaminação de áreas públicas por ovos de *Toxocara* spp. no Brasil e no mundo (Macpherson, 2013; Ferraz et al., 2022). Esse fato, associado ao potencial zoonótico de *Toxocara* spp., ressalta a importância do estabelecimento de métodos que interrompam o ciclo do parasito e diminuam a contaminação ambiental. Dessa forma, destaca-se a importância da eficácia dos extratos naturais, como os óleos essenciais, na inibição do embrionamento de ovos de *Toxocara* spp.

### Conclusão

Conclui-se que os óleos essenciais de *Origanum vulgare*, *Origanum majorana* e *Rosmarinus officinalis* possuem atividade larvicida frente ao gênero *Toxocara* e, nas concentrações testadas, somente *R. officinalis* não apresentou eficácia na atividade ovicida, sendo assim alternativas futuras para o controle desse agente zoonótico.

### Conflito de Interesse

Os autores declaram não existir conflito de interesse.

### Comitê de Ética

Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), sob número 4390/15, estando de acordo com os princípios éticos na experimentação animal.

### Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior – CAPES e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e

Tecnológico – CNPq (Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, Brasil).

### Referências

- Abidi, A.; Sebai, E.; Dhibi, M.; Darghouth, M.A.; Akkari, H. Chemical analyses and evaluation of the anthelmintic effects of *Origanum majorana* essential oil, *in vitro* and *in vivo* studies. **Veterinari Medicina**, 65 :495-505, 2020.
- Albanese, A.A.; Elissondo, M.C.; Gende, L.; Eguaras, M. *Echinococcus granulosus*: *In vitro* efficacy of *Rosmarinus officinalis* essential oil on protoscoleces. **International Journal of Essential Oil Therapeutics**, 3(2-3): 69-75, 2009.
- Albani, C.M.; Denegri, G.M.; Elissondo, M.C. Effect of different terpene-containing essential oils on the proliferation of *Echinococcus granulosus* larval cells, **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, 2014: 1-7, 2014.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia Brasileira**. 4ª ed. São Paulo: Atheneu, 1988.
- Baneth, G.; Thamsborg, S.M.; Otranto, D.; Guillot, J.; Blaga, R.; Deplazes, P.; Solano-Gallego, L. Parasitic zoonoses associated with dogs and cats in Europe. **Journal of Comparative Pathology**, 155(1): 54-74, 2016.
- Bouyahya, A.; Et-Touys, A.; Bakri, Y.; Ahmed, T.; Fellah, H.; Abrini, J.; Dakka, N. Chemical composition of *Mentha pulegium* and *Rosmarinus officinalis* essential oils and their antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities. **Microbial Pathogenesis**, 111: 41-49, 2017.
- Caroccia, G.H.G.; Rodolpho, J.M.A.; Oliveira, S.R.P.; Camillo, L.; Magalhaes, L. G.; Anibal, F.F. Atividade dos compostos curcumina e albendazol contra o nematódeo *Toxocara canis in vitro*. **Revista Saúde**, 7: 11-16, 2013.
- Castro, L.D.; Madrid, I.M.; Aguiar, C.L.G.; Castro, L.M.; Cleff, M.B.; Berne, M.E. A.; Leite, F.P.L. Potencial ovicida de *Origanum vulgare* (Lamiaceae) em nematódeos gastrintestinais de bovinos. **Ciência Animal Brasileira (Online)**, 14: 508-513, 2013.
- Coles, G.C.; Bauer, C.; Borgsteede, F.H.M.; Geerts, S.; Klei, T.R.; Taylor, M.A.; Waller, P.J. World Association for the advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance.

