

## PROFILAXIA ECOLÓGICA FITOQUÍMICA DA ANCILOSTOMOSE E ESTRONGILOIDOSE\*

Enio Garcia Goulart\*\*, Myriam Cezarie Jourdan\*\*\*, Reginaldo Peçanha Brazil\*\*\*\*, Beatriz Gomes Brazil\*\*\*\*, Alexandre Elias Cosendy\*\*\*\*, Marion Bär\*\*\*\*, Ernane Catroli do Carmo\*\*\*\* e Benjamin Gilbert\*\*\*\*\*

Os Autores, após terem demonstrado no laboratório a atividade "in vitro" de 119 produtos naturais de origem vegetal no bloqueio da evolução externa de *Ancilostomídeos* e *S. stercoralis*, pesquisaram a aplicação prática da Profilaxia ecológica fitoquímica das respectivas endemias parasitárias.

A investigação foi realizada em dois grupos populacionais de favelados da Ilha do Governador (Rio de Janeiro, Brasil), ao longo de 26 meses de intenso trabalho que compreendeu: 1) seleção e levantamento demográfico das áreas; 2) inquérito geral para determinação da incidência parasitária; 3) introdução dos vegetais ativos em uma das áreas, ficando a outra como controle; 4) tratamento em massa de ambas as populações, repetido 10 meses depois; 5) três controles epidemiológicos, após cada tratamento e a intervalos constantes de 60 a 70 dias, para verificação das reinfestações e do confronto final da prevalência das helmintoses nas duas áreas. Das plantas introduzidas somente se adaptou o *C. citratus* que atingiu uma concentração média de uma touceira por 10 m<sup>2</sup>.

Os níveis de ancilostomose caíram na área plantada de 23,2% para 2,2% e na área controle de 14,5% para 5,8%, durante o período de 21 meses da investigação. A estrongiloidose desceu de 17,1% para 0,6% na área tratada fitoecologicamente e de 13,0% para 2,9% na área controle. Da população inicialmente examinada, 46% foram acompanhados até o término da experiência. A redução da prevalência de ancilostomídeos, 30,5% superior na área plantada, é considerada estatisticamente significativa e, portanto, o novo método profilático válido e viável. Para conclusão definitiva, já teve início uma pesquisa comparada, sob rigorosas condições de controle.

Tudo indica que o método ora instituído, pioneiro na literatura mundial, seja de grande valor profilático reduzindo sensivelmente a prevalência, após tratamento em massa das populações, nas áreas endêmicas. Pelas suas características, tais como aceitação popular, pequeno custo operacional e, sobretudo, obtenção de resultados a curto prazo, será altamente oportuno, considerando-se que os recursos convencionais são baseados na educação e engenharia sanitárias, cujos resultados são obtidos a médio e longo prazos e sempre dependentes de cada indivíduo.

Além da aplicação médico-sanitária, a presente pesquisa poderá estabelecer possibilidades na profilaxia de certas fitonoses e zoonoses de grande importância econômica na agro-pecuária.

\* Departamento de Parasitologia e CPPN do Instituto de Ciências Biomédicas, CCS, UFRJ, BRASIL.

\*\* Professor Adjunto do Departamento de Parasitologia do ICB.

\*\*\* Auxiliares de Ensino do Departamento de Parasitologia do ICB.

\*\*\*\* Bolsistas do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

\*\*\*\*\* Professor Colaborador do CPPN do Departamento de Bioquímica do ICB.

Recebido para publicação em 5-7-76.

## INTRODUÇÃO

No quadro nosológico brasileiro e mundial as endemias parasitárias apresentam uma importância médica, social e econômica muito acentuada. Dentre elas, pela incidência e prevalência, se destacam a ancilostomose e a estrongiloidose, que comprometem cerca de duas dezenas de milhões de indivíduos no Brasil e cerca de um bilhão no mundo, desencadeando, quase sempre, processos mórbidos mais ou menos acentuados.

