

ATIVIDADE DOS COMPOSTOS CURCUMINA E ALBENDAZOL CONTRA O NEMATÓDEO *Toxocara canis* *in vitro*

ACTIVITY OF THE COMPOUNDS CURCUMIN AND ALBENDAZOLE AGAINST THE NEMATODE *Toxocara canis* *in vitro*

Caroccia GHG¹, Rodolpho JA², Oliveira SRP³, Camillo L⁴, Magalhães LG⁵, Anibal FF⁶

RESUMO: Introdução: O parasito nematelminto *Toxocara canis* pode causar, em sua forma larval, a Síndrome da *Larva Migrans* Visceral (SLMV) ou Ocular, quando esta, acidentalmente, parasita o homem, já que os hospedeiros etiológicos são os canídeos. A infecção se inicia com a ingestão de ovos larvados. No intestino as larvas são liberadas e podem migrar para diversos órgãos do corpo, como o fígado, pulmão, cérebro, coração e olhos, podendo gerar lesões nestes locais. **Objetivo:** determinar a viabilidade das larvas de *Toxocara canis* após o tratamento com curcumina e albendazol *in vitro* e comparar a mobilidade relativa das larvas de *Toxocara canis* após este mesmo tratamento *in vitro*. **Materiais e métodos:** A atividade *in vitro* contra *Toxocara canis* após a exposição à curcumina e a um anti-helmíntico convencional (albendazol), que foram diluídos em DMSO 10% (dimetilsulfóxido 10%) foi avaliada através da viabilidade das larvas, representada pela porcentagem (%) de mobilidade relativa durante os ensaios, que foi calculada baseada em um método documentado. **Resultados e discussão:** Os resultados deste estudo sugerem que a curcumina pode apresentar possíveis efeitos larvicidas contra o *Toxocara canis*. **Conclusão:** A mobilidade relativa das larvas de *Toxocara canis* foi reduzida em ambos os tratamentos, mas o tratamento com a curcumina possibilitou uma redução maior na mobilidade quando comparada com o albendazol, que representou uma maior eficácia da curcumina contra as larvas.

DESCRITORES: *Toxocara canis*. Curcumina. Albendazol.

ABSTRACT: Introduction: The nematelmint parasite *Toxocara canis* can cause, in its larval form, the Visceral Larva Migrans Syndrome (VLMS) or Ocular, when it accidentally parasite humans, since the etiological hosts are canids. The infection begins with ingestion of embryonated eggs. In the intestine the larvae are released and can migrate to various body organs such as liver, lung, brain, heart and eyes, which can generate lesions at these sites. **Objective:** determine the viability of *Toxocara canis* larvae after treatment with curcumin and albendazole *in vitro* and compare the relative mobility of *Toxocara canis* larvae even after this *in vitro* treatment. **Materials and methods:** The *in vitro* activity against *Toxocara canis* larvae after exposure to curcumin and a conventional antihelmintic (albendazole), which were diluted in 10% DMSO (dimethylsulfoxide 10%), was assessed by larval viability, represented by relative mobility percentage (%) during the tests, which was calculated based on a documented method. **Results and discussion:** The results of this study suggest that curcumin may have potential larvicidal effects against *Toxocara canis*. **Conclusion:** The relative mobility of *Toxocara canis* larvae was reduced for both treatments, but the treatment with curcumin provided a greater reduction in mobility compared to albendazole, which represented more effectiveness of curcumin against the larvae.

DESCRIPTORS: *Toxocara canis*. Curcumin. Albendazole.