- Veterinary Parasitology**, 44(1-2): 35-44, 1992.
- Ediriweera, E.R.H.S.S.; Ratnasooriya, W.D. Appraisal and in-vitro study on anthelmintic effect of *Vernonia cinerea* (Monerakudumbiya) against larvae of *Haemonchus contortus* and *Toxocara canis*. **Sri Lanka Journal of Indigenous Medicine**, 5(1): 319-328, 2020.
- Elazab, S.T.; Soliman, A.F.; Nishikawa, Y. Efeito de alguns extratos de plantas de ervas egípcias contra taquizoítas de *Toxoplasma gondii* *in vitro*. **Journal of Veterinary Medical Science**, 83(1): 100-107, 2021.
- Fakhri, Y.; Gasser, R.B.; Rostami, A.; Fan, C.K.; Ghasemi, S.M.; Javanian, M.; Bayani, M.; Armoon, B.; Moradi, B. *Toxocara* eggs in public places worldwide - A systematic review and meta-analysis. **Environmental Pollution**, 242: 1467-1475, 2018.
- Fan, C.K.; Liao, C.W.; Cheng, Y.C. Factors affecting disease manifestation of toxocarosis in humans: genetics and environment. **Veterinary Parasitology**, 193: 342-52, 2013.
- Ferraz, A.; Barwaldt, E.T.; Capella, G.A.; Castro, T.A.; Bohm, B.C.; Azario, W.J.D.; Bruhn, F.R.P.; Nizoli, L.Q.; Nobre, M.O. Estudo da contaminação ambiental por parasitos zoonóticos no entorno e interior de escolas municipais no extremo sul do Brasil. **Archives of Veterinary Science**, 27(2): 8-24, 2022.
- Force, M.; Sparks, W.S.; Ronzio, R.A. Inhibition of enteric parasites by emulsified oil of oregano *in vivo*. **Phytotherapy Research**, 14(3): 213-214, 2000.
- Gayathiri, K.; Sangeetha, M.; Sharanya, V.K.; Prakash, G.S.; Vimalavathini, R.; Sudheer, J.G.; Kumar, S. A Review: potential pharmacological uses of natural products from Laminaceae. **International Journal of Pharma Research & Review**, 5: 21-34, 2016.
- Gaur, S.; Kuhlenschmidt, T.B.; Kuhlenschmidt, M.S.; Andrade, J.E. Efeito do óleo essencial de orégano e carvacrol na infectividade de *Cryptosporidium parvum* em células HCT-8. **Parasitology International**, 67(2): 170-175, 2018.
- Hajlaoui, H.; Mighri, H.; Aouni, M.; Gharsallah, N.; Kadri, A. Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial, cytotoxicity and anti-acetylcholinesterase properties of Tunisian *Origanum majorana* L. essential oil. **Microbial Pathogenesis**, 95: 86-94, 2016.
- Hotez, P.J.; Brindley, P.J.; Bethony, J.M.; King, C.H.; Pearce, E.J.; Jacobson, J. Helminth infections: the great neglected tropical diseases. **The Journal of Clinical Investigation**, 118(4): 1311-1321, 2008.
- Hussein, S.N.; Shukur, M.S. *In-vitro* anthelmintic efficacy of pumpkin seed oil (*Cucurbita pepo*) on toxocarosis (*Toxocara cati*). **Exploratory Animal and Medical Research**, 10(2): 154-161, 2020.
- Macedo, I.T.F.; Bevilaqua, C.M.L.; Oliveira, L.M.B. et al. Ovicidal and larvicidal activity *in vitro* of *Eucalyptus globulus* essential oils on *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 18(3): 62-66, 2009.
- Macpherson, C.N.L. The epidemiology and public health importance of toxocarosis: A zoonosis of global importance. **International Journal for Parasitology**, 43: 999-1008, 2013.
- Magnaval, J.F.; Bouhsira, E.; Fillaux, J. Therapy and prevention for human toxocarosis. **Microorganisms**, 10(2): 1-22, 2022.
- Morrondo, P.; Díez-Morrondo, C.; Pedreira, J. et al. *Toxocara canis* larva e viability after disinfectant – exposition. **Parasitology Research**, 99(5): 558-561, 2006.
- Moudgil, A.D.; Mitra, S.; Sen, D.; Agnihotri, R.K.; Sharma, D. Biochemical and leucocytic response study of herbal immunomodulators against levamisole in *Toxocara canis* infected mice. **Indian Journal Animal Research**, 49(3): 336-342, 2015.
- Nanni, V.; Di Marco, G.; Sachetti, G.; Canini, A.; Gismondi, A. Oregano phytocomplex induces programmed cell death in melanoma lines via mitochondria and DNA Damage. **Foods**, 9: 1-27, 2020.
- Oliveira, R.O.; Lestingi, V. Resistência parasitária em helmintos intestinais de cães: a importância do tratamento adequado e o papel do clínico na prevenção deste problema. **Atualização em Parasitologia**, 1(5): 1-4, 2011.
- Pensel, P.E.; Maggiore, M.A.; Gende, L.B.; Eguaras, M.J.; Denegri, M.G.; Elissondo, M.C. Efficacy of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* on *Echinococcus granulosus*. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, 2014: 1-12, 2014.
- Pinto, N.B.; Castro, L.M.; Azambuja, R.H.M.; Capella, G.A.; Moura, M.Q.; Terto, W.D.; Freitag, R.A.; Jeske, S.T.; Villela, M.M.; Cleff, M. B.; Leite, F.P.L. Potencial ovicida e larvicida de *Rosmarinus officinalis* para controle de nematódeos gastrintestinais de

- ovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 28(4): 807-811, 2019.
- Ramos, I.S.; Santos, A.P.; Lizama, R.S.; Cuéllar, A.C.; Valdés, A.F.C.; Rivero, L.R. Actividad toxocarica de plantas cubanas. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, 67(3), 2015.
- Reis, M.; Trinca, A.; Ferreira, M.J.U.; Monsalve-Puello, A.R.; Grácio, M.A.A. *Toxocara canis*: potential activity of natural products against second-stage larvae *in vitro* and *in vivo*. **Experimental parasitology**, 126(2): 191-197, 2010.
- Rostami, A.; Riahi, S.M.; Hofmann, A.; Ma, G., Wang, T., Behniafar, H., Taghipour, A.; Fakhri, Y.; Spotin A.; Chang, B.C.H.; Macpherson, C.N.L.; Hotez, Peter J.; Gasser, R. B. Global prevalence of *Toxocara* infection in dogs. **Advances in Parasitology**, 109: 561-583, 2020.
- Sanchez-Suarez, J.F.; Riveros, I.; Delgado, G. Avaliação do potencial leishmanicida e citotóxico de óleos essenciais derivados de dez plantas colombianas. **Iranian Journal of Parasitology**, 8(1): 129-136, 2013.
- Santin, R.; Giordani, C.; Madrid, I.M.; Matos, C.B.; Freitag, R.A.; Meireles, M.C.A.; CLEFF, M.B.; Mello, J.R.B. Antifungal activity of *Origanum vulgare* essential oil against *Malassezia pachydermatis*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 66(2): 367-373, 2014.
- Samson-Himmelstjerna G.V.; Thompson, R.A.; Krücken, J.; Grant, W.; Bowman, D.D.; Schnyder, M.; Deplazes, P. Spread of anthelmintic resistance in intestinal helminths of dogs and cats is currently less pronounced than in ruminants and horses - Yet it is of major concern. **International Journal for Parasitology: Drugs Drug Resistance**. 17: 36-45, 2021.
- Santos, T.M.; D'oca, C.D.R.M.; Mata-Santos, H.A.; Fenalti, J.; Pinto, N., Coelho, T.; Scaini, C.J. *Toxocara canis*: Larvicidal activity of fatty acid amides. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 26(3): 739-741, 2016.
- Sárközi, S.; Almássy, J.; Lukács, B.; Dobrosi, N.; Nagy, G.; Jóna, I. Effect of natural phenol derivatives on skeletal type sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase and ryanodine receptor. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**, 28(2-3): 167-174, 2007.
- Savigny, D.H. *In vitro* maintenance of *Toxocara canis* larvae and a simple method for the production of *Toxocara* ES antigen for use in serodiagnostic tests for visceral larva migrans. **The Journal of Parasitology**, 61(4): 781-782, 1975.
- Schwartz, R.; Bidaisee, S.; Fields, P.J.; Macpherson, M.L.A.; Macpherson, C.N.L. The epidemiology and control of *Toxocara canis* in puppies. **Parasite Epidemiology and Control**, 16: e00232, 2022.
- Shokri, A.; Fakhar, M.; Morteza-Semnani, K.; Keighobadi, M.; Teshnizi, S.H.; Kelidari, H.R.; Sadjadi, S. Atividade antileishmania de óleos essenciais de *Lavandula angustifolia* e *Rosmarinus officinalis* e nanoemulsões em *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER). **Iranian Journal of Parasitology**, 12(4): 622-631, 2017.
- Silva, C.C.; Giordani, C.; Picoli, T.; Guterres, K.A.; Perera, S.C.; Capella, G.A.; Waller, S.B.; Corcini, C.D.; Varela Junior, A.S.; Freitag, R.A.; Fischer, G.; Cleff, M. B. Potencial antiproliferativo do óleo essencial de *Origanum majorana* Linn. em células de melanoma e seus efeitos intracelulares em células neoplásicas e não-neoplásicas. **Research, Society and Development**, 10(9): 1-10, 2021.
- Strube, C.; Heuer, L.; Janecek, E. *Toxocara* spp. infections in paratenic hosts. **Veterinary Parasitology**, 193(4): 375-89, 2013.
- Štrbac, F.; Bosco, A.; Amadesi, A.; Rinaldi, L.; Stojanovic, D.; Simin, N.; Orcic, D.; Pusic, I.; Krnjajic, S.; Ratajac, R. Ovicidal potential of five different essential oils to control gastrointestinal nematodes of sheep. **Pakistan Veterinary Journal**, 41(3): 353-358, 2021.
- Traversa, D.; Regalbono, A. F.; Di Cesare, A.; La Torre, F.; Drake, J.; Pietrobelli, M. Environmental contamination by canine geohelminths. **Parasites & Vectors**, 7(67): 1-9, 2014.
- Waller, S.B.; Madrid, I.M.; Cleff, M.B.; Santin, R.; Freitag, R. A.; Meireles, M.C.A.; Mello, J. R. B. Effects of essential oils of *Rosmarinus officinalis* Linn. and *Origanum vulgare* Linn. from different origins on *Sporothrix brasiliensis* and *Sporothrix schenckii* complex. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 68: 991-999, 2016.
- Wiśniewska-Ligier M.; Woźniakowska-Gęsicka, T.; Sobolewska-Dryjańska, J.; Markiewicz-Józwiak, A.; Wieczorek, M. Analysis of the course and treatment of toxocariasis in children - a long-term observation. **Parasitology Research**, 110(6): 2363-71, 2012.