O ciclo ontogênico dos respectivos agentes etiológicos, parasitos monoxenos e basicamente estenoxenos, inclui uma fase obrigatória de vida livre para o desenvolvimento de larvas que, evoluindo no solo, se tornam infestantes para o homem. O mecanismo de transmissão se faz ativamente por via cutânea, principalmente nas zonas rurais, pelos pés descalços dos seus habitantes.

Ainda que os recursos de diagnóstico laboratorial permitam, com segurança e facilidade, a demonstração das citadas helmintoses; ainda que existam no arsenal terapêutico agentes quimioterápicos altamente eficazes, seria totalmente improfícuo e impraticável, além do elevado custo operacional, um tratamento em massa da população nas áreas endêmicas. Improfícuo, pela rapidez das contínuas reinfestações a que estariam sujeitos os indivíduos nas referidas regiões, e, impraticável, pelas dimensões continentais do nosso país.

O controle epidemiológico torna-se difícil, não só pelas características biológicas de seus agentes, como também pelo nível de educação sanitária e de higiene pública em determinadas localidades. Tais fatores, notadamente nas zonas rurais, são responsáveis pela persistência do problema. Apesar do grande desenvolvimento nacional, há ainda regiões carentes de engenharia baseada em novos métodos, independentes do homem, para impedir, a curto prazo, a permanente contaminação do solo.

O propósito imediato desta investigação é trazer uma contribuição à profilaxia da ancilostomose e estrongiloidose no Brasil e no Mundo.

A presente pesquisa, que acreditamos pioneira na bibliografia mundial, se fundamenta aos estudos desenvolvidos no controle de nematódeos nocivos à agricultura pelo emprego de pesticidas<sup>16</sup> e no plantio de vegetais do gênero *Tagetes* cujas raízes exsudam substâncias tóxicas para os nematódeos fitoparasitos existentes no solo<sup>3</sup>. Também nos motivou a demonstração

da atividade de certos produtos, de origem vegetal, protegendo animais de laboratório contra a infestação experimental com *Schistosoma mansoni*<sup>4, 6, 15</sup>.

Por outro lado, óleos essenciais e produtos naturais pouco polares freqüentemente influenciam as condições ecológicas ao redor das plantas. Por exemplo, a pulegona e os dois enanteômeros da cânfora inibem a germinação de sementes de rabanete, em uma concentração menor do que 5 micromoles por litro<sup>1</sup>. Várias evidências constam na bibliografia sobre a inibição de bactérias e cogumelos por produtos naturais, geralmente cetonas, álcoois e aldeídos terpênicos<sup>17</sup>.

Produtos como as lignanas<sup>5</sup> e lactonas alfa e beta insaturadas<sup>2</sup> mostram uma ação biológica acentuada sobre helmintos e insetos. O tratamento do solo por pequenas concentrações (1-10 ppm) de determinadas substâncias de origem vegetal pode ser efetuado, na prática, pelo plantio de algumas espécies botânicas numa determinada área<sup>18</sup>.

Esta pesquisa, que visa o estabelecimento de uma profilaxia ecológica fitoquímica das mencionadas nematodíases, tem como ponto de partida as investigações básicas que realizamos num plano anterior, durante o triênio 1971-1973 e que prosseguem, em paralelo.

Em trabalho conjunto com o Centro de Pesquisas de Produtos Naturais do Departamento de Bioquímica (ICB — UFRJ) e o Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais de Ribeirão Preto (São Paulo), conseguimos demonstrar "in vitro" o bloqueio da evolução dos citados helmintos pela ação larvídica de 119 entre 563 amostras de produtos naturais de origem vegetal<sup>7, 9, 10, 11, 12, 13</sup>. Posteriormente, testes de campo, em horto experimentalmente infestado, comprovaram de modo promissor os resultados de laboratório.

Além da aplicação na área médico-sanitária, a nossa investigação poderá abrir possibilidades úteis para a agricultura e pecuária, onde certos nematódeos são responsáveis, respectivamente, por fitonoses e zoonoses de grande importância econômica.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para o desenvolvimento desta investigação organizamos duas equipes que desempenharam atividades de campo e de laboratório.

## A – Grupos populacionais

1 – Entre as 14 favelas da Ilha do Governador (Rio de Janeiro), escolhemos duas – Pichunas e Zaquias Jorge – cujas condições, de um modo geral, se aproximam daquelas observadas nas zonas rurais.

