

Imunologia & Doenças Infecciosas e Parasitárias

EDIÇÃO XII

Capítulo 30

EFICÁCIA *IN VITRO* DE ÓLEOS VEGETAIS E *BEAUVERIA BASSIANA* SOBRE HELMINTOS GASTRINTESTINAIS DE CAPRINOS



LARISSA PPEREIRA SOUSA¹
JULLY JAVARINI KOPKE¹
BEATRIZ DO NASCIMENTO BESERRA²
LUIS OTÁVIO GUIDO DE SOUZA³
JUAN DARIO PUENTES SANTISTEBAN⁴
ANDRÉ DA SILVA DOURADO⁵
INGRID DE OLIVEIRA SANTOS MORAIS⁵
LORENDANE MILLENA DE CARVALHO⁵
VÂNIA RITA ELIAS PINHEIRO BITTENCOURT⁶
PATRÍCIA SILVA GÔLO⁶
ISABELE DA COSTA ÂNGELO⁷
TIAGO MARQUES DOS SANTOS⁷
WENDELL MARCELO DE SOUZA PERINOTTO⁷

1. Discente - Mestrado em Ciências Veterinárias da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
2. Discente - Mestrado em Ciência Animal na Universidade Estadual de Santa Cruz.
3. Discente - Graduação em Medicina Veterinária na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
4. Discente - Doutorado em Ciência Animal nos Trópicos, Universidade Federal da Bahia.
5. Discente - Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.
6. Docente - Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
7. Docente - Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Palavras-chave: Óleos Vegetais; *Beauveria bassiana*; Helmintos Gastrintestinais.

DOI

10.59290/5019010744

P EDITORA
PASTEUR

INTRODUÇÃO

A caprinocultura é uma atividade de grande importância socioeconômica, sobretudo na região Nordeste do Brasil. De acordo com a Pesquisa da Pecuária Municipal de 2023, divulgada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o estado da Bahia manteve a liderança nacional na criação de caprinos, totalizando 4 milhões de animais (30,7% do rebanho brasileiro) e tornando esse sistema fonte de sustento e renda para milhares de famílias. À rusticidade dos caprinos e à sua capacidade de adaptação favorecem o sucesso da atividade nas condições climáticas adversas do semiárido (IBGE, 2024).

A produtividade dos rebanhos caprinos é frequentemente comprometida por infecções parasitárias, destacando-se as helmintoses gastrointestinais que causam perdas econômicas pela morte de animais e a queda na produção (diminuição do ganho de peso e da produção de lã e leite). Dentre os gêneros de nematoides gastrointestinais (NGI) que apresentam maior frequência e gravidade de infecção em ruminantes, estão *Haemonchus* sp., *Cooperia* sp., *Trichostrongylus* sp., e *Oesophagostomum* sp. O NGI mais patogênico para ovinos e caprinos no nordeste brasileiro é *Haemonchus contortus* (COSTA *et al.*, 2011; MOLENTO *et al.*, 2011; TORRES-ACOSTA *et al.*, 2012).

O controle convencional dos NGIs é realizado principalmente com anti-helmínticos químicos. No entanto, o uso frequente e indiscriminado destes fármacos tem acelerado o desenvolvimento de resistência parasitária, reduzindo a eficácia dos tratamentos disponíveis. O aumento das populações de helmintos resistentes representa um dos principais desafios enfrentados atualmente na sanidade de pequenos ruminantes no Brasil. Além disso, há preocupações

crescentes quanto à presença de resíduos químicos na carne, no leite e no meio ambiente, comprometendo a sustentabilidade da produção. Diante dessa problemática, o desenvolvimento de estratégias sustentáveis para o controle parasitário tem sido uma das prioridades da pesquisa veterinária e o controle biológico surge como uma alternativa promissora. O controle biológico se baseia na utilização de organismos vivos ou seus metabólitos para reduzir populações parasitárias de forma natural e segura (EILLENBERG *et al.*, 2001; COOPER *et al.*, 2012; FORTES; MOLENTO, 2013).