- 1 Gabriel Henrique Gomes Caroccia – Graduado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR). e-mail: gabrielcaroccia@hotmail.com
- 2 Joice de Almeida Rodolpho – Graduada em Enfermagem pela Fundação Educacional de Fernandópolis (FEF). Mestre em Biotecnologia pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR). e-mail: j_rodolpho@hotmail.com.
- 3 Sandra Regina Pereira de Oliveira – Graduada em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário UNIFAFIBE. e-mail: sannddy2@yahoo.com.br
- 4 Luciana Camillo – Bióloga graduada pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR). e-mail: lucianacamillo@gmail.com
- 5 Lizandra Guidi Magalhães – Biomédica graduada pela Organização Educacional Barão de Mauá (OEBM). Mestre e Doutora em Imunologia Básica e Aplicada pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP). Pós-doutora em Química Biológica pela Universidade de Franca. e-mail: lizandraguidi@usp.br
- 6 Fernanda de Freitas Anibal – Biomédica graduada pela Organização Educacional Barão de Mauá (OEBM). Mestre e Doutora em Imunologia Básica e Aplicada pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP). e-mail: ffanibal@ufscar.br

INTRODUÇÃO

A Síndrome da *Larva Migrans* Visceral (SLMV) é caracterizada por uma zoonose parasitária negligenciada que apresenta sintomatologia inespecífica. A principal forma de transmissão para seres humanos ocorre pela ingestão acidental de ovos embrionados de *Toxocara canis*^{1,2}.

As fêmeas podem ovipor até dois milhões de ovos/dia, em média, decaindo a postura desses ovos ao passar do tempo. No entanto, esses ovos precisam do meio externo para que ocorra o desenvolvimento das larvas, as quais no estágio L3 são infectantes³. Para essa mudança é necessário aproximadamente cinco dias, em condições específicas de temperatura e umidade, para se tornarem infectantes⁴, ou seja, que as larvas possam se desenvolver até atingir o estágio L3.

Além disso, os ovos de *Toxocara canis* são altamente resistentes às condições climáticas adversas e podem sobreviver no meio ambiente por vários anos, sendo a fonte de infecção para os humanos e animais⁵.

Quando os seres humanos ingerem acidentalmente os ovos com larvas no estágio L3, estes ovos eclodem, liberando as larvas no estômago, que irão perfurar a mucosa. Mesmo não completando o desenvolvimento, por não estarem em condições favoráveis, continuam na forma de larvas e apresentam atividade migratória por apresentarem metabolismo ativo⁶. A resposta do organismo a migração do *Toxocara canis* geralmente ocasiona traumatismo mecânico e respostas inflamatórias, dependendo da região atingida; a toxocaríase humana pode ser considerada visceral quando atinge as vísceras (SLMV) ou ocular quando houver comprometimento oftalmológico (SLMO)⁴.

A forma clássica da SLMV, que ocorre frequentemente em crianças, apresenta sintomas como: febre, hepatomegalia, eosinofilia, hipergamoglobulinemia, iso-hemaglutininas aumentadas, irritabilidade, mal-estar, anorexia, lesões urticariformes no tronco e membros⁷. Outros sintomas evidenciados são: miocardite, artrite, miosite, pleurite, meningite, dor abdominal e vários sintomas alérgicos⁸⁻¹⁰.

A forma ocular ocorre devido ao aprisionamento das larvas na circulação terminal dos olhos, caracterizado por uma diminuição da acuidade visual, dor ocular e estrabismo, uveíte, papilite, e em alguns casos, granuloma do pólo posterior ou periférico do olho, catarata e até endoftalmite severa^{9,10}.

Com o aprimoramento do diagnóstico, várias pesquisas epidemiológicas têm sido realizadas, uma

delas mostrou alta prevalência em qualquer faixa etária, inclusive em adultos¹¹. A prevalência em humanos tem sido subestimada e a doença negligenciada é um problema de saúde pública¹². Na forma assintomática da SLMV, o tratamento busca reduzir os processos inflamatórios e toxinas nos tecidos¹³ utilizando comumente drogas anti-helmínticas dos grupos carbamatos benzimidazole. Esses compostos apresentam pouca atuação sobre os tecidos por terem baixas solubilidades, precisando ser aplicadas em grandes doses e por um tempo longo, além de causar a resistência de outros helmintos no organismo humano⁶. Um exemplo comercialmente usado é o albendazol, muito prescrito para tratar parasitoses intestinais.