2 – Levantamento populacional de ambas as favelas e esclarecimentos aos habitantes para a necessária colaboração. Foram trabalhadas 83 habitações em Pichunas e 92 em Zaquias Jorge. As 175 moradias foram devidamente numera-

das, para identificação, enquanto eram preenchidas 851 fichas individuais contendo todos os dados epidemiológicos necessários.

Após dois anos de trabalho intenso, apesar de todo o empenho, esclarecimentos e estímulos utilizados, o número de indivíduos controlados reduziu-se de 409 para 181, em Pichunas, enquanto que, em Zaquias Jorge, caiu de 442 para 207. A distribuição dos indivíduos remanescentes sob controle, segundo as favelas e os grupos etários, é mostrada na Tabela I. Os desistentes, ao longo do trabalho, foram desprezados.

TABELA I

Distribuição dos indivíduos controlados, segundo as favelas e grupos etários

Idade	Pichunas	Zaquias Jorge	Total
1 a 3 anos	36	28	64
4 a 10 anos	54	83	137
11 a 15 anos	20	21	41
Adultos	71	75	146
Total	181	207	388

## B – Incidência parasitária

Inquérito enteroparasitário de todos os favelados com o emprego do método MIFC (14). Esta etapa compreende: a) preparação de frascos, convenientemente rotulados, e da solução preservadora MIF; b) distribuição a domicílio; c) coleta das amostras; d) processamento dos exames parasitológicos das fezes; e) transcrição dos resultados para as fichas.

## C – Tratamento

1) Tratamento em massa, a domicílio, de ambos os grupos populacionais com pamoato de pirantel (Combantrim – Pfizer), comprimidos e suspensão, nas dosagens recomendadas. Considerando as excelentes características do quimioterápico, largo espectro aliado à eficácia e ausência de efeitos colaterais, o fármaco foi administrado a todos os indivíduos envolvidos. Não foram incluídas, por precaução, as crianças

abaixo de um ano, as pessoas acima de 65 anos e gestantes nos três primeiros meses de gravidez.

2) Tratamento dos portadores de *Strongyloides stercoralis* com thiabendazol (Thiaben – ICN, Usafarma) sob a assistência do Centro de Saúde da Região Administrativa. Apesar da especificidade e eficácia do anti-helmíntico, tais providências acauteladoras foram tomadas em função da contra-indicação nos casos de úlcera gástrica ou duodenal. Este tratamento e o da ancilostomose, realizado em massa foram repetidos dez meses depois.

3) Periodicamente, foi feita a distribuição de vitaminas e sais minerais (Viterra – Pfizer) à população das duas áreas, com duas finalidades: atendimento ao estado carencial e estímulo psicológico à colaboração.

## D – Controles epidemiológicos

Empregando a mesma metodologia usada no inquérito inicial foram realizados, após cada

tratamento, três controles enteroparasitários com intervalos aproximados de 60 a 70 dias, para detectar as reinfestações.

#### E - Introdução das espécies vegetais ativas

Foram introduzidas na área da Favela Pichunas, logo após o primeiro tratamento geral, as seguintes espécies vegetais reconhecidamente ativas: *Cymbopogon citratus* - 3.500 mudas; *Chrysanthemum sp* ("Monsenhor") - 200 mudas; *Ruta graveolens* - 200 mudas; *Tagetes minuta* - 500 sementes; *Mentha spicata* - 200 sementes; *Cymbopogon martinii* - 400 sementes. Quando do 3º controle epidemiológico foram introduzidas mais 1.750 mudas de *Cymbopogon citratus* para reposição e reforço. O plantio das citadas espécies foi realizado, estrategicamente, nas áreas peridomiciliares e

nos caminhos de acesso às habitações. A área total referida apresenta, aproximadamente, 20.000 metros quadrados. A favela Zaquias Jorge, que não recebeu o plantio dos vegetais ativos, foi mantida como controle para o confronto final da prevalência das helmintoses observadas.