Dentre os fungos predadores utilizados no controle biológico de NGIs em pequenos ruminantes, destacam-se os pertencentes aos gêneros *Arthrobotrys*, *Duddingtonia* e *Monacrosporium*, reconhecidos por sua eficácia na captura e destruição das formas larvais dos parasitos no ambiente (BRAGA; ARAÚJO, 2014).

O uso de fungos entomopatogênicos, como *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, tradicionalmente aplicados no combate a pragas agrícolas, tem sido ampliado para o controle de parasitas de importância veterinária pela sua especificidade, eficiência e menor impacto ambiental em comparação aos pesticidas químicos convencionais. Em condições laboratoriais, esses microrganismos podem atuar eficazmente sobre formas imaturas de helmintos de ruminantes. O fungo *B. bassiana* apresenta diversas vantagens como alternativa de controle biológico: é de fácil cultivo, possui alta virulência contra diversos hospedeiros e pode ser combinada com veículos que aumentem sua eficácia, como os óleos vegetais (LACEY *et al.*, 2015; MOURA *et al.*, 2023; BESERRA *et al.*, 2025; BISPO *et al.*, 2026).

Fatores ambientais como umidade, radiação UV e temperatura afetam diretamente a sobrevivência e ação dos fungos entomopatôgenos. Para contornar essas limitações, pesquisadores

têm investido em formulações mais estáveis e eficazes. As formulações oleosas, por exemplo, podem atuar como adjuvantes em formulações biológicas, promovendo maior adesão dos conídios às cutículas parasitárias e potencializando os efeitos do agente biológico (MOTA *et al.*, 2003). Além disso, alguns óleos são ricos em compostos bioativos como ácidos graxos insaturados (como ácido linoleico e oleico), tocoferóis e fitoesteróis, que atuam na desestabilização das membranas celulares dos patógenos, comprometendo sua integridade e levando à morte celular (MOTA *et al.*, 2003; DESBOIS; SMITH, 2010; LEI *et al.*, 2023).

Estudos com *B. bassiana* demonstraram que formulações à base de óleo de soja, milho e girassol podem aumentar significativamente a eficácia contra larvas de artrópodes parasitos, porém, não têm sido desenvolvidas pesquisas avaliando a efetividade dessas formulações em larvas de NGIs de pequenos ruminantes (CAMARGO, 2011).

Diante deste cenário, este capítulo teve como objetivo discutir sobre a eficácia de diferentes formulações de óleos vegetais associadas ao fungo *B. bassiana* sobre estágios imaturos de nematoides gastrintestinais de caprinos.

MÉTODO

O experimento foi realizado após aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), pelo número de protocolo 23007.00026162-2021-45.

O trabalho foi realizado no Campus da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, localizado no município de Cruz das Almas - BA. Os testes foram realizados no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias do Hospital Universitário de Medicina Veterinária da UFRB.

No experimento, foram avaliados oito formulações: controle água (CTR-H₂O), composto por água e Tween 80 a 3%; controle óleo de soja (CTR-OS), composto por água e Tween 80 a 3% + óleo de soja a 10% (OS); controle óleo de milho (CTR-OM), composto por água e Tween 80 a 3% + óleo de milho a 10% (OM); controle óleo de girassol (CTR-OG), composto por água e Tween 80 a 3% + óleo de girassol a 10% (OG); suspensão aquosa de *B. bassiana* (Bb + $1,0 \times 10^8$), composta por água e Tween 80 a 3% + $1,0 \times 10^8$ conídios de *B. bassiana*; formulação de *B. bassiana* associada ao óleo de soja (Bb+OS), composta por Tween 80 a 3% + OS + $1,0 \times 10^8$ conídios de *B. bassiana*; formulação de *B. bassiana* associada ao óleo de milho (Bb+OM), composta por Tween 80 a 3% + OM + $1,0 \times 10^8$ conídios de *B. bassiana*; e formulação de *B. bassiana* associada ao óleo de girassol (Bb+OG), composta por Tween 80 a 3% + OG + $1,0 \times 10^8$ conídios de *B. bassiana*. Cada tratamento foi aplicado em um grupo de seis unidades experimentais, totalizando 48 unidades.