O uso de plantas medicinais é uma prática secular baseada no conhecimento popular e transmitido oralmente na maior parte das situações^{14,15}. Em populações que possuem acesso reduzido a medicamentos, agregar garantias científicas a essa prática terapêutica traz variadas vantagens, como baixo custo e fácil acesso e diminuição de efeitos adversos¹⁶. Porém, as plantas com propriedades medicinais devem ser bem conservadas e bem administradas para reduzir os riscos de intoxicação por uso inadequado.

Neste sentido, a investigação de materiais naturais como fontes de novos agentes terapêuticos têm aumentado potencialmente, em que diferentes extratos de plantas medicinais, condimentares e aromáticas têm sido testados e estudados^{14,15}.

A curcumina é uma substância que possui diversas atividades medicinais, como: atividade antidiabética, antioxidante, anti-inflamatória, antibiótica, antiviral, anticancerígena e antiparasitária¹⁷. A curcumina é um pigmento natural, retirado de caules do tipo rizoma da planta *Curcuma longa* L.¹⁸. Esta planta pertence à família botânica Zingiberaceae¹⁹. Esta substância pode ser uma das mais usadas no futuro, devido a sua utilidade para diversos fins.

A necessidade de encontrar novas drogas para o tratamento, não só das doenças parasitárias, mas para outros tipos de doenças, para avaliação dos princípios ativos de diversas plantas é essencial para a criação de novos fármacos.

OBJETIVOS

Os objetivos deste estudo foram determinar a viabilidade das larvas de *Toxocara canis* após o tratamento com curcumina e albendazol *in vitro* e comparar a mobilidade relativa das larvas de *Toxocara canis* após

este mesmo tratamento *in vitro*.

MÉTODO

Obtenção dos parasitos

Os parasitos adultos de *Toxocara canis* foram coletados de cães do Centro de Zoonoses de Ribeirão Preto/SP. Após a coleta, as fêmeas foram separadas dos machos, e foram colocadas em uma placa de Petri com formalina 2%. Na placa, com o auxílio de uma pinça, as fêmeas foram raspadas para separação do útero e foi macerado para extração dos ovos. Com uma pipeta do tipo Pasteur, o macerado foi homogeneizado e distribuído em novas placas. As placas foram identificadas e mantidas com formalina 2% em uma estufa (28-32°C), sendo observadas com frequência. Os ovos se tornaram larvados depois de 21 dias.

Para a raspagem das placas de Petri com cultura de *Toxocara canis* contendo os ovos larvados foram adotados os seguintes procedimentos: com uma pipeta tipo Pasteur, a cultura foi transferida para um tubo cônico de 50 mL. Logo após foi utilizado um êmbolo de seringa para raspagem da placa (quatro vezes até verificar que a maioria dos ovos fosse retirada da placa). Esta solução foi dividida para quatro tubos cônicos de 15 mL cada. Com isso, os tubos foram centrifugados a 3000 rotações por minuto em cinco minutos. O sedimento nos tubos foi verificado em cada tubo após a centrifugação e foi retirado o excesso de formalina (sobrenadante) com a pipeta Pasteur em cada tubo. Cada sedimento dos tubos foi lavado com PBS 1x quatro vezes para retirar o excesso de formalina. Após todas as centrifugações o sedimento foi acrescido com 20 mL de PBS 1x (tampão fosfato-salino) para determinação da quantidade de ovos a serem usadas nos ensaios *in vitro*.