#### RESULTADOS

Os resultados que logramos alcançar, depois de 26 meses de contínuo e persistente trabalho, estão representados nas Tabelas II e III que, respectivamente, confrontam as variações da incidência da Ancilostomose e Estrongiloidose, nas diversas etapas do processamento igualmente desenvolvido nas duas favelas. Para facilitar a observação do confronto, introduzimos dois gráficos, Figs. 1 e 2.

TABELA II

Variações da incidência do Ancilostomídeos nas duas favelas, durante os 21 meses de observação.

Inquéritos epidemiológicos	Meses*	Pichunas ( <i>C. citratus</i> )		Z. Jorge (controle)	
		Casos	%	Casos	%
Inicial	1 - 2	42	23,2	30	14,5
1º controle	5 - 6	11	6,1	8	3,9
2º controle	8 - 9	9	5,0	11	5,3
3º controle	11 - 12	11	6,1	12	5,8
4º controle	15 - 16	5	2,8	6	2,9
5º controle	18	7	3,9	12	5,8
6º controle	20 - 21	4	2,2	12	5,8

\* 3 e 4 - 1º tratamento quimioterápico; 5 e 6 - Introdução dos vegetais em Pichunas; 13 - Vegetais exuberantes; 13 e 14 - 2º tratamento quimioterápico.

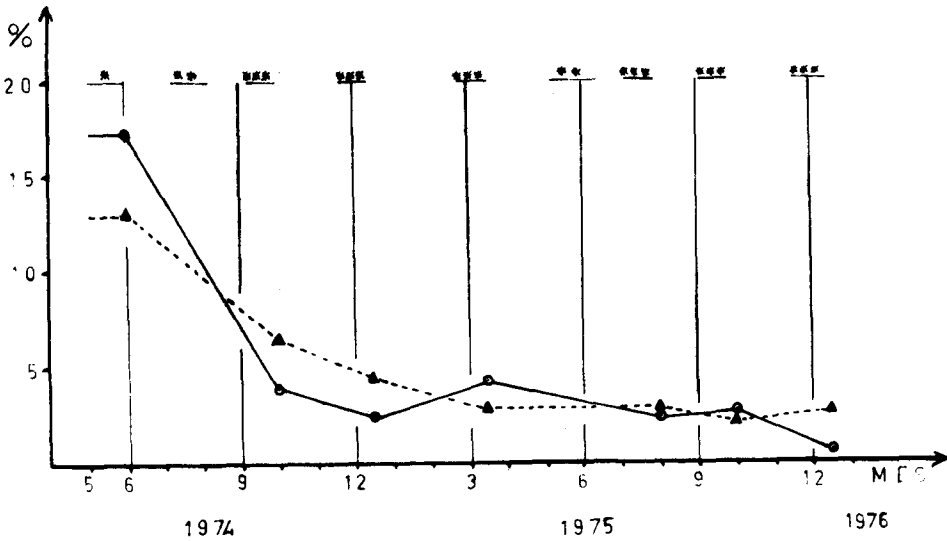


Fig. 2 - Níveis de infestação por *S. stercoralis* na favela Pichunas (—), com *C. citratus* exuberante em maio de 1975, e Zaquias Jorge (---), controle.

\* - Inquérito inicial; \*\* - Tratamentos quimioterápicos; \*\*\* - Controles epidemiológicos.

## DISCUSSÃO

Diante dos problemas decorrentes do fator distância, ficamos impossibilitados de realizar a pesquisa no meio rural, onde as condições seriam ideais. Assim sendo, tivemos que nos valer de duas favelas da Ilha do Governador cujas características lembram as condições do campo. Todavia, como era esperado, surgiram várias dificuldades que demandaram um esforço, maior do que o previsto, para que elas fossem superadas.

Quanto aos grupos populacionais, não foi fácil garantir, até o final, a colaboração dos seus componentes. Numerosos indivíduos, ao longo dos 21 meses de controle, resolveram desistir. Outros, durante o período, mudaram-se. Em Pichunas, tivemos no inquérito inicial 409 pessoas e nos 6 controles epidemiológicos, respectivamente, 336, 309, 237, 226, 209 e 181. Em Zaquias Jorge, na mesma ordem, tivemos 442, 383, 335, 315, 217, 211 e 207 indivíduos. Portanto de um total inicial de 851 finalizamos com 388 nas duas favelas, fato que implicou no abandono de um grande número de dados obtidos. Por outro lado, a possível interferência de um fator incontrolável é representada pela total impossibilidade do cercamento das pessoas envolvidas, que poderiam se infestar em outras áreas.