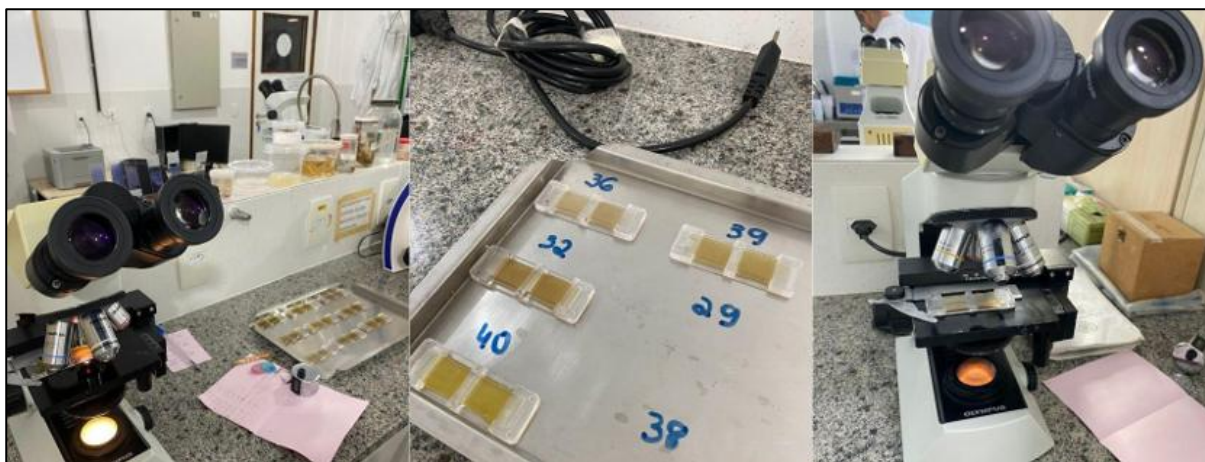
Os conídios de *B. bassiana* (PL63) foram obtidos do produto comercial Boveril Evo® (Koppert, Brasil) com concentração de $1,0 \times 10^8$ conídios/g. O produto vem em forma de pó fino dentro de sacos de polipropileno de cor cristal hermeticamente fechados. Foram preparadas suspensões de conídios em água destilada estéril e Tween 80 a 3% até atingir uma concentração de $1,0 \times 10^8$ conídios/mL. Foi utilizada cabine de fluxo laminar para manipulação asséptica das amostras e a concentração foi quantificada em microscópio óptico com auxílio da câmara de Neubauer. As formulações de Bb+OS, Bb+OM e Bb+OG foram preparadas com base em 20 mL da suspensão aquosa de conídios.

Foram coletadas fezes de caprinos naturalmente infectados por nematoides gastrintestinais das famílias *Trichostrongylidae* e *Chabertiidae* diretamente da ampola retal. Os animais

eram oriundos da Fazenda Experimental da UFRB e não haviam sido tratados com anti-helmíntico nos 60 dias anteriores à coleta. As amostras fecais obtidas foram homogeneizadas para a formação de um *pool* que apresentou

uma média de 1833 ovos de strongilídeos por grama de fezes, quantificados pela técnica de McMaster (GORDON; WHITLOCK, 1939) (**Figura 30.1**).

Figura 30.1 Determinação da concentração ovos de strongilídeos em fezes de caprinos infectados naturalmente



Nota: A quantificação foi feita pela técnica de McMaster.

Para cada unidade experimental, 2 g de fezes do *pool* foram tratadas com 2 mL da formulação a ser testada em um recipiente plástico. Após uma pausa de 10 minutos, a mistura foi homogeneizada com 2 g de maravalha e coberta com filme plástico perfurado para permitir aeração. Durante 10 dias, as culturas foram incubadas à temperatura ambiente e umedecidas com água destilada quando necessário. Decorrido esse período, o filme foi retirado e os recipientes foram preenchidos com água destilada a 40 °C. Em seguida, o recipiente foi tampado com uma placa de Petri e foi invertido rapidamente, mantendo-se apoiado na placa. Com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, foram adicionados 15 mL de água destilada aquecida na

placa (ao redor dos copos) para favorecer a migração das larvas. Após duas horas de repouso, o líquido contendo as larvas foi transferido para um tubo *Falcon* e mantido sob refrigeração.