Teste larvicida contra *Toxocara canis*

A curcumina em pó foi concedida pela Dra. Lizandra Guidi Magalhães (Profa. Dra. da Universidade de Franca – UNIFRAN; uma vez que a própria está trabalhando em um projeto com esta substância), e foi diluída em dimetilsulfóxido (DMSO) 10% (concentração já estipulada na literatura⁶), sendo obtidas as seguintes concentrações: 0,01, 0,05 e 0,1 mg/mL. O albendazol (Zentel, GlaxoSmithKline) também foi diluído para obtenção dos mesmos padrões de diluição da curcumina. O ensaio *in vitro* foi realizado em placas com 24 poços cada; em cada poço foram colocados quarenta ovos larvados com as substâncias-teste, que foram diluídas em DMSO 10%: poços com curcumina, poços com albendazol e

de poços controle positivo sem as substâncias (só com ovos larvados) em meio RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) e poços com somente DMSO 10%.

Os ensaios foram realizados em duplicata em três experimentos independentes. A atividade larvicida foi avaliada em relação à mobilidade relativa (MR). Após 48h e 72h de exposição às substâncias-testes, a mobilidade das larvas dentro dos ovos foi examinada em microscópio invertido Zeiss, em aumento de 100 vezes. O escore correspondente para um movimento específico foi atribuído para cada larva. O índice de mobilidade (IM) foi calculado pela Eq.1 e, com esses valores, a MR foi calculada pela Eq.2 (Tabela 1). A mortalidade larval foi calculada sendo o número de larvas que receberam escore 0 dividido pelo número total de larvas em cada poço.

Tabela 1 – Critérios de avaliação do efeito das substâncias nas larvas de *Toxocara canis*, São Carlos, 2011 (adaptado de REIS et al., 2010)⁶:

Estado da larva/Escore	(n)
Movimento rápido usando o corpo	5
Movimento intermediário usando o corpo	4
Movimento lento usando o corpo	3
Movimento somente com uma parte do corpo na observação	2
Imóveis, mas não mortas	1
Mortas	0

$IM = (\sum n N_n) / \sum N_n$, onde N_n : número de larvas com o escore n (Eq.1)

$MR = (IM_{amostra} / IM_{controle}) \times 100$ (Eq.2)

Os resultados foram expressos com média \pm EPM (erro padrão da média). Os resultados obtidos nos diferentes experimentos foram analisados por meio da análise de variância ANOVA. Para análise estatística foi utilizado o programa PRISMA (TWO-ANOVA) (San Diego, California, USA). O nível de significância adotado foi de 5%, onde $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo foram realizados três ensaios *in vitro* independentes no Laboratório de Parasitologia do Departamento de Morfologia e Patologia da Universidade Federal de São Carlos. Os ensaios apresentam os resultados em 48 e 72h após incubação dos compostos propostos junto aos ovos contendo larvas de *Toxocara canis*. Os resultados de 24h não apresentaram diferen-

ças relativas e a contagem da mobilidade não foi adequada para avaliação dos efeitos anti-*Toxocara canis* dos compostos testados.

A tabela 2 representa os três ensaios com as porcentagens de mobilidade relativa das larvas do *Toxocara canis*. Os resultados demonstraram que o solvente DMSO utilizado para diluir os compostos não foi fator interferente nos ensaios realizados. E a curcumina, independente da concentração testada, apresenta efeitos anti-*Toxocara canis*. As larvas nos poços somente com os ovos larvados em meio RPMI foram utilizadas para o cálculo deste parâmetro, já que a mobilidade relativa é de 100% segundo a fórmula descrita no método.

Tabela 2 – Representativo da mobilidade relativa (em porcentagem-%) das larvas de *Toxocara canis* após a exposição ao DMSO 10%, albendazol e a curcumina, *in vitro* – 48 e 72h após, nas três culturas independentes realizadas, São Carlos, 2011.