O estabelecimento de três controles epidemiológicos no intervalo dos tratamentos objetivou a demonstração das reinfestações, como também atender, em parte, ao problema dos períodos negativos de eliminação das formas evolutivas<sup>8</sup>. O método MIFC, mais uma vez, demonstrou o seu valor em inquéritos de tal amplitude. Infelizmente, não pode ser totalmente explorado na obtenção de amostras médias, em cada controle, porque seria demasiado complexo para os favelados. Entendemos que as implicações dos períodos negativos podem ser desprezadas porque, obviamente, incidiram igualmente sobre os dois grupos populacionais estudados.

A eficácia do pamoato de pirantel e do thiabendazol, nas suas respectivas indicações, foi comprovada.

A partir dos resultados que demonstraram "in vitro" a atividade bloqueadora da evolução, sobre as larvas rabditóides durante as primeiras 24 horas de contato, de um grande número de produtos extraídos de vegetais, selecionamos algumas espécies cujas características são inteiramente favoráveis à aplicação prática. Tais características podem ser assim resumidas: a) fácil obtenção; b) baixo custo operacional; c) vegetais de pequeno e médio porte; d) espécies ornamentais; e) utilidade doméstica.

Das seis espécies botânicas introduzidas na área da Favela Pichunas, em virtude das adversas condições topográficas e edáficas, a única que se adaptou e desenvolveu plenamente foi *Cymbopogon citratus*. Mesmo assim, para se conseguir cerca de 2.000 exemplares exuberantes foi necessário o plantio de 5.250 mudas. Portanto, considerando a área plantada, tivemos uma concentração média de um exemplar do vegetal em cada 10 metros quadrados, que embora não seja a ideal, tudo indica, foi suficiente. Deliberadamente, escolhemos a citada favela para a investigação da ação ecológica fitoquímica em virtude das suas condições sócio-econômicas e sanitárias serem inferiores as de Zaquias Jorge, fato que pode ser demonstrado pelos percentuais endêmicos apresentados nas Tabelas II e III e Figs. 1 e 2.

O exame da Tabela II e Fig. 1 mostra que a incidência da ancilostomose em Pichunas foi reduzida de 23,2% para 2,2%, enquanto que em Zaquias Jorge de 14,5% para 5,8%; portanto, comparativamente, a redução da prevalência na primeira favela foi superior em 30,5%. Considerando que ali as condições sanitárias são mais propícias às reinfestações, somente a presença dos vegetais introduzidos poderia explicar o fenômeno. Também é bastante sugestiva a observação do confronto entre os percentuais observados nos 3º e 6º controles epidemiológicos: Pichunas, respectivamente, 6,1% e 2,2%, ao passo que Zaquias Jorge manteve constante 5,8%. É conveniente assinalar que no período compreendido entre os mencionados controles os vegetais se mostravam em plena exuberância.

No tocante à estrogiloidose, Tabela III e Fig. 2, verifica-se que em Pichunas a incidência caiu de 17,1% para 0,6%, enquanto que em Zaquias Jorge de 13% para 2,9%. Assim sendo, a redução da prevalência, no confronto, dá uma superioridade de 18,8% à Pichunas. Por outro lado, a comparação dos índices encontrados nos

3º e 6º controles, como na Ancilostomose, é igualmente sugestiva.

Uma análise estatística preliminar realizada pelo Prof. Woodruff Benson (UNICAMP), empregando teste de independência (estatística G) com correção de Yates para pequenas amostras, revelou que os resultados são significativos para ancilostomose e quase o são para estrogiloidose. Nesta helmintose, em função das analogias com a outra, deveria ser esperado um resultado idêntico, todavia, julgamos que o fato pode ser explicado pela sua menor casuística, como também pela possibilidade da auto-infestação interna.