Os tubos *Falcon* contendo as larvas suspensas foram centrifugados por 5 minutos a 2000 rpm e o sobrenadante foi descartado. Para quantificar e identificar os gêneros das larvas, o sedimento (2 mL) foi colocado em uma câmara de contagem (*Counting Cell*), adicionado uma gota de lugol e observado ao microscópio óptico na objetiva de 10x. A eficácia das diferentes formulações foi avaliada por meio da seguinte fórmula de percentual de redução de larvas (UENO; GONÇALVES, 1998; BRAGA; ARAÚJO, 2014):

$$\% \text{ de redução: } \frac{n^{\circ} \text{ de larvas do grupo controle} - n^{\circ} \text{ de larvas do grupo tratado} \times 100}{n^{\circ} \text{ de larvas do grupo controle}}$$

Para comparar a efetividade de formulações isoladas ou associadas a *B. bassiana* (1) e a efetividade de formulações associadas a *B. bassiana* oleosas ou aquosas (2) no controle de larvas de estrongilídeos em fezes de caprino infectadas, as médias de larvas recuperadas nos grupos tratados foram submetidas ao teste paramétrico de análise de variância (ANOVA) e as diferenças estatísticas significativas foram determinadas pelo teste de Tukey. As análises estatísticas foram realizadas no *software* Instat 3.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente capítulo demonstra que formulações de óleos vegetais associados ao fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* possuem potencial para controle biológico de estágios imaturos de nematoides gastrintestinais em caprinos.

Referente a quantificação das larvas recuperadas, os grupos tratados apresentaram médias inferiores em relação ao controle aquoso e os controles oleosos. Não foram observadas diferenças significativas entre as formulações oleosas e suspensão aquosa ($p > 0,05$), porém, todas

diferiram significativamente dos controles ($p < 0,05$; **Tabela 30.1**).

Entre os grupos avaliados contendo *B. bassiana*, a suspensão aquosa (Bb $1,0 \times 10^8$) apresentou eficácia de 92,06%, enquanto as formulações associadas aos óleos vegetais, Bb+OS, Bb+OM e Bb+OG apresentaram eficácias de 99,57%, 99,16% e 99%, respectivamente. Trabalhos avaliando o efeito de *B. bassiana* na recuperação de larvas de estrongilídeos de fezes equinas demonstraram que o fungo teve uma eficácia semelhante ao presente trabalho, sendo de 80,4% com suspensões aquosas e 92% em formulações oleosas (BISPO *et al.*, 2026). Em trabalhos feitos com *B. bassiana* em larvas de *Aedes aegypti*, o fungo infectou rapidamente o trato digestório das larvas, mecanismo que também pode ter acontecido no presente trabalho (BITENCOURT *et al.*, 2022).

A significativa redução observada nas quantidades de larvas sugere que formulações com *B. bassiana* não apenas limitam a carga parasitária, mas também podem contribuir para a saúde e bem-estar dos caprinos, minimizando os riscos à saúde pública e à contaminação ambiental associados ao uso de produtos químicos.

Tabela 30.1 Média $\pm$ desvio padrão do número de larvas na coprocultura quantitativa com formulações de *Beauveria bassiana* oleosas ou suspensões aquosas na redução de larvas para redução de estrongilídeos em fezes de caprino

Grupos	Nº de larvas $\pm$ desvio padrão
CTR-H ₂ O	1882 $\pm$ 1129,5 ^b
CTR-OS	1985,7 $\pm$ 792 ^a
CTR-OM	1247,2 $\pm$ 521,4 ^b
CTR-OG	2351,2 $\pm$ 667,8 ^a
Bb+1,0 x 10 ⁸	149,5 $\pm$ 169,9 ^c
Bb+OS	8 $\pm$ 8,3 ^c
Bb+OM	15,8 $\pm$ 19,7 ^c
Bb+OG	19,2 $\pm$ 21,2 ^c

Legenda: Controle aquoso (CTR-H₂O), controle óleo de soja (CTR-OS), controle óleo mineral (CTR-OM), controle óleo de girassol (CTR-OG), suspensão aquosa de *Beauveria bassiana* (Bb $1,0 \times 10^8$), formulação de *B. bassiana* em óleo de soja (Bb+OS), formulação de *B. bassiana* em óleo mineral (Bb+OM) e formulação de *B. bassiana* em óleo de girassol (Bb+OG). Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa ($p > 0,05$), segundo o teste de Tukey.