Culturas	DMSO 10%		A0,01		A0,05		A0,1	
	48h	72h	48h	72h	48h	72h	48h	72h
1	83,3	87,2	70,4	43,6	70,2	52,3	72,0	88,0
2	60,0	71,7	84,8	51,8	53,0	69,0	70,8	77,9
3	80,3	81,3	69,0	63,2	66,9	75,9	74,8	83,1

Culturas	CU0,01		CU0,05		CU0,1	
	48h	72h	48h	72h	48h	72h
1	58,2	57,8	60,2	45,4	58,2	37,0
2	50,4	56,6	51,7	49,1	56,0	69,9
3	57,6	72,3	64,2	57,2	57,6	68,7

O gráfico 1 representa a média da porcentagem da mobilidade relativa das larvas de *Toxocara canis* após a exposição ao DMSO 10%, ao albendazol e à curcumina, nas concentrações estipuladas anteriormente, depois de 48h e de 72h de exposição. O asterisco indica a presença da diferença estatística significativa, com valor de $p < 0,05$ (nível de significância de 5%).

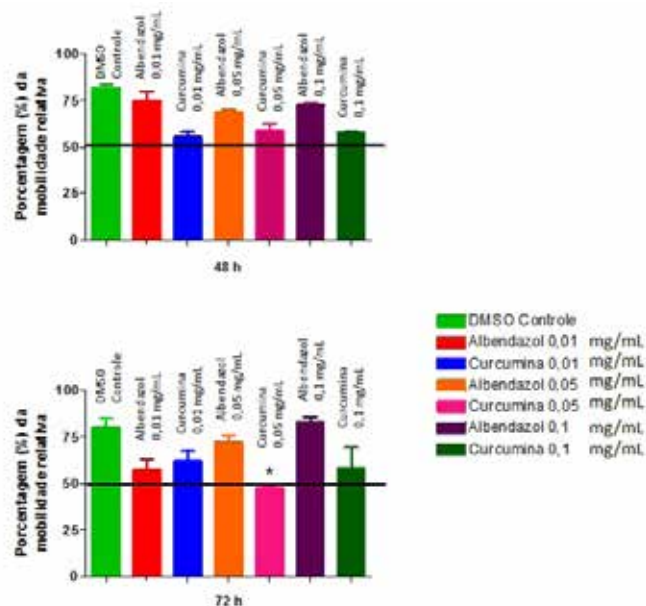


Gráfico 1: Média da mobilidade relativa (em porcentagem - %) das larvas de *Toxocara canis* após 48h e 72h de exposição às substâncias-teste. Gráfico gerado pelo programa GraphPad Prism. As letras indicam a subdivisão do gráfico em gráfico 1 A (48h) e gráfico 1 B (72h).

Segundo o trabalho no qual se baseou o método deste estudo⁶, não há um tratamento consensual contra a SLMV. Os ovos de *Toxocara canis* promovem riscos para os seres humanos, que são hospedeiros paratênicos²⁰, sendo considerado um problema de saúde pública, embora a prevalência em humanos seja subestimada¹². Também é conhecido o fato de que os ovos de *Toxocara canis* são muito resistentes contra diversas condições climáticas e diversos produtos químicos⁵, apresentando viabilidade de anos no meio ambiente. Como as larvas de *Toxocara canis* podem causar a Síndrome da *Larva Migrans* Visceral (SLMV)^{3,21}, ou mesmo outras formas tão graves como a Síndrome da *Larva Migrans* Ocular (SLMO)⁴, estudos sobre diferentes métodos de desinfecção dos ovos infectantes e de possíveis formas de tratamentos contra a SLMV são de grande interesse^{5, 6}.

Atualmente o albendazol é o composto mais usado para o tratamento das principais parasitoses causadas por helmintos. Os dados deste estudo demonstraram que as larvas expostas ao albendazol apresentaram redução da mobilidade relativa (MR) de forma discreta, sendo identificada pequena eficácia nas três concentrações utilizadas nos diferentes períodos estudados (gráfico 1). Esses dados corroboram com outros estudos *in vitro* descritos na literatura^{6, 13} nos quais o albendazol não foi totalmente efetivo contra os parasitos. No entanto, a distribuição do albendazol, principalmente na rede pública de saúde, está relacionada ao seu uso para o

tratamento das infecções causadas por parasitos intestinais, sendo mais efetivo no tratamento de infecções por *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Enterobius vermiculares*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus* e *Strongyloides stercoralis*.