Acreditamos que a aplicação sistemática deste novo recurso profilático, em nível ecológico fitoquímico, poderá diminuir consideravelmente a prevalência, após tratamento em massa, das referidas endemias parasitárias nas populações rurais. Nestas áreas as condições gerais serão, ao contrário daquelas que enfrentamos, totalmente favoráveis.

Para dirimir quaisquer dúvidas e a possibilidade da interferência de vários fatores, a maioria dos quais nos foi adversa o que, entendemos, valoriza os nossos resultados, já iniciamos uma pesquisa complementar em animais, sob condições de absoluto controle.

#### AGRADECIMENTOS

Pela análise estatística preliminar, agradecemos ao Prof. Woodruff Benson da Universidade de Campinas (USP). Pela confiança e prestígio, consignamos os nossos sinceros agradecimentos ao CNPq, ABIFARMA, COPERTIDE (UFRJ), CEPG (UFRJ), Pfizer Química Ltda. e ICN Usafarma Indústria Farmacêutica Ltda. Finalmente, a todos que emprestaram a sua valiosa colaboração, sem a qual este trabalho seria impossível.

#### SUMMARY

*The previously reported activity of natural products of plant origin which inhibit the external larval evolution of Ancylostomidae and of Strongyloides stercoralis, has now been applied in the practical ecological prophylaxis of human parasitic disease.*

*The study was made in two populations of low economic level inhabiting shanty towns on the Ilha do Governador, Rio de Janeiro, Brazil. During 26 months the following phases were completed: 1 – selection and census of each area; 2 – parasitological survey; 3 – mass treatment of both populations with the anthelmintics pyrantel pamoate and thiabendazole, this treatment repeated 10 months later; 4 – introduction of plants with*

parasitic inhibitory activity in one area, leaving the other as control; 5 — three epidemiological controls, one after each treatment and then at intervals of 60 to 70 days to determine the prevalence and reinfection levels of the two parasites in each area. Of the plants introduced only lemon-grass, *Cymbopogon citratus*, survived and attained an average density of one clump per 10 m<sup>2</sup>.

*Ancylostomiasis* levels fell in the planted area from 23.2% to 2.2% and in the control are from 14.5% to 5.8% during the twenty-one month study. *Strongyloidiasis* fell from 17.1% to 0.6% in the planted area, and from 13% to 2.9% in the control area. 46% of the initially examined populations were followed through to the end. The reduction in prevalence of hookworms, 30.5% higher in the planted area, is considered statistically significant, and the method therefore valid and viable. Supporting evidence is being sought in a parallel experiment with animals where complete control is possible.

The method, apparently novel, seems of value in the reduction of reinfection after mass treatment in endemic areas. It is popularly acceptable, cheap and produces quick results and may bridge the gap until definitive measures such as sanitary education and engineering produce their longer term solution.