Dentre os grupos tratados com formulações oleosas, a associação com óleo de soja (Bb+OS), apresentou melhor eficácia, seguido pela associação com óleo de milho (Bb+OM), e óleo de girassol (Bb+OG), com percentuais de redução de 99,6%, 99,2% e 98,7%, respectivamente (**Tabela 30.2**). No entanto, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos. Os óleos em formulações podem aumentar a eficiência dos fungos entomopatôgenos como agentes de controle biológico ao proteger as conidia de fatores ambientais como a temperatura, prevenir a evaporação de água e facilitar a adesão dos conídios à superfície dos artrópodes (ANGELO *et al.*, 2015; PAIXÃO *et al.*, 2017).

Trabalhos feitos usando o fungo *Metarhizium anisopliae* têm demonstrado que a sua

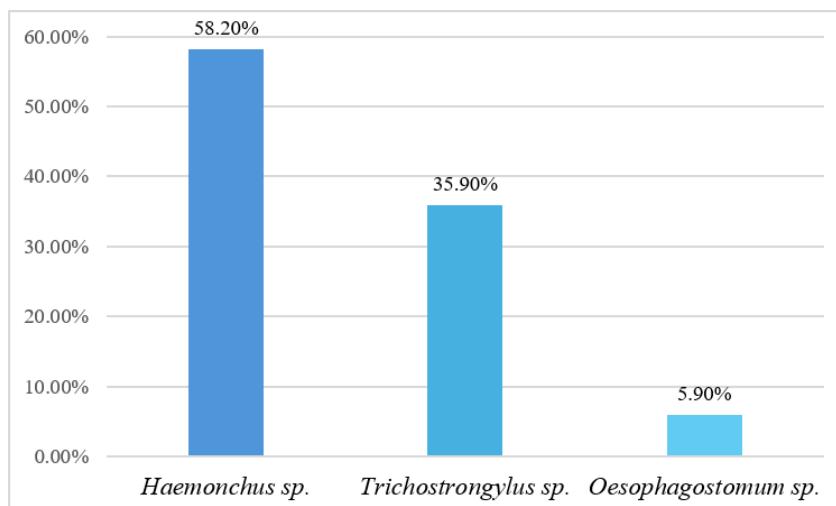
ação sob NGIs de pequenos ruminantes é potencializada com óleo mineral, fazendo esse óleo um bom adjuvante. Um trabalho determinou que óleo mineral teve melhor efeito do que formulações com outro tipo de óleo na redução de larvas de helmintos gastrointestinais em caprinos. É necessário estudar o efeito do óleo mineral como adjuvante em formulações de *B. bassiana* para o controle de NGIs em pequenos ruminantes (BARRETO *et al.*, 2016; MOURA *et al.*, 2023; MOURA *et al.*, 2026).

A composição dos gêneros parasitários identificados revelou predominância de *Haemonchus* sp. (58,2%), seguido por *Trichostrongylus* sp. (35,9%) e *Oesophagostomum* sp. (5,9%) (**Gráfico 30.1** e **Figura 30.2**).