Neste estudo, a curcumina foi o composto utilizado para comparar com os efeitos do albendazol contra larvas de *Toxocara canis*, que estavam presentes dentro dos ovos. A curcumina já apresenta vários usos terapêuticos comprovados por diferentes estudos já documentados^{22,23}, incluindo atividade antiparasitária¹⁷. A atividade da curcumina contra parasitos já foi demonstrada anteriormente contra o helminto *Schistosoma mansoni*²⁴ e também foi observada eficácia do extrato etanólico de *Curcuma longa* contra *Plasmodium falciparum*²⁵ devido à inibição do crescimento *in vitro*; além de redução nas lesões em testes em camundongos contra *Leishmania amazonensis*²⁶. A curcumina também possui a vantagem de ter baixa toxicidade nas células²⁴.

O uso de produtos naturais já é muito conhecido e documentado, pois é uma prática secular e que é passada entre gerações^{6,14,15}. Mas os efeitos nocivos desse composto contra *Toxocara canis* ainda não estão totalmente esclarecidos. Assim, foi avaliada a viabilidade das larvas de *Toxocara canis*, representada pela mobilidade relativa (MR). Os resultados deste estudo demonstraram que, após 48h (gráfico 1 A) e após 72h (gráfico 1 B) de exposição às substâncias-testes (albendazol e curcumina), apenas a curcumina apresentou efeitos moderados contra o *Toxocara canis*.

Nas três concentrações estipuladas, a curcumina apresentou uma média da mobilidade relativa menor do que o albendazol, tanto para 48h (gráfico 1 A) quanto para 72h (gráfico 1 B) nas concentrações acima de 0,01 mg/mL (gráfico 1), sendo que na concentração de 0,05 mg/mL foi observada uma redução significativa desse MR. Porém, necessita-se de outros experimentos com maiores amostragens e também de ensaios que promovam maiores informações, além de avaliar as doses em estudos futuros. A utilização de modelos *in vivo* reforça os estudos já realizados *in vitro*, já que outros fatores são necessários para corroborar com os efeitos observados no modelo da esquistossomose²⁴, e mesmo estudos com nematoides em que a análise imunológica, a histopatológica, e a contagem de larvas nos tecidos foram observadas⁶. Assim, sugere-se que a curcumina pode ser um bom candidato para estudos que busquem um possível composto para o tratamento da SLMV.

CONCLUSÃO

A viabilidade das larvas de *Toxocara canis*, representada pela mobilidade relativa calculada em porcentagem, apresentou redução após a exposição à curcumina e ao albendazol, mas a eficácia da curcumina contra as larvas foi maior. Em relação aos compostos, o albendazol apresentou de moderada a baixa eficácia contra as larvas de *Toxocara canis*, devido a pouca redução na mobilidade relativa, já a curcumina apresentou moderada, mas significativa eficácia, na redução da mobilidade relativa das larvas de *Toxocara canis*, se comparada com o albendazol, demonstrando perda da viabilidade das larvas após contato com a curcumina.

REFERÊNCIAS

1. Lima WS. Larva Migrans. In: Neves DP. Parasitologia humana. 11ª ed., São Paulo: Atheneu; 2010. p. 279-83.
2. Júnior DC, Elefant GR, Melo e Silva EO, Gandolfi L, Jacob CMA, Tofeti A, Pratesi R. Freqüência de soropositividade para antígenos de *Toxocara canis* em crianças de classes sociais diferentes. Rev Soc Bras Med Trop. 2003; 36(4):509-13.
3. Rey L. Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.
4. Xavier IGR. Limiar de detecção de ovos de *Toxocara canis* em solo por técnica de centrifugo- flutuação [dissertação]. Presidente Prudente: Universidade do Oeste Paulista; 2009.
5. Morrondo P, Díez-Morrondo C, Pedreira J, Díez-Baños N, Sánchez-Andrade R, Paz-Silva A, Díez-Baños P. *Toxocara canis* larvae viability after disinfectant – exposition. Parasitol Res. 2006:558-61.
6. Reis M, Trinca A, Ferreira MJU; Monsalve-Puello AR, Grácio, MA. *Toxocara canis*: Potential activity of natural products against second-stage larvae *in vitro* and *in vivo*. Exp Parasitol. 2010:191-7.
7. Kayes SG, Oaks JA. *Toxocara canis*: T lymphocyte function in murine visceral Larva Migrans and eosinophilia onset. Exp Parasitol. 1980:47-55.
8. Dao AH, Virmani R. Visceral Larva Migrans involving the myocardium: report of two cases and review of literature. Pediatr Pathol. 1986:449-56.
9. Rey L. Larva Migrans cutânea e visceral. Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1991.