In addition to the medical and sanitary application, the results presented suggest applications in the veterinary and phytosanitary fields.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASPLUND, R.O. — Monoterpenes: relationship between structure and inhibition of germination. *Phytochemistry*, 7:1995-7, 1968.
2. BAKER, P.M.; FORTES, C.C.; FORTES, E.G.; GAZZINELLI, G.; GILBERT, B.; LOPES, J.N.C.; PELLEGRINO, J.; TOMASSINI, T.C.B. & VICHNEWSKI, W. — Chemoprophylactic agents in Schistosomiasis; eremanthine, costunolide, alfacyclotunolide and bisabolol. *J. Pharm. Pharmacol.*, 24: 853-857, 1972.
3. BU-LOCK, J.D. — Polyacetylenes and related compounds in nature — in Cook, J.W. and Carruthers, W. — *Progress in Organic Chemistry*, 6:116-119, 1964.
4. CAMPBELL, W.C. & CUCKLER, A.C. — The prophylactic effect of topically applied cedar wood oil on infection with *S. mansoni* in mice. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.*, 10:712, 1961.
5. ERDTMAN, H. & NORIN, T. — The chemistry of order Cupressales — em Zechmeister, L. — *Fortschritte der Chem. Org. Naturstoffe*, 24:212, 1966.
6. GILBERT, B.; SOUZA, J.P.; FORTES, C.C.; SANTOS FILHO, D.; SEABRA, A.P.; KITAGAWA, M. & PELLEGRINO, J. — Chemoprophylactic agents in Schistosomiasis: active and inactive terpenes. *J. Parasitology*, 56:397-398, 1970.
7. GILBERT, B.; MORS, W.B.; BAKER, P.M.; TOMASSINI, T.C.B.; GOULART, E.G.; HOLANDA, J.C.; COSTA, J.A.R.; LOPES, J.N.C.; SANTOS FILHO, D.; SARTI, S.J.; TURCO, A.M.T.; VICHNEWSKI, W.; LOPES, J.L.C.; THAMES, A.W.; PELLEGRINO, J. & KATZ, N. — A atividade anti-helmíntica dos óleos essenciais e de seus componentes químicos. *Anais da Academia Bras. de Ciências*, 44 (suplemento): 423, 1972.
8. GOULART, E.G.; SILVA, W.R.K.; MARTINS, M.S. & MORAES, D.S. — Positividade e negatividade nos exames coproscópicos de portadores de enteroparasitos. *Rev. Bras. Med.*, 24: 720-723, 1967.
9. GOULART, E.G.; HOLANDA, J.C.; COSTA, J.A.R.; GILBERT, B.; SANTOS FILHO, D.; TURCO, A.M.T. & LOPES, J.L.C. — Inibição da evolução externa de *S. stercoralis* e ancilostomídeos por produtos naturais. *Rev. Bras. Med.*, 29:14-16, 1972.
10. GOULART, E.G.; HOLANDA, J.C.; COSTA, J.A.R.; GILBERT, B.; BAKER, P.M.; SARTI, S.J.; SANTOS FILHO, D.; LOPES, J.L.C.; VICHNEWSKI, W.; TURCO, A.M.T.; LOPES, J.N.C. & THAMES, A.W. — Atividade anti-helmíntica de óleos essenciais — Trabalho apresentado na XXIV Reunião Anual da SPBC, julho 1972.

11. GOULART, E.G.; COSTA, J.A.R.; BRAZIL, R.P.; GILBERT, B.; LOPES, J.N.C.; SARTI, S.J.; VICHNEWSKI, W. & THAMES, A.W. — Bloqueio da evolução externa de *S. stercoralis* e Ancilostomídeos por produtos naturais e sintéticos. *Rev. Bras. Med.* 31:303-308, 1974.
12. GOULART, E.G.; BRAZIL, R.P.; COSENDEY, A.E.; GILBERT, B.; SANTOS FILHO, D.; TURCO, A.M.T. & LOPES, J.L.C. — Inibição ontogênica de *S. stercoralis* e Ancilostomídeos, na fase de vida livre por produtos naturais. *Rev. Bras. de Farmácia*, 56:39-47, 1975.
13. GOULART, E.G.; COSTA, J.A.R.; BRAZIL, R.P. & GILBERT, B. — Inhibitory action of natural and synthetic products in the evolution of *S. stercoralis* and hookworms. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 69:168, 1975.
14. MORAES, R.G.; LEITE, I.C. & GOULART, E.G. — Parasitologia Médica — Rio de Janeiro — Livraria Atheneu, 1971.
15. MORS, W.B.; FASCIO, M.S.; MONTEIRO, H.H.; GILBERT, B. & PELLEGRINO, J. — Chemoprophylactic agent in Schistosomiasis: 14-15 Epoxygeranyl-geraniol. *Science*, 157:950, 1967.
16. Pans Manual nº 3 — Pest control in rice — Min. of Overseas Development, London, p. 99, 1970.
17. SAKAI, O.H.K.; JONES, M.B. & LONGRUST, W.M. — Effect of various essential oils isolated from Douglas fir needles upon sheep and deer rumen microbial activity. *Appl Microbiol.*, 15:777-784, 1967.
18. WHITTAKER, R.H. & FEENY, P.P. — Allelochemicals: chemical interactions between species. *Science*, 171:757, 1971.