Tabela 30.2 Eficácia de formulações oleosas associadas a *Beauveria bassiana* na de redução de larvas em fezes caprinas baseados nos respectivos controles

Percentual de redução de larvas (%)					
Tratamento \ Controle	Bb 1,0 x 10 ⁸	CTR-OS	CTR-OM	CTR-OG	
Bb+OS	94,6	99,6	-	-	
Bb+OM	89,4	-	98,7	-	
Bb+OG	87,2	-	-	99,2	

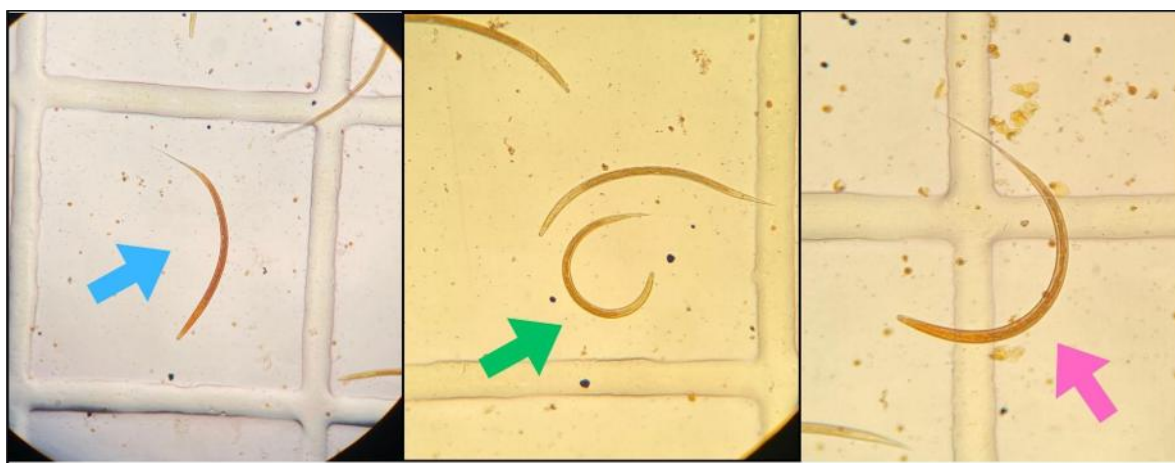
Gráfico 30.1 Percentual de gêneros de nematoides encontrados nas diferentes formulações oleosas de *Beauveria bassiana*



Esse padrão é característico de rebanhos da região semiárida e corrobora com estudos que destacam o impacto sanitário desses helmintos na caprinocultura regional. A prevalência de *Haemonchus* sp., reconhecido por sua elevada patogenicidade e resistência a anti-helmínticos,

evidencia a importância de estratégias alternativas e sustentáveis de controle, uma vez que esses parasitos são responsáveis por perdas econômicas substanciais na caprinocultura (COSTA *et al.*, 2011; MOURA *et al.*, 2023).

Figura 30.2 Identificação de larvas ao microscópio óptico. *Haemonchus* sp. (seta azul); *Trichostrongylus* sp. (seta verde); *Oesophagostomum* sp. (seta rosa)



CONCLUSÃO

A suspensão aquosa e as formulações de óleos vegetais associadas ao fungo *Beauveria bassiana* foram eficazes na redução de larvas de helmintos de caprinos *in vitro*. Isso reafirma que o controle biológico é importante frente ao uso indiscriminado de antiparasitários, sendo mais uma ferramenta a ser utilizada nos méto-