10. Chieffi PP, Müller EE. Prevalência de parasitismo por *Toxocara canis* em cães e presença de ovos de *Toxocara* sp no solo de localidades públicas da zona urbana do município de Londrina, estado do Paraná, Brasil. Rev Saúde Públ. 1987:367-72.
11. Figueiredo SDP, Taddei JAA, Menezes JJC, Novo NF, Silva EOM, Cristóvão HLG, Cury MCFS. Estudo clínico-epidemiológico da toxocaríase em população infantil. J Pediatr (Rio J). 2005:126-32.
12. Altcheh J, Nallar M, Conca M, Biancardi M, Freilij H. Toxocaríase: aspectos clínicos y de laboratorio em 54 pacientes. An Pediatr. 2003:425-31.
13. Lescano SZ, Chieffi PP, Neto VA, Ikai DK, Ribeiro MCSA. Anti-helmínticos na toxocaríase experimental: efeito na recuperação de larvas de *Toxocara canis* e na resposta humoral. J Bras Patol Med Lab. 2005:21-4.
14. Nascimento GGF, Locatelli J, Freitas PC, Silva GL. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. Braz J Microbiol. 200031(4):247-56.
15. Martins ER, Castro DM de, Castellani DC, Dias JE. Plantas Mediciniais. Viçosa: Editora UFV: Universidade Federal de Viçosa; 2000.
16. Furlan MR. Cultivo de plantas medicinais. Cuiabá: SEBRAE: Coleção Agroindústria; 1998.
17. Pintão AM, Silva IF. A verdade sobre o açafraão. Workshop Plantas Mediciniais e Fitoterapêuticas nos Trópicos. IICT/CCCM. Lisboa; 2008.
18. Anand P, Thomas SG, Kunnumakkara AB, Sundaram C, Harikumar KB, Sung B, et al. Biological activities of curcumin and its analogues (Congeners) made by man and Mother Nature. Biochem Pharmacol. 2008:1590-611.
19. Lorenzi H, Matos FJA. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2002.
20. Glickman LT, Schantz PM. Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocaríase. Epidemiol Rev. 1981:230-50.
21. Beaver PC, Snyder CH, Carrera GM, Dent JH, Lafferty JW. Chronic eosinophilia due to visceral *Larva Migrans*; report of three cases. Pediatrics. 1952:7-19.
22. Aggarwal BB, Harikumar KB. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. Int J Biochem Cell Biol. 2009:40-59.
23. Péret-Almeida L, Naghetini C da C, Nunan E de A, Junqueira RG, Glória, MBA. Atividade antimicrobiana *in vitro* do rizoma em pó, dos pigmentos curcuminóides e dos óleos essenciais da *Curcuma longa* L. Ciênc agrotéc. 200832(3):875-81.
24. Allam G. Immunomodulatory effects of curcumin treatment on murine schistosomiasis mansoni. Immunobiology. 2009:712-27.
25. Rasmussen HB, Christensen SB, Kvist LP, Karazmi A. A Simple and Efficient Separation of the Curcuminoids, the Antiprotozoal Constituents of *Curcuma longa*. Planta Med. 2000:396-8.
26. Araújo CAC, Leon LL. Biological Activities of *Curcuma longa* L. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2001:723-8.