dos integrados, trazendo uma abordagem inovadora e sustentável para o controle de nematoides gastrintestinais. Novos estudos devem ser realizados para explorar a combinação de óleos com agentes biológicos, especialmente em condições *in vivo* para confirmar a eficácia das formulações de *B. bassiana* em óleo com os desafios do meio ambiente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGELO, I.C. *et al.* Formulações oleosas contendo fungos artropodopatogênicos para o controle de *Rhipicephalus microplus*. Brazilian Journal of Veterinary Medicine, v. 37, p. 18, 2015.
- BARRETO, L.P. *et al.* Effect of heat stress and oil formulation on conidial germination of *Metarhizium anisopliae* s.s. on tick cuticle and artificial medium. Journal of Invertebrate Pathology, v. 138, p. 94, 2016. doi: 10.1016/j.jip.2016.06.007.
- BESERRA, B.D.N. *et al.* In vitro efficacy of different oily formulations of *Metarhizium anisopliae* on immature stages of gastrointestinal helminths in goats. Brazilian Journal of Animal and Environmental Research, v. 8, 2025. doi: 10.34188/bjaerv8n4-113.
- BISPO, C.D.L. *et al.* Efficacy of *Beauveria bassiana* fungal formulations against immature stages of gastrointestinal nematodes from horses. Biocontrol Science and Technology, 2026.
- BITENCOURT, D.O.B.R. *et al.* Entomopathogenic fungi and *Schinus molle* essential oil: the combination of two eco-friendly agents against *Aedes aegypti* larvae. Journal of Invertebrate Pathology, v. 194, 2022. doi: 10.1016/j.jip.2022.107827.
- BRAGA, F.R.; ARAÚJO, J.V. Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 98, p. 71, 2014. doi: 10.1007/s00253-013-5366-z.
- CAMARGO, M.G. Eficácia de formulações oleosas de *Beauveria bassiana* contra larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* [dissertação]. Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2011.
- COOPER, K.M. *et al.* Anthelmintic drug residues in beef: UPLC-MS/MS method validation, European retail beef survey, and associated exposure and risk assessments. Food Additives & Contaminants: Part A, v. 29, p. 746, 2012. doi: 10.1080/19440049.2011.653696.
- COSTA, V.M.M. *et al.* Controle das parasitoses gastrintestinais em ovinos e caprinos na região semiárida do Nordeste do Brasil. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 31, p. 65, 2011. doi: 10.1590/S0100-736X2011000100010.
- DESBOIS, A.P. & SMITH, V.J. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 85, p. 1629, 2010. doi: 10.1007/s00253-009-2355-3.
- EILENBERG, J. *et al.* Suggestions for unifying the terminology in biological control. Biological Control, v. 46, p. 387, 2001. doi: 10.1023/A:1014193329979.
- FORTES, F.S. & MOLENTO, M.B. Resistência anti-helmíntica em nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes: avanços e limitações para seu diagnóstico. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 33, p. 1391, 2013. doi: 10.1590/S0100-736X2013001200001.
- GORDON, H.; WHITLOCK, H.V.A. New technique for counting nematode eggs in sheep faeces. Journal of the Council for Scientific and Industrial Research, v. 12, p. 50, 1939.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Rebanho de caprinos (bodes e cabras). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2024. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/caprinos/br>. Acesso em: 18 ago. 2026.
- LACEY, L.A. *et al.* Insect pathogens as biological control agents: back to the future. Journal of Invertebrate Pathology, v. 132, 2015. doi: 10.1016/j.jip.2015.07.009.
- LEI, C.J. *et al.* Bioefficacy of an oil-emulsion formulation of entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* against adult red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus*. Insects, v. 14, p. 482, 2023. doi: 10.3390/insects14050482.
- MOLENTO, M.B. *et al.* Challenges of nematode control in ruminants: focus on Latin America. Veterinary Parasitology, v. 180, p. 126, 2011. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.05.033.
- MOTA, M.D.A. *et al.* Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 23, p. 93, 2003. doi: 10.1590/S0100-736X2003000300001.
- MOURA, I.D.A. *et al.* First report of *Metarhizium anisopliae* s.l. action on gastrointestinal ruminant nematodes in the free-living stage and its persistence in soil. Biocontrol Science and Technology, v. 33, p. 539, 2023.
- MOURA, I.D.A. *et al.* Field efficacy of *Metarhizium robertsii* (LCM S15) for controlling free-living stages of gastrointestinal nematodes in goats. Pathogens, v. 15, p. 594, 2026. doi: 10.3390/pathogens15060594.
- PAIXÃO, F.R.S. *et al.* Increased heat tolerance afforded by oil-based conidial formulations of *Metarhizium anisopliae* and *Metarhizium robertsii*. Biocontrol Science and Technology, v. 27, p. 324, 2017. doi: 10.1016/j.jip.2016.06.007.

TORRES-ACOSTA, J.F.J. *et al.* Nutritional manipulation of sheep and goats for the control of gastrointestinal nematodes under hot humid and subhumid tropical conditions. *Small Ruminant Research*, v. 103, p. 28, 2012. doi: 10.1016/j.smallrumres.2011.10.016.

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